

**“MODELADO DE LA EVOLUCION DE INDICES DE CALIDAD
INTEGRAL DE LECHUGA MANTECOSA DESDE LA PRECOSECHA
HASTA EL CONSUMIDOR”**

Tesis de Doctorado

María Victoria Agüero

Presentada ante la Facultad de Ingeniería de la
Universidad Nacional de La Plata
Como requisito para la obtención del grado académico de

DOCTOR EN INGENIERÍA

Dirección de Tesis:

Directora: Dra. Alicia Bevilacqua

Codirectora: Dra. Sara Inés Roura

Jurado de Tesis:

Dra Ana María Luisa Rojas (Fac. De Ciencias Exactas y Nat., UBA)

Dra Silvia Del Carmen Rodríguez (Fac. De Agronomía y
Agroindustrias, UNSE).

Fecha de la defensa oral y pública: 30 de marzo de 2011

Dedico este trabajo de tesis a mi familia por el infinito apoyo brindado y, en especial a mis padres, que me han enseñado a enfrentar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Ellos me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio.

Agradecimientos

- *Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por las becas que me permitieron concretar este trabajo de tesis.*
- *A la Universidad Pública por permitir realizar mi formación de grado y post-grado.*
- *A la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Mar del Plata por permitir desarrollar las tareas de investigación en el Grupo de Investigación en Ingeniería en Alimentos (GIIA).*
- *A los productores hortícolas Omar Figueroa y Andrés Benítez quienes me facilitaron gran parte del material biológico de estudio.*
- *A la Dra. Alicia Bevilacqua por abrirme las puertas del CIDCA y ayudarme en todas mis gestiones académicas en la EPEC.*
- *A la Dra. Sara Roura por su incondicional apoyo y comprensión tanto en el aspecto laboral como humano y por permitirme trabajar con total libertad y con un apoyo constante.*
- *A mis compañeras del laboratorio por las horas de trabajo compartidas que hicieron más ameno el trabajo de estos años.*
 - **A mis hermanas** por ser sostén y guía en los momentos más lindos y en los más difíciles.
 - **y a Eduardo** por su amor en estos años compartidos, por ser sin duda mi referencia para el presente y para el futuro.

El presente trabajo de Tesis Doctoral, para optar al título de Doctor de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Grupo de Investigación en Ingeniería en Alimentos (GIIA), Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata, y en el Centro de Investigación y Desarrollo de Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de La Plata bajo la dirección de la Dra. Alicia E. Bevilacqua y codirección de la Dra. Sara I. Roura.

Parte de los resultados presentados en este trabajo de tesis doctoral fue publicado en revistas internacionales con referato y en Congresos:

Publicaciones en revistas con referato

- **Agüero MV**; Ponce AG; Moreira MR; Roura SI. (2008). "*Plastic Mulch Improves Overall Quality and Shelf Life of Cold Stored Butter Lettuce (Lactuca sativa var. Lores)*". Fresh Produce 2(1), 6-13.
- **Agüero MV**; Barg MV; Yommi A; Camelo A; Roura SI. (2008). "*Postharvest Changes in Water Status and Chlorophyll Content of lettuce (Lactuca Sativa L.) and their Relationship with Overall Visual Quality*". Journal of Food Science 73(1), 47-55.
- Ponce AG; **Agüero MV**; Roura SI; Del Valle CE; Moreira MR. (2008). "*Dynamics of Indigenous Microbial Populations of Butter Head Lettuce Grown In Mulch and On Bare Soil*". Journal of Food Science 73(6), 257-263.
- Ansorena MR; Goñi MG; **Agüero MV**; Roura SI; Di Scala KC. (2009). "*Application of the General Stability Index to assess the Quality of Butter Lettuce during Postharvest storage by a multi-quality indices analysis*". Journal of Food Engineering 92, 317-323.
- Barg MV; **Agüero MV**; Yommi A; Roura SI. (2009). "*Evolution of plant water status indices during butter lettuce growth and its impact over post storage quality*". Journal of the Science of Food and Agriculture 89(3), 422-429.
- **Agüero MV**; Barg MV; Yommi A; Roura SI. (2010). "*Differential effects of low humidity levels on butterhead quality indices related to external, middle and internal lettuce sections*". International Journal of Postharvest Technology and Innovation, 2(1), 25-40.
- Goñi MG; **Agüero MV**; Moreira MR; Ponce AG; Roura SI. (2010). "*Ring characterization of quality indices in butterhead lettuce cultivated under mulch and bare soil*". Journal of Food Quality, 33(4): 439-460.
- **Agüero MV**; Moreira MR; Goñi G; Roura SI. (2010). "*Abusive isothermal conditions during first hours after harvest affect butterhead lettuce water status*". Journal of Food Processing and Preservation - Aceptado Abril 2010. (JFPP_495). En prensa. (DOI: 10.1111/j.1745-4549.2010.00495.x). En prensa.
- **Agüero MV**; Ponce AG; Bevilacqua A; Roura SI. (2010). "*Postharvest quality losses of butterlettuce as affected by leaf age and temperature*". Fresh Produce – Aceptado Enero 2010 (FP-6-2009). En prensa. En prensa.
- Viacava GE Roura SI; **Agüero MV**. (2010). "*Improvement of Water Status Methodology for Leafy Vegetables Reduces Time Consuming, Skilled Labor and Laboratory Resources*". Food Analytical Methods. En prensa. DOI: 10.1007/s12161-010-9170-4.
- **Agüero MV**; Ponce AG; Moreira MR; Roura SI. (2011). "*Lettuce quality loss under conditions that favor wilting phenomenon*". Postharvest Biology and Technology 59(2), 124 – 131.

Manuscritos enviados para evaluación

- Ansorena MR; **Agüero MV**; Goñi MG; Roura SI; Ponce AG; Moreira MR, Di Scala K. “Assessment of quality indices of butter lettuce during post harvest storage at low relative humidity using the modified GSI approach”. Food Analytical Methods. Enviado Junio 2010 (LWT-D-10-00718).

Congresos

- **Agüero MV**; Roura SI. “Quality degradation of butterhead lettuce: the performance of General tability Index (GSI) modified methodology”. 11st International Congress on Engineering and Food. Atenas, Grecia, 22 – 26 de mayo 2011.
- **Agüero MV**; Viacava GE; Roura SI. “El uso de jaulas disminuye las pérdidas de calidad durante la poscosecha de lechuga mantecosa”. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. Rosario, Argentina, 28 de septiembre – 01 de Octubre 2010.
- Viacava GE; Roura SI; **Agüero MV**. “Simplificación de la técnica de determinación de status de agua en vegetales de hoja: reducción del tiempo de análisis, mano de obra calificada e insumos de laboratorio”. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. Rosario, Argentina, 28 de septiembre – 01 de Octubre 2010.
- **Agüero MV**; Bevilacqua AE; Roura SI. “Temperature abuses during lettuce postharvest: impact on color and chlorophyll”. AIC 2010 “Color and Food”, the Interim Meeting of the International Color Association. Mar del Plata, Argentina, 12 – 15 de Octubre 2010.
- **Agüero MV**; Ponce AG; Bevilacqua A; Roura SI. “Primeras horas postcosecha de lechuga mantecosa: evaluación de pérdidas de calidad durante la exposición a condiciones isotérmicas abusivas”. XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos CYTAL. Concordia, Argentina, 7 – 9 de Octubre 2009.
- Goñi MG; **Agüero MV**; Ponce AG; Moreira MR; Roura SI. “Caracterización de lechuga manteca obtenida por diferentes métodos de cultivo”. XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos CYTAL. Concordia, Argentina, 7 – 9 de Octubre 2009.
- **Agüero MV**; Moreira MR; Goñi MG; Roura SI. “Condiciones isotérmicas abusivas durante las primeras horas poscosecha afectan el status de agua y la calidad visual de lechuga mantecosa”. III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina, 15-17 de abril 2009.
- Ansorena MR; Goñi MG; **Agüero MV**; Ponce AG; Moreira MR; Roura SI; Di Scala KC. “Búsqueda de indicadores objetivos de calidad de lechuga almacenada a HR alta y baja mediante la utilización del índice de estabilidad global (GSI)”. III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina, 15-17 de abril 2009.
- Yommi A; Duarte C; Carrozzi L; Guerra MN; Barg M; López Camelo AF; **Agüero MV**; Roura S. “Evolución de la calidad de espinaca (*Spinacia oleracea L.*) almacenada en dos tipos de películas semipermeables”. XXXI Congreso Argentino de Horticultura. Mar del Plata, Argentina, 30 de septiembre al 3 de octubre de 2008.
- **Agüero MV**; Ponce AG; Moreira MR; Barg M; Roura SI. “Changes in quality indices of butter head lettuce during postharvest storage under saturated and low relative humidity conditions”. GIGR - International Conference of Agricultural Engineering XXXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. Foz de Iguazú, Brasil, 31 de Agosto - 4 de Septiembre 2008.

- Ansorena MR; Goñi MG; **Agüero MV**; Roura SI; Di Scala KC. *“Application of the general stability index to assess the quality of butter lettuce during postharvest storage by a multi-quality indices analysis”*. GIGR - International Conference of Agricultural Engineering XXXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. Foz de Iguazú, Brasil, 31 de Agosto - 4 de Septiembre 2008.
- Barg MV; **Agüero MV**; Yommi A; Roura SI. *“Evolution of plant water status indexes during butter lettuce growth and its impact over quality after storage”*. GIGR - International Conference of Agricultural Engineering XXXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. Foz de Iguazú, Brasil, 31 de Agosto - 4 de Septiembre 2008.
- Ponce AG; **Agüero MV**; Roura SI; Moreira MR. *“Preharvest soil management affects the native microflora and quality of butter lettuce”*. GIGR - International Conference of Agricultural Engineering XXXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. Foz de Iguazú, Brasil, 31 de Agosto - 4 de Septiembre 2008.
- **Agüero MV**; Barg MV; Yommi A; López Camello A; Roura SI. *“Status de agua y su relación con el deterioro visual y color en lechuga mantecosa de invernáculo bajo condiciones de stress hídrico”*. 30º Congreso Argentino de Horticultura. La Plata, Argentina, 26 - 28 de Agosto 2007.
- **Agüero MV**; Barg MV; Yommi A; Camelo A; Roura SI. *“Cambios postcosecha en el status de agua y su relación con el deterioro visual en lechuga mantecosa de invernáculo”*. XI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos CYTAL. Buenos Aires, Argentina, 12 - 14 de Septiembre 2007.
- Ponce AG; **Agüero MV**; Roura SI; del Valle CE; Moreira MR. *“Poblaciones microbianas presentes en lechuga manteca cultivada sobre “Mulch” y en tierra: Efecto del almacenamiento refrigerado”*. IV Jornadas de Biología y Tecnología de Postcosecha - I Jornadas de Postcosecha del Cono Sur. Facultad de Agronomía, UBA. Buenos Aires, Argentina, 5 y 6 de julio 2007.

Índice

Contenido	Pág.
1. Resumen.....	1
2. Objetivos.....	5
3. Esquema.....	6
4. Introducción general.....	8
1. EL MERCADO HORTÍCOLA EN ARGENTINA.....	8
1.1. La importancia del sector hortícola en el contexto de la producción agropecuaria.....	8
1.2. Producción de hortalizas en la Provincia de Buenos Aires.....	10
2. GENERALIDADES DE LA PLANTA DE LECHUGA.....	12
2.1. Taxonomía y morfología.....	12
2.2. Clasificación.....	12
2.3. Propiedades, información nutricional.....	13
2.4. El cultivo.....	14
2.5. La cosecha de lechuga.....	15
2.6. La rutina de comercialización.....	16
3. LA POST-COSECHA DE HORTALIZAS.....	17
3.1. Fisiología de la post-cosecha de hortalizas.....	17
3.1.1. Aspectos estructurales.....	18
3.1.2. La respiración.....	18
3.1.3. La transpiración.....	19
3.1.4. La biosíntesis de etileno.....	20
3.1.5. La oxidación de compuestos fenólicos.....	20
3.2. Variables post-cosecha que afectan la calidad de productos hortícolas.....	20
3.2.1. La temperatura.....	21
3.2.2. La humedad relativa.....	22
3.2.3. La composición de la atmósfera.....	22
3.2.4. Otros factores (luz, etileno, etc.).....	22
3.3. Las pérdidas post-cosecha de hortalizas.....	22
3.3.1. Antecedentes.....	22
3.3.2. Situación actual.....	23
4. CALIDAD INTEGRAL: ÍNDICES DE CALIDAD.....	24
4.1. Calidad fisiológica.....	26
4.2. Calidad organoléptica.....	26
4.2.1. Apariencia.....	27
4.2.2. Textura.....	27
4.2.3. Sabor y aroma.....	27
4.3. Calidad nutricional.....	28
4.4. Calidad microbiológica.....	29

4.5. Calidad físico-química.....	29
4.5.1. <i>Contenido de clorofila</i>	29
4.5.2. <i>Determinación de color</i>	30
5. Desarrollo.....	31
Capítulo I: Caracterización de la calidad inicial de lechuga mantecosa fresca	32
Esquema conceptual.....	33
1. INTRODUCCIÓN.....	34
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
2.1. Material biológico y preparación de muestras.....	36
2.2. Calidad fisiológica: Índices del status de gua.....	36
2.3. Calidad microbiológica: Recuentos de poblaciones de la microflora ativa.....	38
2.4. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico educido.....	39
2.5. Calidad físico-química.....	39
2.5.1. Contenido de clorofila.....	39
2.5.2. Determinación de color.....	40
2.6. Calidad organoléptica: Calidad visual general (OVQ).....	40
2.7. Análisis estadístico.....	41
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
3.1. Calidad fisiológica: Índices del status de agua.....	41
3.1.1. Contenido de agua relativo (RWC).....	42
3.1.2. Contenido de agua (WC).....	44
3.1.3. Contenido de agua libre, agua unida y relación agua libre a agua total (FW, BW, FW/TW).....	44
3.2. Calidad microbiológica: Recuentos de poblaciones de la microflora nativa.....	46
3.3. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido.....	48
3.4. Calidad físico-química.....	50
3.4.1. Contenido de clorofila.....	50
3.4.2. Determinación de color.....	50
3.5. Calidad organoléptica.....	51
4. CONCLUSIONES.....	52
Capítulo II: Influencia del método de cultivo sobre la calidad inicial de lechuga mantecosa	53
Esquema conceptual.....	54
1. INTRODUCCIÓN.....	55
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	57
2.1. Material biológico y preparación de muestras.....	57
2.2. Índices de Calidad al momento de la cosecha.....	58
2.3. Almacenamiento refrigerado.....	58
2.4. Análisis estadístico.....	59
2.5. Modelado del crecimiento microbiano.....	59
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
3.1. Efecto del método de cultivo sobre la calidad inicial del producto.....	60
3.1.1. <i>Calidad fisiológica: Índices de status de agua</i>	60
3.1.2. <i>Calidad microbiológica: Recuentos de poblaciones de la microflora nativa</i>	60
3.1.3. <i>Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido</i>	66
3.1.4. <i>Calidad físico-química</i>	68
3.1.5. <i>Calidad organoléptica</i>	69
3.2. Efecto del método de cultivo sobre la evolución de la microflora nativa durante el almacenamiento Refrigerado.....	70
3.2.1. <i>Microorganismos Mesófilos</i>	70
3.2.2. <i>Bacterias ácido-lácticas (LAB)</i>	72

3.2.3. <i>Coliformes totales</i>	72
3.2.4. <i>Hongos y levaduras</i>	73
3.2.5. <i>Microorganismos Psicrófilos</i>	74
3.2.6. <i>Modelado del crecimiento microbiano</i>	75
3.3. Evolución de la calidad organoléptica.....	77
3.4. Análisis de correlación entre la calidad microbiológica y organoléptica.....	79
4. CONCLUSIONES.....	81
Capítulo III: Impacto del grado de desarrollo en el momento de la cosecha	83
Esquema conceptual.....	84
1. INTRODUCCIÓN.....	85
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	89
2.1. Material biológico y preparación de muestras.....	89
2.2. Caracterización del crecimiento de lechuga.....	89
2.3. Calidad fisiológica: Índices del status de agua.....	90
2.3. Calidad organoléptica: Calidad visual general (OVQ).....	90
2.5. Modelado del peso y número de hojas durante el crecimiento.....	91
2.6. Análisis estadístico.....	92
3. RESULTADOS.....	93
3.1. Caracterización del desarrollo de lechuga.....	93
3.2. Impacto del grado de desarrollo sobre los índices de status de agua.....	97
3.3. Impacto del grado de desarrollo sobre los atributos sensoriales.....	105
4. CONCLUSIONES.....	108
Capítulo IV: Almacenamiento en condiciones óptimas y sub-óptimas	110
Esquema conceptual.....	111
1. INTRODUCCIÓN.....	112
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	115
2.1. Material biológico y preparación de muestras.....	115
2.2. Pérdida de peso.....	116
2.3. Índices de calidad.....	116
2.4. Análisis estadístico.....	117
3. RESULTADOS.....	118
3.1. Almacenamiento en condiciones óptimas.....	118
3.1.1. Calidad fisiológica: Índices de status de agua.....	118
3.1.2. <i>Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido</i>	123
3.1.3. <i>Calidad físico-química: Contenido de clorofila</i>	125
3.1.4. <i>Calidad organoléptica</i>	127
3.1.5. <i>Análisis de correlación</i>	129
3.2. Almacenamiento en condiciones sub-óptimas.....	131
3.2.1. Pérdida de peso.....	131
3.2.2. Calidad fisiológica: Índices de status de agua.....	133
3.2.3. Calidad microbiológica.....	136
3.2.4. <i>Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido</i>	138
3.2.5. <i>Calidad físico-química: Contenido de clorofila</i>	140
3.2.6. <i>Calidad organoléptica</i>	142
3.2.7. <i>Análisis de correlación</i>	143
4. CONCLUSIONES.....	145
Capítulo V: Modelado de la evolución de índices de calidad	148
Esquema conceptual.....	149
1. INTRODUCCIÓN.....	150
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	152
2.1. Compilación de datos experimentales.....	152

2.2. El modelo GSI de Achour.....	152
2.3. Análisis de datos.....	154
3. RESULTADOS.....	155
3.1. Modelado de la evolución de calidad de lechuga almacenada en condiciones óptimas.....	155
3.1.1. <i>Determinación del valor umbral de cada índice (L_i)</i>	155
3.1.2. <i>Determinación de los factores de peso (α_i)</i>	156
3.1.3. <i>Aplicación de método de GSI</i>	157
3.2. Modelado de la evolución de calidad de lechuga almacenada en condiciones sub-óptimas.....	162
3.3. Validación experimental del modelo de GSI.....	167
4. CONCLUSIONES.....	168
Capítulo VI: Primeras horas post-cosecha de abuso térmico y de humedad relativa en plantas individuales	169
Esquema conceptual.....	170
1. INTRODUCCIÓN.....	171
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	173
2.1. Material biológico y preparación de muestras.....	173
2.2. Condiciones ambientales ensayadas.....	174
2.3. Pérdida de peso.....	175
2.4. Índices de calidad.....	175
2.5. Análisis estadístico.....	176
3. RESULTADOS.....	177
3.1. Pérdida de peso.....	177
3.2. Calidad fisiológica: índices de status de agua.....	180
3.3. Calidad microbiológica: Recuentos de bacterias mesófilas totales.....	188
3.4. Calidad nutricional: contenido de ácido ascórbico reducido.....	190
3.5. Calidad físico-química: Contenido de clorofila.....	192
3.6. Calidad organoléptica.....	195
4. CONCLUSIONES.....	198
Capítulo VII: Evolución de la calidad de lechuga empacada en jaulas	201
Esquema conceptual.....	202
1. INTRODUCCIÓN.....	203
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	204
2.1. Material biológico y preparación de muestras.....	204
2.2. Condiciones ambientales en la post-cosecha temprana y durante el almacenamiento.....	205
2.3. Registro de las condiciones de temperatura y humedad relativa dentro de la jaula.....	206
2.4. Pérdida de peso.....	206
2.5. Índices de calidad.....	206
2.6. Análisis estadístico.....	207
3. RESULTADOS.....	208
3.1. Impacto de la condición ambiental a las primeras 24 horas.....	208
3.1.1. <i>Pérdida de peso</i>	208
3.1.2. <i>Calidad fisiológica: índices de status de agua</i>	211
3.1.3. <i>Calidad microbiológica: Recuentos de bacterias mesófilas totales</i>	216
3.1.4. <i>Calidad nutricional: contenido de ácido ascórbico reducido</i>	218
3.1.5. <i>Calidad físico-química: Contenido de clorofila</i>	219
3.1.6. <i>Calidad organoléptica</i>	220
3.2. Impacto de la condición ambiental en las primeras 24 horas sobre la vida útil.....	223
3.2.1. <i>Pérdida de peso</i>	223
3.2.2. <i>Calidad fisiológica: índices de status de agua</i>	223
3.2.3. <i>Calidad microbiológica: Recuentos de bacterias mesófilas totales</i>	227
3.2.4. <i>Calidad nutricional: contenido de ácido ascórbico reducido</i>	229
3.2.5. <i>Calidad físico-química: Contenido de clorofila</i>	230
3.2.6. <i>Calidad organoléptica</i>	231

3.3. Modelado mediante GSI.....	233
4. CONCLUSIONES.....	235
6. Conclusiones Finales.....	237
7. Anexos.....	241
Anexo I: Nomenclatura.....	242
Anexo II: Imágenes.....	244
Anexo III: Listado de Figuras y Tablas.....	249
8. Referencias.....	256

1. Resumen

La lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* var. L) es una de las hortalizas de hoja más consumidas en el mundo, principalmente en la forma de ensaladas. En Argentina, la producción de lechuga se concentra en la provincia de Buenos Aires con un volumen de producción del 85% respecto del total del país. En el cinturón hortícola de Mar del Plata, la lechuga constituye la principal hortaliza cultivada.

El presente trabajo de tesis doctoral comenzó con la caracterización inicial de lechuga mantecosa. Se encontró que en la planta existe una importante zonificación en función de la posición de la hoja, relacionada con la edad del tejido. Así las hojas externas, más maduras y de intenso color verde, presentaron mayores contenidos de clorofila, agua, agua libre, ácido ascórbico mientras que las hojas internas, inmaduras, sumamente plegadas, enrolladas y de color amarillento, presentaron mayor contenido de agua unida. Los recuentos de las diferentes poblaciones de la microflora nativa no arrojaron diferencias entre secciones de la planta.

A continuación se realizaron estudios del impacto de algunos factores pre-cosecha sobre la calidad inicial de la planta y el comportamiento en la post-cosecha. El primer factor evaluado fue el método de cultivo (utilización de films plásticos separando la lechuga del suelo –sistema mulch– o cultivo sobre suelo descubierto). Las plantas cultivadas en mulch presentaron menor contenido de ácido ascórbico y mayores recuentos microbianos. Sin embargo, durante la exposición de las plantas a condiciones de almacenamiento refrigerado, se evidenció que tuvieron mejor desempeño microbiológico en comparación con las plantas cultivadas a suelo descubierto. Las condiciones ambientales más favorables y constantes generadas durante la pre-cosecha de las plantas cultivadas en mulch favorecieron el desarrollo de una microflora sin capacidad de adaptación a ambientes desfavorables. Esta situación no ocurrió durante el desarrollo de las plantas cultivadas a suelo desnudo, en las que se observó un crecimiento significativo de su microflora nativa durante el

almacenamiento refrigerado (en la post-cosecha). El otro factor pre-cosecha evaluado fue el grado de desarrollo de la planta al momento de realizar la cosecha. Este factor tuvo también efectos significativos sobre el status de agua de la planta y el comportamiento de estos índices durante la post-cosecha. Las plantas cosechadas en fases tempranas del crecimiento, presentaron gradientes agudos de los índices de agua dentro de la planta, con marcadas diferencias entre los valores de hojas externas e internas y con una rápida pérdida de la calidad durante el almacenamiento refrigerado. El momento óptimo de cosecha, desde el punto de vista de la calidad inicial, el comportamiento post-cosecha y la calidad organoléptica del vegetal, resultó el momento previo a la floración que se caracteriza por la elongación del tallo. Las plantas en esta fase de crecimiento han completado su desarrollo vegetativo.

A continuación, se procedió a avanzar con los estudios de la presente tesis utilizando en todos los casos lechuga mantecosa cultivada en invernadero sobre suelo descubierto y cosechando las plantas en el momento de la pre-floración. Se estudió el efecto del almacenamiento en condiciones óptimas recomendadas para lechuga (0-2 °C, 97-99 %HR) y sub-óptimas (0-2 °C, 70-72 %HR) sobre los indicadores de calidad. En estos estudios, la sección de la planta (externa, media o interna) fue considerada como un factor adicional:

- El almacenamiento en condiciones óptimas, permitió extender la vida útil de la sección externa a 20 días, valor significativamente superior al reconocido por el consumidor. Las secciones media e interna, presentaron mejores atributos de calidad en ese momento. Durante el almacenamiento se produjeron disminuciones en el contenido de clorofila y de ácido ascórbico, con cinéticas de primer orden. La degradación de la clorofila sólo fue detectada en la sección externa de la planta mientras que el contenido de ácido ascórbico disminuyó significativamente en las tres secciones. El contenido de agua de la planta no varía pero sí lo hace el contenido de agua relativo y los índices agua libre y agua unida. Hubo aumentos en el contenido de agua libre y disminuciones en el agua unida, sugiriendo, este resultado, cambios en el estado del agua dentro del tejido. Las tres secciones de la planta manifestaron este tipo de cambios pero las hojas internas fueron las más afectadas. La calidad visual general de la planta acompañó estos comportamientos y con la misma tendencia entre las secciones. La calidad microbiológica fue disminuyendo a lo largo del almacenamiento detectándose incrementos en los recuentos de todas las poblaciones evaluadas.

- El almacenamiento en condiciones sub-óptimas produjo drásticos cambios en la planta: pérdida de peso, pérdida de agua, intercambios de agua libre y agua unida, disminución en el contenido de clorofila y de ácido ascórbico a mayor velocidad que las registradas en HR óptima. Los recuentos microbiológicos evolucionaron a un ritmo similar al encontrado en la situación óptima. La calidad

visual general de la planta fue afectada por todos los eventos que suceden en este tipo de almacenamiento, presentando la sección externa una vida útil de 3 días.

Una vez establecidos los cambios y cinéticas en cada uno de los índices de calidad, se procedió a desarrollar una metodología, basada en el procedimiento del índice de estabilidad global (GSI), con el objetivo de encontrar un índice, que tenga en cuenta los indicadores más significativos, y que permita seguir la evolución de la calidad de manera más global. Con el modelo desarrollado fue posible seguir la variación simultánea de los índices significativos a través de un único indicador de estabilidad para cada sección. Esta metodología, permitió reducir el número de determinaciones experimentales, cuantificando solamente los parámetros de calidad más significativos. Se encontró que estos parámetros fueron diferentes según la sección de la planta y la condición de almacenamiento. A pesar de esto, la evolución del índice GSI en el tiempo siguió una cinética de primer orden con una constante de velocidad afectada por la sección y la condición de almacenamiento.

El estrés climático (alta temperatura) y la baja humedad relativa inmediatamente después de la cosecha son condiciones ambientales recurrentes en la post-cosecha temprana, durante el transporte de la lechuga desde las quintas hacia los centros de distribución. Estas primeras horas post-cosecha son cruciales para la vida útil del vegetal porque las pérdidas de calidad en esta fase temprana no pueden recobrase. Por lo tanto, el conocimiento de la evolución de los indicadores de calidad es de importancia fundamental para mejorar y optimizar la manipulación de lechuga. Con este propósito se evaluaron los cambios en los índices de calidad de lechugas expuestas durante 24 horas a condiciones diversas: **A**: 0-2 °C, 97-99 %HR; **B**: 10-12 °C, 97-99 %HR; **C**: 20-22 °C, 97-99 %HR; **D**: 10-12 °C, 70-72 %HR y **E**: 20-22 °C, 60-62 %HR. Tanto la temperatura, como la humedad relativa, así como los factores edad de la hoja (sección de la planta) y tiempo de exposición (24 horas) afectaron los índices de calidad evaluados. Los efectos de la temperatura y humedad relativa pudieron evaluarse de manera conjunta a través de la diferencia de presión de vapor (DPV) entre el ambiente y el tejido. Los cambios detectados se incrementaron en función de la DPV, de la edad de la hoja, y del tiempo transcurrido desde la cosecha. Las plantas expuestas a la situación **A** fueron las que presentaron mejor desempeño en cuanto al mantenimiento de los indicadores de calidad, sin embargo, aún en este caso se detectaron importantes cambios en el status de agua del tejido.

El uso de "jaulas" en la post-cosecha de lechuga está ampliamente difundido entre los productores, intermediarios de la cadena de comercialización y vendedores de lechuga. La respuesta de los indicadores de calidad de plantas empacadas en jaulas y expuestas a diferentes condiciones durante 24 horas fue evaluada a través del cambio producido en cada indicador a las

24 horas de exposición y del impacto en la vida útil de lechuga luego de desarmar la jaula y exponer las plantas a condiciones óptimas de almacenamiento. Las condiciones ensayadas durante las 24 horas post-cosecha fueron las dos extremas ensayadas previamente sobre plantas individuales: **A**: 0-2 °C, 97-99 %HR y **E**: 20-22 °C, 60-62 %HR. Se encontró que las plantas de la jaula expuesta a la condición **E**, presentaron menores pérdidas en los atributos de calidad que las plantas expuestas individualmente a las mismas condiciones. La jaula ejerce un efecto protector en este caso. Sin embargo, si las condiciones son las óptimas (**A**), las plantas presentan mayores pérdidas cuando están empacadas en jaulas debido al deterioro por el daño mecánico generado durante el armado de la jaula y al retraso en la disminución de la temperatura por efecto de la jaula. En ambas situaciones evaluadas (A y E) se detectó un efecto dado por la ubicación de la planta dentro de la jaula. La vida útil durante el almacenamiento en condiciones óptimas de plantas que permanecieron 24 horas empacadas en jaulas bajo diferentes condiciones fue menor que en el caso de plantas sin demora en el almacenamiento. De modo que las 24 horas de empaque en jaula, aún en condiciones óptimas, disminuye el tiempo de vida útil de las plantas, recomendándose reducir este tiempo lo máximo posible. La evolución de los índices de calidad para estos casos también fue modelada mediante el índice GSI.

2. Objetivos

Objetivo General

Desarrollar modelos cinéticos para la evolución de índices de calidad de lechuga mantecosa.

Objetivo específico 1

Caracterizar la calidad inicial de la materia prima (lechuga mantecosa).

Objetivo específico 2

Establecer el efecto de variables precosecha sobre la calidad inicial de lechuga:

- Grado de desarrollo al momento de la cosecha.
- Efecto del método de cultivo en invernadero (uso de cobertura plástica mulching).

Objetivo específico 3

Determinar el efecto de condiciones óptimas y sub-óptimas de almacenamiento sobre la vida útil potencial de lechuga: desarrollo de modelos cinéticos para los diferentes indicadores de calidad.

Objetivo específico 4

Cuantificar la pérdida de calidad de lechuga por efecto de la exposición de la materia prima (plantas individuales y plantas en jaulas) a 24 horas de abuso térmico en diferentes condiciones de humedad relativa.

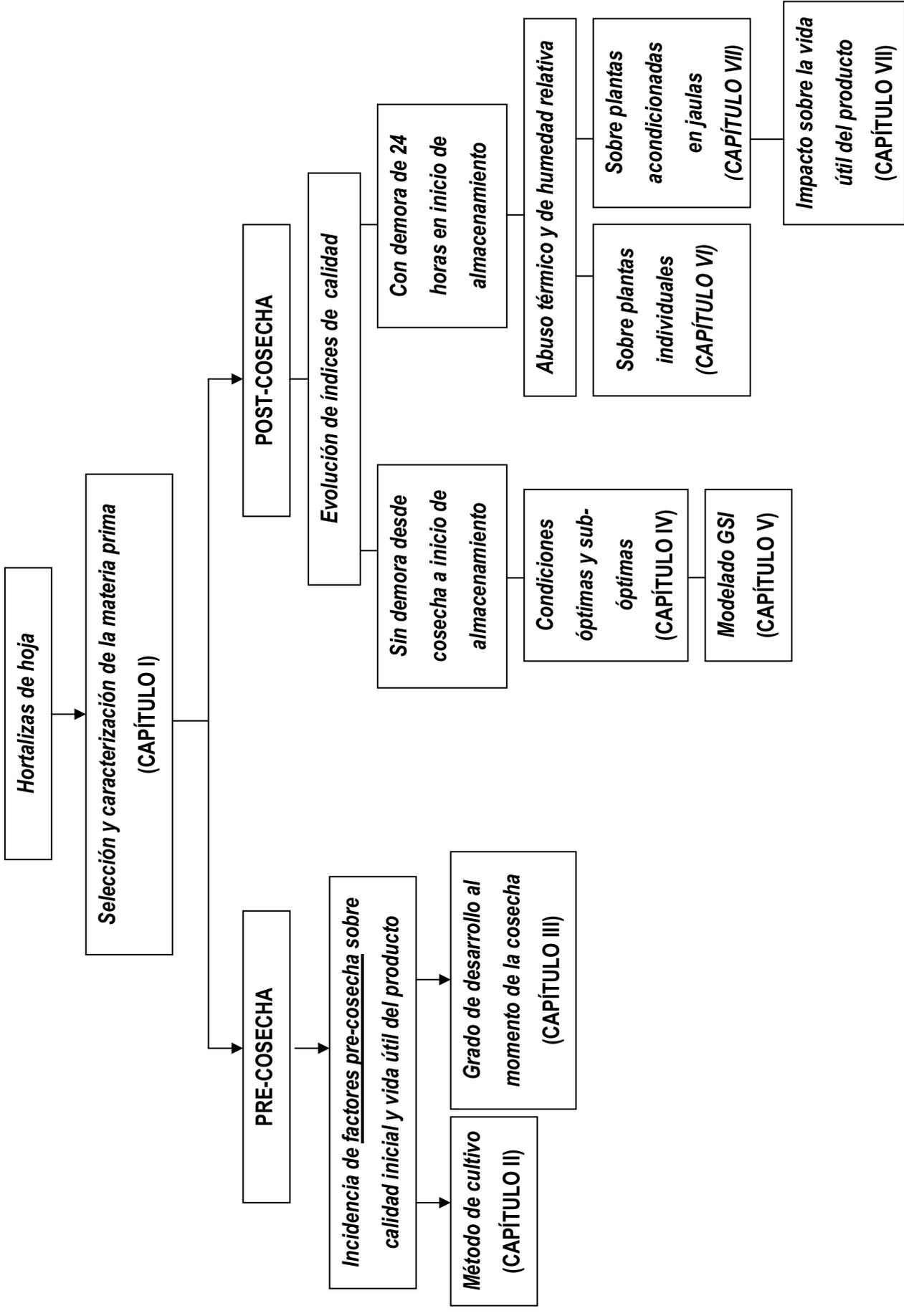
Objetivo específico 5

Establecer el efecto de las condiciones abusivas en la post-cosecha temprana sobre la extensión de la vida útil de lechuga: seguimiento a través de indicadores de calidad fisiológica, nutricional, microbiológica, fisicoquímica y organoléptica.

Objetivo específico 6

Desarrollar y validar modelos cinéticos de evolución de los indicadores de calidad de lechuga en post-cosecha.

3. Esquema general de trabajo



4. INTRODUCCIÓN GENERAL

1. EL MERCADO HORTÍCOLA Y LA PRODUCCIÓN DE LECHUGA

1.1. La importancia del sector hortícola en el contexto de la producción agropecuaria

Argentina tiene una superficie continental de 2.8 millones de kilómetros cuadrados y cuenta con unas 38 millones de hectáreas destinadas a cultivos agrícolas. La producción de hortalizas (incluyendo papa y legumbres secas) ocupan tan solo el 1.3 % de esta superficie. Sin embargo, la participación de las hortalizas en el Producto Bruto Agropecuario (agricultura y ganadería) es de aproximadamente el 10 % y si se considera sólo el sector de la agricultura, las hortalizas representan el 18 %. El volumen de producción anual de hortalizas es de 8 millones de toneladas y si bien esta cifra es muy inferior a la de cereales y oleaginosas (más de 75 millones de toneladas), las hortalizas se destacan fundamentalmente por su elevado valor económico por unidad de peso y por su alta producción por unidad de superficie.

La actividad hortícola se caracteriza por su alto grado de intensidad en cuanto a la utilización de los factores de producción: tierra, trabajo, capital y tecnología. Así, si se compara con el sector agropecuario en su totalidad, demanda 30 veces más mano de obra, 20 veces más uso de insumos y 15 veces más inversión en maquinaria y equipos, por unidad de superficie. Por esta razón, esta actividad económica tiene una gran trascendencia social ya que genera una elevada cantidad de puestos de trabajo relacionados con la producción, transporte y distribución, almacenamiento, comercialización e industrialización.

En los últimos 15 años se produjo un incremento en los rendimientos de los cultivos hortícolas gracias a la aplicación de innovaciones tecnológicas fundamentalmente dirigidas al proceso de producción, tales como: uso de variedades mejoradas e incorporación de híbridos, incremento del uso de fertilizantes, mejoramiento en la tecnología de riego (riego por goteo), difusión del cultivo bajo invernáculo, entre otras. Sin embargo, no ha sucedido lo mismo en las

etapas de manejo post-cosecha y transporte, en las cuales aún no ha habido una incorporación importante de nuevas tecnologías.

La producción de hortalizas en Argentina se distribuye a lo largo y ancho del país (*Figura 0.1*), gracias a la diversidad de condiciones agroecológicas que posee.

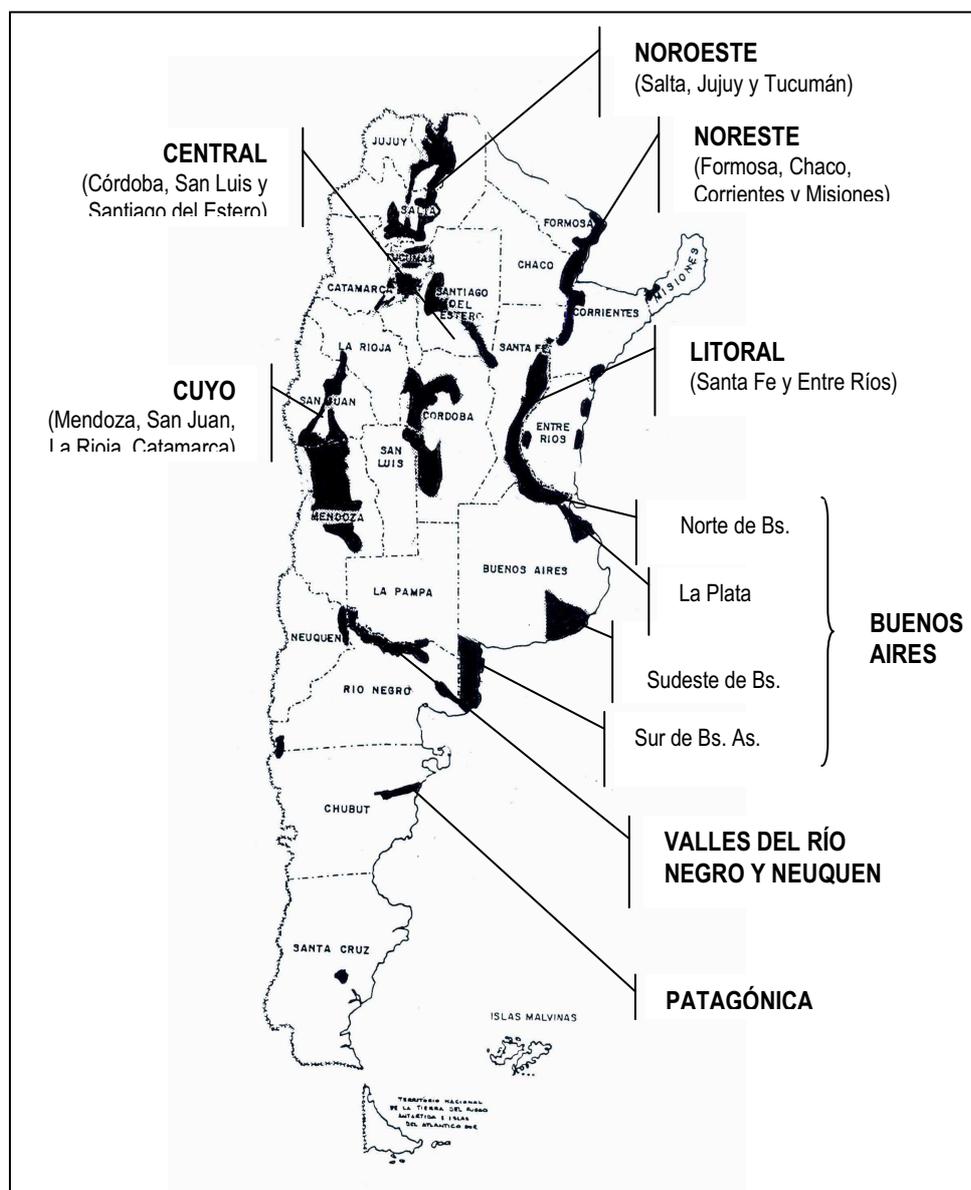


Figura 0.1. Distribución de las principales regiones hortícolas de Argentina.

Las principales provincias argentinas que se destacan por su producción hortícola son: **Buenos Aires, Mendoza, Córdoba, Santiago del Estero, Misiones, Santa Fe, Corrientes, Tucumán, Formosa, Salta, Chaco, Jujuy, San Juan y Río Negro** (ordenadas de mayor a menor superficie cultivada, según Censo Nacional Agropecuario del 2002). En la *Figura 0.2* se presenta la superficie destinada a la producción de hortalizas en cada provincia argentina según datos del censo citado anteriormente.

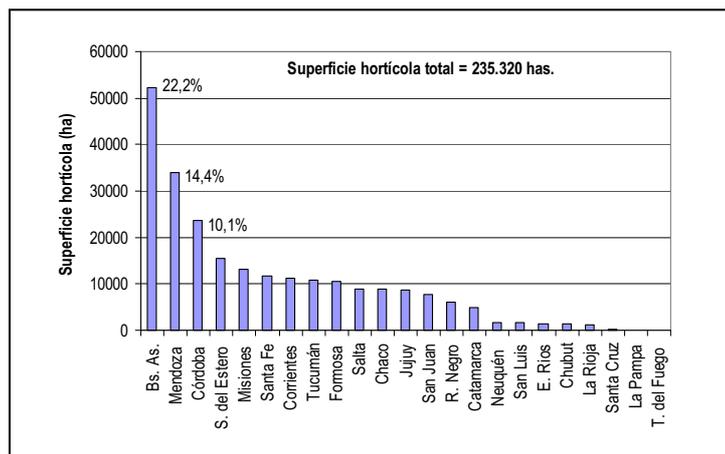


Figura 0.2. Superficie destinada en cada provincia a la producción de hortalizas.

El destino principal de los productos hortícolas es el mercado interno (93-94 %). La oferta de productos hortícolas, en general, es suficiente para abastecer holgadamente los requerimientos de la demanda interna, en su destino tanto para mercado fresco como para industria. El 6-7 % restante se exporta y está concentrado en pocas especies, tales como ajo, papa, cebolla, zanahoria, batata, espárrago, zapallo y otras especies en menor cantidad.

La mayoría de las grandes ciudades cuenta con un área cercana destinada al cultivo de hortalizas, los denominados “**cinturones hortícolas**” compuestos en general por explotaciones pequeñas o medianas (1 a 40 hectáreas). Su principal ventaja competitiva es la cercanía al mercado consumidor, lo que le permite producir muchas especies aunque agroclimáticamente no sean las zonas más aptas para algunas de ellas. Se destacan los cinturones hortícolas del área metropolitana de Buenos Aires y La Plata, Rosario, Córdoba, Mar del Plata, Mendoza y Tucumán.

1.2. Producción de hortalizas en la provincia de Buenos Aires

El censo hortiflorícola de la provincia de Buenos Aires del año 2005 indica que en Buenos Aires la superficie total dedicada a la horticultura (sin considerar la papa) es de 30976.3 hectáreas, de las cuales 29186 corresponden a cultivo a campo y 1160.3 corresponden a superficie en invernadero. En el año 2009, la superficie cultivada bajo invernadero alcanzó un valor de 3200 hectáreas (Stavisky, 2010). En nuestra provincia, la actividad hortícola es llevada a cabo en quintas, siendo la lechuga el cultivo predominante (45 % de superficie) seguido por otros productos tales como zanahoria, tomate y zapallito (Dirección Provincial de Estadística de la Provincia de Buenos Aires, 2005; Di Benedetto, 2005; Smaldoni *et al.*, 2002). Más aún, esta provincia concentra el mayor volumen de producción de lechuga: el 87 % de la producción nacional de lechuga de invernadero y el 39 % de la producción nacional de lechuga de campo (INDEC, 2002).

Dentro de la provincia de Buenos Aires, las principales regiones con destacada actividad hortícola están ubicadas en los partidos de Villarino, La Plata, General Pueyrredón, General Alvarado y Lobería. Particularmente, los productores de hortalizas en el partido de General Pueyrredón están concentrados en el denominado Cinturón Hortícola de Mar del Plata, que está ubicado en una franja de 25 km que bordea a esta ciudad, en localidades como San Carlos, Santa Paula, San Francisco, Batán y Valle Hermoso (**Figura 0.3**).

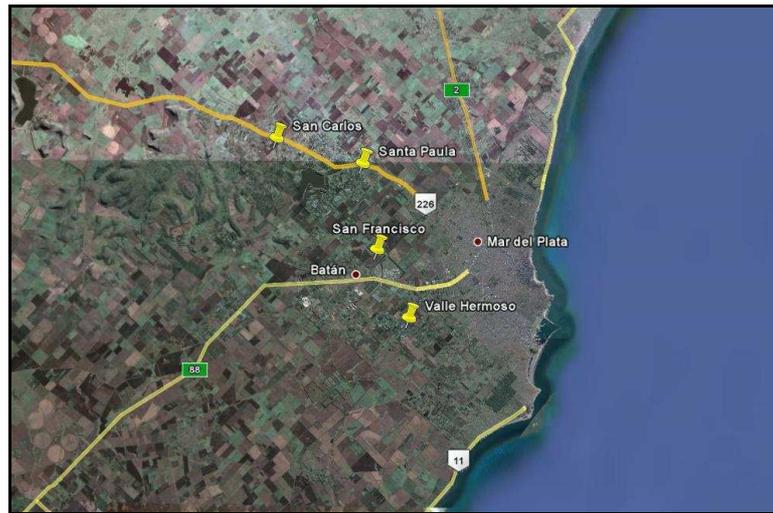


Figura 0.3. Vista satelital del cinturón hortícola de la ciudad de Mar del Plata.

La actividad hortícola comenzó a ser desarrollada en los alrededores de Mar del Plata a partir de 1947-1948 por inmigrantes italianos y después de consolidarse como zona productora, Mar del Plata pasó a ser proveedora nacional de hortalizas (Di Benedetto, 2005).

Los factores que han favorecido la expansión de la actividad hortícola en la zona son variados y numerosos. La presencia de un clima netamente marítimo determina una baja amplitud térmica anual. El suelo en esta región presenta ondulaciones interserranas con afloramientos rocosos y con pendientes que se van atenuando a medida que se alejan de las sierras. Los suelos son de textura franco-arcillo-arenosa, ricos en materia orgánica y de elevada fertilidad. Adicionalmente, esta zona cuenta con la ventaja de su cercanía a los grandes centros de consumo (principalmente Buenos Aires), diversidad de comunicaciones y adecuadas rutas para transportar la producción.

Las principales especies hortícolas cultivadas en la región son: lechuga (esta producción es importante ya que abastece a los grandes mercados nacionales en el verano), zanahoria, tomate, maíz dulce, zapallo, espinaca, arveja fresca, apio, acelga, remolacha y el resto de las hortalizas tradicionales. La producción de esta zona tiene como destino el mercado local y el área de influencia (Costa Atlántica y localidades cercanas) y también los mercados más grandes de

Argentina (Buenos Aires, Rosario, Bahía Blanca, Córdoba). La zona cuenta con tres mercados mayoristas de frutas y hortalizas. Un aspecto a destacar es el crecimiento de la producción bajo invernadero que incorporó altos rendimientos por unidad de superficie y mayor calidad del producto obtenido.

2. GENERALIDADES DE LA PLANTA DE LECHUGA

2.1. Taxonomía y morfología

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una planta herbácea anual, dicotiledónea y autógama, perteneciente a la familia Compositae (Asteraceae), una de las más grandes y diversas familias de las plantas con flores, comprendiendo una décima parte de todas las especies conocidas de angiospermas (Romani *et al.*, 2002). Su nombre latino (*Lactuca*) deriva de la palabra latina “lac” que significa “leche”, mientras que el término “sativa” hace referencia a la semilla, que crece de una semilla.

La lechuga se caracteriza por tener una raíz que se desarrolla en la capa superior del suelo y que raramente llega a sobrepasar los 25 cm de profundidad. La raíz es pivotante y con ramificaciones laterales. Su tallo es cilíndrico, muy corto y ramificado. Sus hojas se disponen en forma de roseta, desplegadas al principio. En algunas variedades, las hojas siguen así durante todo su desarrollo (variedades romanas), y en otras se aprietan formando un cogollo (o cabeza) más o menos compacto. Las hojas pueden ser de formas y texturas diversas y con borde liso, ondulado o aserrado, dependiendo de la variedad. En estadios vegetativos avanzados (próximos a la floración), la cabeza o el manojito de hojas central se abre para que avance un tallo cilíndrico y ramificado portador de hojas, así como de capítulos foliares (Di Benedetto, 2005). La inflorescencia está constituida por capítulos florales amarillos dispuestos en racimos.

2.2. Clasificación

Los cultivares modernos de lechuga pueden ser agrupados de acuerdo a la forma de la planta y su uso predominante (Di Benedetto, 2005; Wien, 1997; Ryder y Whitaker, 1995). Así, los principales grupos botánicos son:

- Romanas (Cos o Romaine lettuce): tiene hojas erectas, elongadas, con bordes enteros y nervadura central ancha. No forman una verdadera cabeza o cogollo de lechuga. Dentro de este grupo se encuentran la lechuga romana, la lechuga “Baby” y la lechuga criolla de invierno.

- Acogolladas (*Lactuca sativa* var. capitata): estas lechugas forman una cabeza o cogollo apretado de hojas. Dentro de este grupo hay dos variedades principales:
 - Lechuga mantecosa o troncadero (Butterhead lettuce): forman una cabeza floja con hojas de textura suave, de aspecto aceitoso.
 - Lechuga Iceberg (Crisphead lettuce): forman una cabeza compacta con hojas apretadas de textura quebradiza que se asemejan al repollo. Muy popular en Estados Unidos.
- De hojas sueltas: (*Lactuca sativa* var. inybasea): Esta variedad se caracteriza por presentar hojas sueltas de color verde amarillento, textura y sabor regular. Son de crecimiento muy rápido. Este grupo incluye a las lechugas Oak, Lollo rosso y al cultivar "Grand Rapids".

2.3. Propiedades, información nutricional

Entre los vegetales, las hortalizas de hoja son reconocidas por ser una excelente fuente de minerales, vitaminas y fibra dietaria (Piagentini *et al.*, 2005). En particular, algunos estudios recientes han mostrado efectos positivos de la lechuga previniendo enfermedades cardiovasculares en ratas y en humanos (Nicolle *et al.*, 2004; Serafini *et al.*, 2002). Las propiedades saludables de la lechuga son atribuidas a un gran número de compuestos antioxidantes, principalmente vitamina C, a los polifenoles y al contenido de fibra dietaria.

La **Tabla 0.1** presenta la composición nutricional de lechuga mantecosa (Di Benedetto, 2005):

Nutriente	Unidad	Valor
Agua	%	96
Proteínas	g/100g	1.2
Lípidos Totales (grasa)	g/100g	0.2
Carbohidratos	g/100g	1.2
Minerales		
Calcio	mg/100g	40
Hierro	mg/100g	1.1
Magnesio	mg/100g	16
Fósforo	mg/100g	31
Potasio	mg/100g	270
Sodio	mg/100g	10
Vitaminas		
A	UI/100g	1200
B ₁	mg/100g	0.07
B ₂	mg/100g	0.07
B ₃	mg/100g	0.40
C	mg/100g	9

Tabla 0.1. Composición nutricional de lechuga mantecosa (Di Benedetto, 2005).

2.4. El cultivo

La lechuga es una planta de cultivo anual con un ciclo de producción que puede oscilar entre 35 y 120 días, según los cultivares, la estación y el sistema de cultivo empleado. El período de crecimiento relativamente corto de la lechuga permite generar más de un turno de cosecha por ciclo anual de producción. Los sistemas empleados para su cultivo son principalmente: a campo, bajo invernadero y en sistemas hidropónicos. A medida que las producciones se realizan en condiciones más controladas, se logra un producto más suave y delicado. La variedad de lechuga mantecosa se realiza prácticamente en invernadero.

El cultivo de lechuga se desarrolla mejor en climas templados a frescos con temperaturas medias mensuales entre 13 y 18 °C. Los suelos más adecuados, son los arcillo-arenosos con buen contenido en materia orgánica. El pH óptimo del suelo se encuentra en el rango de 6 a 7.5. La lechuga es una planta que resiste los contenidos medios de salinidad. La presencia de las sales en el suelo aumenta la sensibilidad de la planta a las altas temperaturas y reduce el tamaño de las mismas. En cuanto a los requerimientos nutricionales, para producir cogollos de calidad, la lechuga requiere buena disponibilidad de nitrógeno. Si se produce exceso o déficit de este elemento la planta puede no acogollar.

En el ciclo de la lechuga pueden distinguirse tres fases:

a) *Germinación – emergencia*

Las semillas de lechuga presentan un período de latencia que puede prolongarse dos meses después de la cosecha. La temperatura óptima para la germinación se sitúa entre 15 y 20 °C. La semilla de lechuga es muy sensible a altas temperaturas del suelo y no germina cuando en el mismo se registran valores mayores a 30 °C.

La forma de implantación más común es la siembra directa aunque en los últimos años se ha extendido la utilización de almácigo y transplante. La producción de plantines puede realizarse en bandejas con celdas de capacidad variable. Cuando las plantas alcanzan los 8 a 10 cm de altura y poseen entre 5 y 6 hojas se recomienda realizar el transplante. La plantación puede realizarse en hileras distanciadas de 25 a 30 cm y 20 a 30 cm entre plantas. También puede trasplantarse sobre lomos de 0,6 a 0,8 m de ancho, con una hilera de plantas a cada lado del lomo.

b) *Fase vegetativa de desarrollo de roseta de hojas y formación de cabeza*

Una vez establecida la planta en el suelo comienza la fase vegetativa durante la cual se produce el desarrollo y crecimiento de hojas formando una roseta. Durante la primera fase del crecimiento, la temperatura óptima se ubica entre 10 y 15 °C. En la fase de crecimiento rápido, la temperatura óptima diurna oscila entre 14 y 18 °C y la nocturna entre 5 y 8 °C. La incidencia de temperaturas más bajas puede inhibir el crecimiento (detiene el crecimiento con 6 °C).

La cabeza de lechuga es un conjunto de hojas alrededor del punto de crecimiento apical de la planta. El proceso de formación de la cabeza o “acogollado” se apoya en cambios en la morfología y orientación de las hojas para transformar la estructura en roseta, a base de hojas horizontales, en una estructura más cerrada, tipo repollo, con hojas que se vuelven progresivamente más erectas y curvadas.

La capacidad de las lechugas para formar cogollos es una característica genética influida por factores del medio. Uno de estos factores es el equilibrio entre luz y temperatura. Con temperaturas superiores a 20 °C, las lechugas acogollan mal si la iluminación es baja. En general, para lograr un buen acogollado son necesarias temperaturas diurnas comprendidas entre 17 y 28 °C y temperaturas nocturnas entre 3 y 12 °C. Otros efectos de las altas temperaturas son: quemado del borde de las hojas (amarronado), sabor amargo (por acumulación de látex), formación de cabezas poco compactas. Algunos efectos de las bajas temperaturas son: daño de hojas externas e internas de plantas maduras, coloración rojiza en las hojas (acumulación de antocianinas).

c) Fase reproductiva (emisión del tallo floral)

Una planta de lechuga inducida a florecer desarrolla cambios en su morfología, pasando de ser una planta en roseta con un tallo corto a una planta de más de 1 metro de altura, con entrenudos alargados y grandes flores terminales sobre un tallo muy ramificado. La transición desde el estado vegetativo al reproductivo involucra, en cultivares que forman una cabeza compacta, el crecimiento del tallo restringido previamente por las hojas que formaban dicha cabeza.

Cuando el cultivo de lechuga tiene como objetivo la obtención de semillas, la floración es una fase necesaria. Sin embargo, cuando el objetivo del cultivo es la producción de biomasa fotosintetizante para consumo de la hortaliza, entonces la cosecha se realiza antes de alcanzar la fase reproductiva. En estos casos, la floración es indeseable ya que deprecia la calidad comercial del cultivo. Por esta razón se la considera como un accidente fisiológico conocido como “*bolting*” o floración prematura.

2.5. La cosecha de lechuga

La lechuga debe ser cosechada con un desarrollo vegetativo tal que aún no debe percibirse el sabor amargo que se forma luego del inicio de la floración (Calbo, 1999). Los criterios de cosecha difieren según el tipo de lechuga. Por ejemplo, para lechuga Iceberg, la prioridad está dada por un buen desarrollo de la cabeza. Existe una clasificación por solidez de las cabezas que estima el estado de madurez y la vida post-cosecha potencial de las mismas. Las cabezas se consideran firmes cuando son compactas pero pueden ceder levemente a una presión moderada. En este momento, el producto presenta la máxima potencialidad de almacenamiento. En el caso de lechuga

mantecosa, la determinación del momento de cosecha es más dificultosa debido a que no forma una cabeza compacta que se va endureciendo.

En nuestro país la cosecha se realiza en forma manual y escalonada en el cultivo. La cosecha de lechuga se lleva a cabo cortando las plantas a nivel de la superficie del suelo utilizando un instrumento filoso (navajas o cuchillas). En este proceso, las hojas exteriores pueden ser eliminadas, mientras que otras son dejadas ya que sirven de protección a las más internas. En esta etapa debe cuidarse la calidad higiénico-sanitaria de los instrumentos utilizados así como también de la mano de obra, ya que la manipulación que se lleva a cabo durante la cosecha puede producir contaminaciones en la materia prima. A su vez, el manejo descuidado de la materia prima puede provocar daños mecánicos que redundarán en vías de penetración de los microorganismos, aumento en la tasa respiratoria y liberación de etileno, reacciones enzimáticas no deseables, con impacto directo en la vida útil del producto.

2.6. La rutina de comercialización

Una vez cosechada, la lechuga es colocada en unidades de empaque denominadas “jaulas” para el traslado a mercado. Estos contenedores de campo son cajones comúnmente de madera que pueden contener diferentes cantidades de plantas según sea la variedad y tamaño de las unidades. Así, se da inicio a la rutina de comercialización, que puede incluir las siguientes etapas: preenfriamiento, almacenamiento en campo, transporte a centros de distribución y almacenamiento en los mismos, transporte hacia puntos de venta minorista, espera a la compra y adquisición del consumidor en punto de venta, almacenamiento final por parte del consumidor, uso final y consumo.

Actualmente, existe una tendencia a nivel mundial de revisar las prácticas de manejo durante la rutina de comercialización de los productos agroalimentarios (Ahumada y Villalobos, 2009). Este es el resultado de varios factores, tales como la mayor divulgación y trascendencia que le da el consumidor a casos de contaminación de productos frescos (van der Vorst, 2006), la creciente presencia de un consumidor más conciente que exige productos más saludables y productos cuya producción haya sido cuidadosa desde la siembra misma hasta que llega a la góndola (Ahumada y Villalobos, 2009). A nivel nacional, las buenas prácticas de manejo post-cosecha están escasamente desarrolladas. Tal es así que etapas como el preenfriamiento y el transporte refrigerado, entre otras, raramente son utilizadas.

En el caso particular de la lechuga, el manejo post-cosecha es extremadamente desfavorable provocando grandes pérdidas económicas para los intermediarios y disminución de la calidad del producto. Sin embargo, la calidad de lechuga lograda por el productor es alta (Anexo I,

Figura A.1), mientras que el producto ofrecido al consumidor en los puntos de venta finales (verdulerías) es de bajísimo nivel de calidad (Anexo I, **Figura A.2**).

Una práctica común realizada por vendedores minoristas es la eliminación diaria de las hojas externas que al estar más expuestas a las condiciones ambientales desfavorables sufren un deterioro más acelerado. Esta práctica de prolijado incrementa aún más las pérdidas económicas.

Esto pone en evidencia que durante la post-cosecha de la lechuga no se cuidan las variables básicas que afectan la calidad de este producto. Por lo tanto, las posibilidades de implementar estrategias de mejora son numerosas ya que actualmente el manejo post-cosecha de este producto es deficiente.

3. LA POST-COSECHA DE HORTALIZAS

3.1. Fisiología de la post-cosecha de hortalizas

Después de la recolección, el metabolismo del órgano vegetal permanece activo, pero al no tener suministro de nutrientes a través de las raíces o de la planta madre, utilizará sus propias reservas para asegurar su respiración, a partir de la cual obtiene la energía necesaria para todos los procesos metabólicos. Si las reservas del tejido no son muy abundantes, entonces serán agotadas rápidamente. A partir de entonces, comienza la degradación de las moléculas constitutivas de las células para obtener energía, y el órgano no sobrevive por mucho más tiempo. Todas las hortalizas evolucionan hacia la senescencia de forma más o menos rápida según su naturaleza y las condiciones ambientales en las que se encuentran (Côme y Corbineau, 2002).

La senescencia de los órganos vegetales se manifiesta de formas diversas: marchitamiento, cambio de color, ablandamiento, degeneración de los tejidos, etc. En el caso de un órgano recolectado, a las causas naturales de senescencia se suman otras resultantes de su separación de la planta madre y de las condiciones en las que se encuentra almacenado.

Las hortalizas de hoja se caracterizan por presentar un elevado contenido de agua y una relación superficie a volumen considerable. Estos dos factores favorecen la deshidratación rápida y el marchitamiento cuando estos productos son expuestos a condiciones ambientales inadecuadas que propician la pérdida de agua. Además, el tejido de estas hortalizas posee pocas reservas y un metabolismo activo debido a que son órganos jóvenes en pleno crecimiento. Por todas estas razones, las hortalizas de hoja son productos particularmente frágiles y perecederos que corren el riesgo de alterarse rápidamente si no se toman las precauciones necesarias (Côme y Corbineau, 2002).

A continuación se presentan de manera sucinta los aspectos estructurales y fisiológicos más importantes a considerar al analizar el deterioro de las hortalizas.

3.1.1. Aspectos estructurales

Los órganos vegetales están constituidos por células cuyo funcionamiento adecuado y armónico depende esencialmente de la integridad de las membranas que delimitan sus diferentes compartimentos. Una característica precoz de la senescencia parece corresponder a una alteración estructural y funcional de las membranas celulares que resiente la compartimentalización celular (Di Benedetto, 2005; Côme y Corbineau, 2002; Kader, 2002a).

3.1.2. La respiración

La respiración es el principal proceso que proporciona a la célula la energía necesaria para asegurar sus múltiples funciones. Se trata de un proceso de oxidación completa y progresiva de la glucosa bajo la forma de glucosa-6-fosfato que proviene de la hidrólisis de moléculas más complejas que constituyen las reservas de la célula, en particular sacarosa y almidón. Su degradación, que conduce a la formación de dióxido de carbono (CO_2) y de agua, pone en juego una serie de mecanismos localizados en el citoplasma (glicólisis) o en las mitocondrias (ciclo de Krebs y cadena de oxidaciones respiratorias). El CO_2 respiratorio se produce en etapas sucesivas en el ciclo de Krebs. En la secuencia final se requiere la presencia de oxígeno (O_2) para asegurar el funcionamiento de la cadena de oxidaciones respiratorias y formar agua como producto final.

La degradación de la glucosa 6-fosfato en la respiración es el origen de la producción de una importante cantidad de energía en forma de ATP. Éste es necesario para múltiples reacciones vitales y para el mantenimiento de la integridad estructural y funcional de las células. Una parte de la energía producida se pierde en forma de calor, el calor respiratorio. Cuando falta O_2 o si se altera el funcionamiento mitocondrial, no puede realizarse el ciclo de Krebs y tiene lugar entonces el metabolismo fermentativo cuyo producto final es etanol o ácido láctico.

La respiración es un proceso que no se detiene luego de la cosecha. Por el contrario, la planta continua respirando. La entrada de O_2 por difusión y la existencia de sustancias de reserva en el tejido permiten que el órgano cosechado continúe respirando para obtener energía para sus procesos metabólicos. La pérdida de esos compuestos de reserva implica (Kader, 2002a): a) una aceleración de la senescencia del tejido debido a que las reservas que permiten mantener las actividades metabólicas vitales están escaseando; b) una reducción en el contenido energético del producto; c) un cambio en el flavor del producto; d) una pérdida de peso seco (importante para los productos que se destinan a secado). En consecuencia, la respiración afecta la calidad y la vida post-cosecha del producto.

El ritmo respiratorio de los productos hortícolas varía según el producto considerado. Es por ello que son clasificados en función de su ritmo respiratorio (muy bajo ritmo, bajo, moderado, alto, muy alto y extremadamente alto) y en esta clasificación, la lechuga entera corresponde a la categoría de productos con moderado ritmo respiratorio (10-20 mg CO₂ / Kg h).

3.1.3. La transpiración

La transpiración es un proceso fisiológico que se caracteriza por la pérdida evaporativa de agua en la superficie del producto provocando una disminución de la temperatura del mismo. Cuando el órgano vegetal aún no ha sido cosechado y la planta se encuentra emplazada en su ambiente, existe un equilibrio hídrico. La planta absorbe agua a través de las raíces. El agua es transportada a través del sistema xilemático y llega a las hojas donde una pequeña proporción es utilizada en la fotosíntesis. El resto del agua absorbida pasa al ambiente en forma de vapor mediante el proceso de transpiración. El cambio de fase líquido-vapor del agua, que tiene un calor de vaporización elevado, consume calor lo cual permite el enfriamiento evaporativo de la hoja. Casi toda el agua se transpira por los estomas de las hojas y del tallo, por lo tanto, al abrir y cerrar sus estomas, una planta debe lograr un equilibrio entre la absorción de CO₂ para la fotosíntesis y la pérdida de agua por transpiración. Esta pérdida de agua por transpiración es compensada por una mayor absorción de agua a través del sistema radicular.

Cuando la hortaliza ha sido cosechada, separada de la planta madre, cualquier pérdida de agua resulta de importancia trascendental debido a que la misma ya no podrá ser compensada por el sistema radicular. El ritmo de pérdida de agua de las hortalizas durante la post-cosecha es directamente proporcional a la diferencia entre la presión de vapor de los espacios intercelulares del producto y aquella del aire que circunda a éste (Sastry, 1985; Sastry y Buffington, 1982). El aire contenido en los tejidos vegetales frescos se caracteriza por tener una humedad relativa cercana al 100 %. De aquí surge que la presión de vapor del aire de los tejidos vegetales depende únicamente de la temperatura. Por otro lado la presión de vapor del aire del ambiente de almacenamiento depende de la humedad relativa y de la temperatura. Una forma de comparar la capacidad de desecamiento de distintos ambientes es conocer los valores de déficit de presión de vapor de sus atmósferas. Cuanto mayor es el déficit de presión de vapor, mayor será la capacidad del ambiente para desecar (Thompson, 2002a).

La pérdida de agua por transpiración ocasiona un déficit hídrico de los órganos. Después de la cosecha esta deshidratación puede ser rápida sobre todo si se trata de productos con elevados contenidos de agua, con una gran superficie y sin protección contra las pérdidas de agua. Este es el caso de muchas hortalizas de hoja. La pérdida de agua es la principal causa de deterioro porque resulta no sólo en una pérdida cuantitativa (pérdida de peso), sino también en pérdidas en la

aparición, textura, degradación de los pigmentos clorofílicos, diversas alteraciones metabólicas, síntesis de etileno, etc.

3.1.4. La biosíntesis de etileno

El etileno es un compuesto gaseoso producido por las células de las plantas superiores y por algunos microorganismos. La biosíntesis de etileno se caracteriza por ser autocatalítica. Este compuesto, es una hormona que regula muchos aspectos del crecimiento, desarrollo y senescencia y es fisiológicamente activo aún en cantidades traza (menores a 0.1 ppm).

El etileno, aún siendo un gas se considera como la hormona de la senescencia de las plantas pero su mecanismo de acción sigue siendo escasamente conocido. Las hortalizas, a excepción de algunas que son frutos climatéricos, habitualmente sintetizan poco etileno pero pueden ser muy sensibles a la presencia del mismo. Por lo tanto hay que evitar la presencia de este gas en la atmósfera aunque sea en concentraciones muy bajas. Por otra parte, todos los tipos de estrés (déficit hídrico, lesiones, ataques de hongos, etc.) son capaces de estimular la producción de etileno por los órganos acelerando de esta manera su senescencia.

3.1.5. La oxidación de compuestos fenólicos

Las células vegetales contienen a menudo compuestos fenólicos en abundancia. Estos compuestos se caracterizan porque, en presencia de O₂, se oxidan fácilmente a quinonas por acción de enzimas, como las polifenoloxidasas y las peroxidasas. Las quinonas a su vez se oxidan sin intervención de enzimas particulares y se polimerizan dando compuestos pardos que son los responsables de los pardeamientos superficiales o profundos que aparecen en circunstancias diversas.

En las células sanas los compuestos fenólicos se disuelven en la vacuola mientras que las enzimas de oxidación se localizan en el citoplasma. El tonoplasto (membrana de la vacuola) impide el contacto entre enzimas y sustratos, por lo tanto no tiene lugar la oxidación. Sin embargo, cuando las células son dañadas por corte, contusiones, o por ataques microbianos, entre otras causas, esta separación deja de existir y, en presencia de O₂, se produce la reacción de oxidación de los compuestos fenólicos apareciendo el pardeamiento en el tejido.

3.2. Variables post-cosecha que afectan la calidad de productos hortícolas

La calidad y la duración de la vida post-cosecha del producto dependen no solamente de los factores intrínsecos (desarrollados sintéticamente en el inciso 3.1), sino también de factores externos que afectan en diferente grado los parámetros de calidad del producto. Entre los principales factores se deben considerar:

3.2.1. La temperatura

La temperatura es el factor ambiental con mayor influencia sobre la velocidad de deterioro de los productos hortícolas y en consecuencia, sobre la vida post-cosecha de los mismos. Esto se debe a que la temperatura determina la velocidad de las actividades metabólicas del producto (respiración, producción de etileno, actividad enzimática, etc.) y de la microflora deteriorante y patógena.

En general, por cada incremento de 10 °C sobre la temperatura óptima de almacenamiento, la tasa de deterioro se duplica o triplica, dependiendo del producto (Côme y Corbineau, 2005; Di Benedetto, 2005; Kader, 2002b). Por el contrario, las actividades enzimáticas disminuyen cuando desciende la temperatura, según la ley de Q_{10} (Côme y Corbineau, 2005), dado por la relación entre la actividad enzimática a una temperatura dada y la actividad a una temperatura 10 °C menor. Para el proceso de la respiración en la escala de temperaturas de 10 a 20 °C, Q_{10} es próximo a 2, es decir que la intensidad de la respiración se duplica cuando la temperatura aumenta por ejemplo de 10 a 20 °C. En el rango de temperatura de 0 a 10 °C el valor de Q_{10} suele ser mayor pudiendo alcanzar valores de 5 a 7, dependiendo del producto (Arias Velázquez y Toledo Hevia, 2000).

Una reducción de la temperatura de 25 a 0 °C disminuye la producción de CO_2 en 85-95 %. Para la mayoría de los productos, la disminución de la temperatura debe realizarse tan pronto sea posible luego de la cosecha, de modo de remover o extraer el “calor de campo” del producto. Luego, el control de la temperatura durante el almacenamiento y transporte es fundamental y debe ser cuidadoso ya que temperaturas muy bajas pueden causar desordenes fisiológicos (daño por frío), e incluso la muerte del tejido. La reducción en la tasa respiratoria (por disminución de la temperatura) tiene efectos preservantes en sí, ya que se retrasa la maduración y senescencia, disminuye el calor generado por respiración (la transpiración en ausencia de ese calor se ve disminuida) y finalmente hay una menor disminución de sustratos respirables. Por otra parte, la disminución de la temperatura provoca otros efectos conservantes por reducción de todo el metabolismo catabólico (por ejemplo, la síntesis de etileno) y reducción del crecimiento microbiano.

La estabilidad de los productos frescos depende de muchos factores (tipo de vegetal, proceso de producción, calidad de los materiales crudos, humedad relativa y otros) pero la temperatura es considerada como un factor crítico para la vida útil (Chiesa, 2010; Zanoni *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2004; Riva *et al.*, 2001; Paull, 1999). El manejo efectivo de la temperatura es, de hecho, el procedimiento más simple e importante para retrasar el deterioro del producto (Nunes *et al.*, 2004).

3.2.2. *La humedad relativa*

La velocidad de pérdida de agua de las hortalizas depende de la diferencia de presión de vapor (DPV) entre el producto, normalmente cercano a la saturación (Kader, 2002b) y el aire que lo rodea, el cual depende de la temperatura y de la humedad relativa.

Durante el almacenamiento es deseable mantener el producto a una humedad relativa alta para minimizar la pérdida de agua. Para la mayoría de los productos hortícolas, la humedad relativa durante el almacenamiento debería mantenerse en el rango de 90 a 95 % (Thompson, 2002b). Valores menores favorecen la pérdida de agua, mientras que valores cercanos al 100 % podrían causar un excesivo crecimiento de microorganismos.

3.2.3. *La composición atmosférica*

La reducción de la concentración de oxígeno en la atmósfera que rodea el producto, junto con una elevación en la concentración de dióxido de carbono lograda a través del uso de tecnologías de envasado (atmósferas reguladas o modificadas) puede retrasar el deterioro de las hortalizas frescas. La magnitud de estos efectos depende del producto, cultivar, edad fisiológica, nivel de O₂ y de CO₂, temperatura y duración del almacenamiento en estas condiciones.

3.2.4. *Otros factores (luz, etileno, etc.)*

La luz, la concentración de etileno en la atmósfera y otros factores tales como la presencia de residuos químicos (fungicidas, reguladores de crecimiento, etc) pueden afectar la calidad y vida útil post-cosecha de algunos productos hortícolas (Kader, 2002b).

3.3. Las pérdidas post-cosecha de hortalizas

3.3.1. *Antecedentes*

Es ampliamente conocido que desde la cosecha hasta que los productos hortícolas son consumidos ocurren pérdidas cuantitativas y cualitativas (Kader y Rolle, 2004) que equivalen a pérdidas económicas para los diferentes sectores involucrados en la cadena productiva. Las pérdidas cualitativas son mucho más difíciles de estimar que las cuantitativas, ya que ocurren cuando se reduce la aceptabilidad del producto por parte del consumidor, posiblemente por deterioro en los atributos relacionados con la apariencia del producto.

En octubre de 1967, un simposio sobre las pérdidas post-cosecha, convocado por la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO) en Roma, destacó la necesidad de aumentar la disponibilidad de alimentos mediante la reducción de las pérdidas de productos hortícolas. Este simposio, junto con el aumento significativo de la productividad agrícola que ocurrió en muchas partes del mundo debido a la introducción de variedades de alto rendimiento y el uso de fertilizantes y riego, marcó el inicio de la llamada "revolución verde" (Mrema y Rolle,

2002). Este aumento de la productividad en las explotaciones agrícolas produjo un aumento significativo en los rendimientos de los cultivos, y una crisis resultante en el sector de la post-cosecha, con pérdidas altas tanto en el campo (como resultado del ataque de los roedores), así como en los centro de procesamiento, manipulación y niveles de almacenamiento.

Los esfuerzos de la FAO en reducir las pérdidas post-cosecha se reforzaron cuando en la Conferencia Mundial de Alimentos de 1974 se prestó atención global a las altas pérdidas post-cosecha que ocurren en los países en desarrollo (Mrema y Rolle, 2002). La Asamblea General de Naciones Unidas en 1975 asumió las recomendaciones de la Conferencia Mundial sobre la Alimentación y aprobó una resolución para lograr una reducción del 50 % en las pérdidas post-cosecha para el año 1985. Estos hechos llevaron a la creación de un Programa de Acción para la Prevención de Pérdidas de Alimentos (PPA) de la FAO en 1977.

Hacia mediados de la década de 1980 y hasta principios de 1990, el alcance del trabajo cubierto por el Programa fue ampliado para cubrir las raíces y tubérculos, así como las frutas y hortalizas. Este período coincidió con la creciente demanda en Europa y América del Norte de fruta fresca y vegetales importados de países en vías de desarrollo (Cook, 1998).

A mediados de la década de 1990 se desarrolló un 'enfoque de sistemas' para abordar las cuestiones de post-cosecha, encabezado por un programa de colaboración entre la FAO y la Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ-Agencia Alemana de Cooperación Técnica). Este enfoque hizo hincapié en la vinculación de actividades no agrícolas con otras operaciones dentro del ámbito de los alimentos y / o cadenas de productos básicos, mientras que la cadena de comercialización se enfocó dentro de un amplio contexto socioeconómico, empresarial y político. Esto fue seguido a finales de 1990 con el lanzamiento de la Red de Información sobre Operaciones de Post-cosecha (Anónimo, 2010a) de la FAO en colaboración con la GTZ y el Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD), con el fin de atender mejor las necesidades de información de los países en desarrollo en cuestiones de post-cosecha.

3.3.2. Situación actual

A pesar de los esfuerzos por disminuir las pérdidas post-cosecha, éstas no han sido erradicadas por completo, principalmente en los países en vías de desarrollo. Actualmente, las pérdidas post-cosecha varían de manera considerable según sea el tipo de commodity considerado y el lugar y estación de producción. Las pérdidas de frutas y hortalizas en los países desarrollados están estimadas en un rango desde 2 % para papas hasta 23 % para frutillas, con un promedio global de 12 % de pérdidas que ocurren entre la producción y el consumo (Kader y Rolle, 2004). En contraste, el rango de pérdidas en los países en desarrollo varía ampliamente. Por el contrario, las

pérdidas que ocurren a nivel del consumidor son mayores en los países desarrollados (20 %) que en los países en vías de desarrollo (10 %). Existen pocos estudios a nivel nacional. Entre ellos, Mondino *et al.* (2007), investigando las pérdidas post-cosecha de lechuga en la región de Rosario, encontraron que un 40.25 % de la producción se pierde en el período desde el momento de cosecha hasta la llegada al minorista. En el caso de Brasil, hay estudios con cifras más generales que involucran todos los productos hortícolas e indican que cerca del 44 % de lo que se siembra se pierde en la producción, distribución y comercialización (Boletín Temático sobre Tecnologías Sociales N° 6, 2009). Globalmente, se estima que aproximadamente un tercio de la producción frutihortícola se pierde y en consecuencia no es consumida por humanos.

Una reducción en las pérdidas post-cosecha puede incrementar la disponibilidad de alimentos para la población mundial en continuo crecimiento. La reducción de los niveles de pérdidas post-cosecha constituye una estrategia a implementar cuanto antes dado que los compromisos internacionales para erradicar el hambre están lejos de cumplirse. Las recientes crisis financieras han agravado la situación de pobreza y hambre existentes a nivel mundial. Tal es así, que la FAO anunció en 2009 que el número de desnutridos sobrepasó, por primera vez, los 1000 millones de personas.

A pesar de la importancia y la conciencia que se tiene a nivel mundial al respecto, menos del 5 % de la financiación para investigación agrícola y programas de extensión a nivel mundial están destinados a actividades relacionadas con mantener la calidad del producto y la seguridad durante el manejo post-cosecha (Kader y Rolle, 2004).

4. CALIDAD INTEGRAL: ÍNDICES DE CALIDAD

El término “*calidad*” es definido por la Norma ISO 9001:2010 como el conjunto de características del producto que le confieren la aptitud para satisfacer las necesidades del cliente tanto explícitas como implícitas (Müller y Steinhart, 2007). Sin embargo, cuando el producto es un alimento, el concepto debe ser abordado desde un enfoque más amplio. La calidad de un alimento es una percepción compleja de muchos atributos que son evaluados simultáneamente en forma objetiva y subjetiva por el consumidor. El concepto de calidad involucra aspectos variados tales como propiedades físicas, componentes químicos, propiedades funcionales, valor nutritivo, propiedades sensoriales, propiedades microbiológicas, entre otros (Luning y Marcelis, 2007; Chiesa *et al.*, 2005; Abbott, 1999; Molnár, 1995). Los consumidores juzgan la calidad del producto basándose principalmente en la apariencia. Sin embargo, una vez que lo ha consumido, las siguientes compras dependerán del grado de satisfacción del consumidor en términos de textura,

sabor y aroma del producto que ha consumido. Adicionalmente, el consumidor está cada vez más interesado en aspectos tanto nutricionales como de seguridad microbiológica del producto. Se puede decir entonces que la calidad de un alimento es un concepto multifacético que comprende aspectos de seguridad, nutritivos y sensoriales, entre otros (Peri, 2006; Ismail *et al.*, 2001).

La calidad de productos hortícolas es definida como la combinación de atributos, propiedades y características que determinan su valor para el consumidor (Kader, 2008; Kader, 2002b). La calidad de los productos hortícolas es originada en el campo (Di Benedetto, 2005). De hecho, la calidad depende del cultivar, prácticas culturales pre-cosecha, condiciones climáticas, madurez o grado de desarrollo al momento de la cosecha, método de cosecha, entre otros. La cosecha de las hortalizas implica la separación de la fuente de agua y de nutrientes, por lo tanto, una vez cosechadas, las hortalizas dependen de sus reservas para continuar con sus actividades metabólicas: respiración, transpiración, entre otras. La entrada de O₂ y la salida de CO₂ por difusión a través del tejido vegetal hacen posible que la planta continúe con su metabolismo activo. Esto genera continuos cambios en la composición de la materia prima y determina una declinación de la calidad (Lopez Camello, 2003). La velocidad de este deterioro depende del tipo de producto, condiciones de cultivo y otros factores pre-cosecha, pero principalmente de la manipulación durante el acondicionamiento, comercialización y procesamiento y de las condiciones ambientales a las que se expone el producto (Kader, 2002b). Los cambios que ocurren en la post-cosecha no pueden ser detenidos, pero sí pueden ser demorados, dentro de ciertos límites (Lopez Camello, 2003).

Los atributos y propiedades determinantes de la calidad en las hortalizas pueden ser clasificados en cinco áreas: calidad fisiológica, calidad organoléptica, calidad nutricional, calidad microbiológica y calidad físico-química (Müller y Steinhart, 2007).

4.1. Calidad fisiológica

Los cambios post-cosecha de los productos hortícolas están asociados a cambios en su fisiología, tales como modificaciones en los patrones de respiración, de transpiración, de producción de etileno, entre otros.

Uno de los aspectos fisiológicos más importantes a considerar es la madurez o grado de desarrollo del producto al momento de realizar la cosecha. Esta característica tiene un profundo impacto en la calidad y extensión de la vida útil del producto y afecta el modo en que los productos son manejados, transportados y comercializados (Reid, 2002). La madurez de un producto hortícola es la etapa de su desarrollo y crecimiento en la cual una planta o parte de una planta posee los prerequisites para su utilización por parte de los consumidores para un propósito particular. Los

índices de madurez utilizados son variados y numerosos, entre ellos: tamaño, color, forma, solidez, firmeza, tiempo transcurrido desde un evento particular (cosecha, transplante, etc.). La elección del índice a utilizar depende del producto en consideración y en el caso de la lechuga mantecosa, la cosecha se realiza cuando la planta ha alcanzado un tamaño comercializable y antes del proceso de floración o *bolting* que trae asociado el desarrollo de un sabor amargo indeseable en el producto.

Otro aspecto importante que caracteriza el estado fisiológico del producto se relaciona con los índices de agua del mismo. El contenido de agua (WC) de la célula vegetal es el responsable de la turgidez de la misma y del producto. En las hortalizas de hoja, el contenido de agua recobra mayor importancia dado que la deshidratación es uno de los principales factores que condicionan la vida útil de estos vegetales. La determinación del contenido de agua es una de las principales técnicas de análisis realizadas sobre productos alimenticios (Isengard, 2001). Sin embargo, también se ha observado que diversos alimentos con el mismo contenido de agua defieren en su susceptibilidad a la alteración. En consecuencia, el contenido de agua por sí solo no es un indicador fiable de la alterabilidad. Esta inadecuación puede atribuirse en parte a diferencias en la intensidad con que las moléculas de agua se asocian con los constituyentes no acuosos (Fennema, 1993). Es así que existen otros índices de agua que permiten determinar en qué forma se encuentra el agua dentro de la estructura de los alimentos. Ellos son el contenido de agua libre (FW) y de agua unida (BW). El primero se refiere al agua susceptible de ser eliminada por simple evaporación, y aquella que permite el crecimiento bacteriano y la actividad enzimática. El segundo índice cuantifica el agua que se encuentra ligada estructuralmente y que no se elimina por evaporación. Finalmente, existe otro índice, el contenido relativo de agua (RWC), que permite determinar la cantidad de agua que contiene el tejido alimenticio respecto de la máxima cantidad de agua que éste podría tener. Este índice es muy usado en vegetales para determinar el grado de hidratación de los mismos (Esparza-Rivera *et al.*, 2006; Eitel *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2006; Yamasaki y Rebello Dillenburg, 1999; Jones y Tardieu, 1998).

4.2. Calidad organoléptica

La preferencia del consumidor por el producto alimenticio está determinada en gran medida por la percepción sensorial. La evaluación sensorial depende de tres consideraciones principales. En primer lugar, están las características relacionadas con la apariencia del producto incluyendo color, forma, tamaño, integridad, consistencia. En segundo lugar, aparecen las características texturales (sensación al paladar, mordida, masticabilidad, cuerpo, jugosidad, crocancia, rigidez, entre otros). La tercera consideración a realizar incluye el sabor y aroma (Singhal *et al.*, 1997).

La calidad organoléptica de las hortalizas está relacionada estrechamente con su composición. Así, el contenido de pigmentos, de compuestos azucarados, amargos y sulfurosos y de compuestos volátiles determinan el aroma, color y sabor, mientras que los contenidos de fibra, agua y almidón, contribuyen a la textura. La composición de la hortaliza se genera durante su crecimiento antes de la cosecha y va cambiando en la post-cosecha. Por consiguiente, los factores de pre- y post-cosecha afectarán la formación y cambio, respectivamente, de las características sensoriales.

Para medir la calidad organoléptica debe definirse en primer lugar cuáles son las principales características percibidas por los sentidos humanos para el producto bajo consideración. La importancia relativa de cada uno de estos atributos depende del producto y de su intención de uso (fresco o procesado/industrializado).

A continuación se desarrollan los principales componentes de la calidad organoléptica de hortalizas:

4.2.1. Apariencia

Incluye tamaño (dimensiones, peso y volumen), forma, color (uniformidad, intensidad), brillo, defectos externos e internos (morfológicos, fisiológicos, mecánicos o patológicos). Los defectos pueden originarse antes de la cosecha como resultado del daño por insectos, enfermedades (como la conocida con el nombre de “tipburn” que es un desorden fisiológico relacionado con la carencia de calcio) y situaciones de estrés. Durante la post-cosecha pueden ocurrir marchitamientos, daño mecánico como puntos, cortes, grietas, magulladuras y rajaduras.

4.2.2. Textura

Incluye firmeza, dureza, suavidad, turgencia, succulencia y fibrosidad. La calidad textural de hortalizas tiene importancia no sólo para su consumo como fresco o cocido, sino también para su traslado y manipulación. La temperatura y vibraciones a las que se somete el producto influyen sobre la tasa de ablandamiento del tejido.

4.2.3. Sabor y aroma

Estos incluyen: dulzor, amargor, astringencia, acidez, aroma, presencia de sabores y olores extraños. El sabor y el aroma están determinados por el contenido de azúcar (dulzor), ácidos orgánicos (acidez), compuestos fenólicos (astringencia) y sustancias volátiles (aroma). El sabor no parece ser directamente reflejado por la suma de los componentes volátiles y no volátiles ya que también depende de la interacción entre ellos. Aunque el sabor y el aroma son percibidos por diferentes sensores, la proximidad de los mismos y su conexión a través de la faringe humana hace difícil, para el consumidor, diferenciar entre ambos.

Existen diferentes técnicas que permiten evaluar la calidad organoléptica de un producto. Una de ellas es la *Prueba a los consumidores* en la cual se utiliza un gran número de consumidores del producto a los que se les pregunta directamente su preferencia entre diferentes muestras de vegetales. Por otra parte, existen *Métodos analíticos sensoriales* que utilizan a un grupo entrenado de evaluadores que describe y evalúa propiedades externas e internas de diferentes muestras vegetales en condiciones controladas.

4.3. Calidad nutricional

Los alimentos son necesarios para el mantenimiento de una salud normal de adultos y proveer un estándar de crecimiento en niños. Por lo tanto, la calidad nutritiva de los alimentos debe ser evaluada para caracterizar este aspecto de los mismos, y puede ser medida en términos del contenido de nutrientes, tales como proteínas, vitaminas, minerales, fibra.

Desde el punto de vista nutritivo, las hortalizas no son suficientes para satisfacer los requerimientos nutricionales diarios, esencialmente por su bajo contenido de materia seca. Poseen un alto contenido de agua y bajo de carbohidratos (exceptuando batata, papa, yuca y otros órganos subterráneos), de proteínas (salvo las leguminosas y algunas crucíferas) y de lípidos (excepto palta), pero son, en general, una buena fuente de minerales y vitaminas. La vitamina más importante para la nutrición humana presente en hortalizas es la vitamina C (Lee y Kader, 2000). Más del 90 % de la vitamina C en la dieta humana es suministrada por las frutas y hortalizas. Los vegetales de hoja constituyen una fuente valorable de vitamina C, especialmente cuando son consumidos frescos (Konstantopoulou *et al.*, 2010). La vitamina C es utilizada frecuentemente para caracterizar la calidad nutritiva de hortalizas de hoja (Moreira *et al.*, 2003; Kader, 2002b).

La vitamina C se define como el término genérico para todos los compuestos que presentan la actividad biológica del ácido L-ascórbico (AA). AA es la principal forma biológicamente activa pero el ácido L-dehidroascórbico (DHA), un producto de la oxidación del AA, también exhibe actividad biológica.

La vitamina C es necesaria para la prevención del escorbuto y el mantenimiento de una piel sana, de las encías y los vasos sanguíneos, además de poseer muchas funciones biológicas en la formación de colágeno, la absorción de hierro inorgánico, la reducción del nivel de colesterol en plasma, la inhibición de la formación de nitrosaminas, la mejora del sistema inmunológico y la reacción con el oxígeno singulete y otros radicales libres. La vitamina C, como antioxidante, reduce el riesgo de arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y algunas formas de cáncer (Davey *et al.*, 2000; Lee y Kader, 2000; Wang *et al.*, 2000; van Poppel y van den Berg, 1997).

4.4. Calidad microbiológica

Las hortalizas no solamente deben ser atractivas en cuanto a su apariencia, fresca y valor nutritivo, sino también su consumo no debe poner en riesgo la salud del consumidor. Los cultivos hortícolas son nichos ecológicos para la microflora adversa y cambiante. Los cultivos frescos contienen típicamente un mix complejo de bacterias, hongos y levaduras que caracterizan al vegetal y cuya población y tipos son considerablemente variables (Zagory, 1999). Para las hortalizas de hoja, la microflora nativa predominante son los microorganismos del suelo.

Si bien algunos microorganismos peligrosos forman parte de la flora natural del suelo o del ambiente, la vía fecal o urinaria es la principal fuente de contaminación y llega a las frutas y hortalizas fundamentalmente a través del agua usada en riegos o lavados.

La producción frutihortícola es altamente demandante de mano de obra, y las condiciones higiénicas a las que los operarios y trabajadores rurales están expuestos constituyen otra posible fuente de contaminación. La cosecha, al igual que todas las operaciones en que el producto es manipulado, provee numerosas oportunidades para la contaminación a través de las lesiones que exponen los tejidos internos liberando látex y otros jugos vegetales sobre el resto, condición necesaria para que los microorganismos presentes en las manos y ropa de los operarios, herramientas de cosecha o envases tengan la oportunidad de establecerse sobre el tejido vegetal. La carga microbiológica inicial del producto hortícola puede exacerbarse por un inadecuado manejo de las condiciones a la que el producto es expuesto en cualquier punto de la cadena hasta el consumo.

Existen métodos de laboratorio como por ejemplo, el número total de colonias que crecen en un medio de cultivo que dan una idea del grado de contaminación microbiana o la higiene con la que ha sido producido. Estos métodos son útiles para monitorear el sistema o evaluar la eficacia de determinadas medidas sanitarias.

4.5. Calidad físico-química

4.5.1. Contenido de clorofila

La clorofila es el pigmento vegetal más ampliamente distribuido. Este compuesto tiene una importancia trascendental para la vida ya que es el responsable de la captación de energía lumínica para ser convertida luego en energía química en el proceso de la fotosíntesis. Adicionalmente, la importancia de este compuesto en la tecnología de alimentos deriva de su participación en el color de los vegetales (King *et al.*, 2001; Heaton y Marangoni, 1996; Lajolo y Lanfer-Márquez, 1982). En los últimos años se ha puesto atención en la importancia de la clorofila en la dieta humana y se ha demostrado la actividad anticancerígena de clorofila y compuestos relacionados tal como la feofitina

sobre tumores de piel de ratones (Xue y Yang, 2009; Caldwell y Britz, 2006; Higashi-Okai *et al.*, 1998).

Las moléculas de clorofila son compuestos hidrofóbicos, por lo tanto pueden ser extraídos con un solvente orgánico simple o una mezcla de solventes orgánicos (Schoefs, 2004).

La pérdida de clorofila en los tejidos en senescencia constituye uno de los principales problemas durante la post-cosecha de las hortalizas de hoja. La pérdida de clorofila provoca un cambio en el color desde verde brillante a un marrón oliváceo en los productos procesados y a una variedad de colores (amarillo, marrón, naranja) en los tejidos en senescencia (Toivonen y Brummell, 2008; Heaton y Marangoni, 1996). Estos cambios de color representan disminuciones en la calidad de los productos. Por esta razón, la determinación y cuantificación del contenido de clorofila constituye uno de los índices de calidad más utilizados en hortalizas de hoja verde.

4.5.2. *Determinación de color*

El color es uno de los atributos principales que caracteriza la frescura de la mayoría de las verduras. El color determina en gran medida la apariencia de un producto. Los consumidores consideran al color como criterio primario en la elección del producto para la compra (Rico *et al.*, 2007; Kays, 1999; Gnanasekharan *et al.*, 1992).

En general, el color observado por los seres humanos es la percepción de las longitudes de onda procedente de la superficie del objeto en la retina de los ojos. Los ojos humanos son sensibles a longitudes de onda entre 700 y 400 nm con una sensibilidad óptima para la luz con una longitud de onda de aproximadamente 550 nm (Tijssens *et al.*, 2001).

El color de un objeto puede ser descrito por varios sistemas de coordenadas de color (Abbot, 1999; Gnanasekharan *et al.*, 1992; Francis, 1980; Clydesdale, 1978). Algunos de los sistemas más populares son RGB (rojo, verde y azul), que se utiliza en los monitores, Hunter Lab, CIE (Comisión Internationale de l'Eclairage) $L^*a^*b^*$, CIEXYZ, entre otros (Abbot, 1999). Estos difieren en la simetría del espacio de color y en el sistema de coordenadas utilizado para definir los puntos dentro de ese espacio.

El color de las hortalizas verdes está determinado principalmente por los pigmentos de clorofila presentes en el tejido vegetal para captar la energía de la luz solar. El sistema CIE- $L^*a^*b^*$ se utiliza con frecuencia como un método versátil y confiable para medir el color de las frutas y hortalizas durante el almacenamiento y procesamiento (Tijssens *et al.*, 2001; Gnanasekharan *et al.*, 1992).

5. DESARROLLO

CAPÍTULO I

CARACTERIZACIÓN DE LA CALIDAD INICIAL DE LECHUGA MANTECOSA

Esquema conceptual

Índices evaluados:

- Contenido de agua relativo (RWC)
- Contenido de agua (WC)
- Contenido de agua libre (FW)
- Contenido de agua unida (BW)
- Relación agua libre a agua total (FW/TW)
- Contenido de ácido ascórbico (AA)
- Contenido de clorofila (C)
- Recuentos de poblaciones microbianas (Log (UFC/gTF))
- Calidad visual global (OVQ)
- Color (L^* , a^* , b^*)

Seguimiento

- Caracterización del vegetal al momento de la cosecha.

Modelos

- Secciones de la planta: externa, media e interna.
- Modelos de variación de índices de status de agua en función de la posición de la hoja dentro de la planta.

CAPÍTULO I:

CARACTERIZACIÓN DE LA CALIDAD INICIAL DE LECHUGA MANTECOSA

1. INTRODUCCIÓN

Los vegetales de hoja son una fuente rica de antioxidantes tales como β -caroteno y ácido ascórbico (Negi y Roy, 2000; Arthey y Dennis, 1992). La lechuga, en particular, es uno de los vegetales verdes más populares del mundo (Martín-Diana *et al.*, 2007) y es usualmente consumido crudo a través de preparaciones frescas tales como las ensaladas. A pesar de que el valor nutritivo por planta es relativamente bajo, el consumo per cápita en Argentina es alto, alrededor de 20 Kg/año (Anónimo, 2010b), razón por la cual la lechuga contribuye de manera apreciable con fibra, vitaminas, carotenoides, calcio, potasio, y magnesio a la dieta de los consumidores (Mulabagal *et al.*, 2010; Nicolle *et al.*, 2004).

En la actualidad al consumidor le interesa conocer cómo se han procesado y obtenido los alimentos; y exige, cada vez más, que los productos que consume sean seguros. Uno de los mayores problemas en la comercialización de hortalizas frescas es la pérdida de calidad que tiene lugar desde la cosecha misma. La calidad máxima de este tipo de productos está asociada al momento óptimo de la cosecha ya que a partir de entonces el producto evoluciona más o menos rápido hacia la senescencia. Por esta razón, caracterizar la calidad inicial del producto al momento de la cosecha constituye el punto de partida en el estudio de la post-cosecha del mismo.

La cabeza de lechuga está formada por un ensamblaje de hojas muy cercanas que crecen alrededor del punto de crecimiento de la planta (Wien, 1997). El desarrollo de una hoja es un proceso ordenado que lleva a distribuciones muy precisas en la planta (Di Benedetto, 2005). El ápice da lugar a la formación de nuevas hojas que a medida que van creciendo se alejan del mismo dejando espacio suficiente para la formación de nuevos primordios foliares. Este patrón de

crecimiento, característico de plantas de lechuga, determina que las hojas internas de la planta sean más jóvenes que las externas. A su vez, esta distribución foliar hace que cada hoja de lechuga tenga un determinado nivel de exposición a las condiciones ambientales durante su crecimiento (tales como luz, humedad, absorción de nutrientes y temperatura). Ambos factores (la edad de la hoja y el nivel de exposición a los factores ambientales) pueden, por una parte, introducir diferencias en los índices de calidad del material fresco recién cosechado, y por otra, pueden ser factores importantes en el mantenimiento de la calidad post-cosecha de la lechuga (Chiesa, 2010; Koukounaras *et al.*, 2007; Tulio *et al.*, 2002).

La lechuga constituye entonces un sistema de estudio de interés que permite analizar, por un lado, la variable desarrollo o edad de la hoja y, por otro, el efecto de niveles de exposición diferenciales a las variables medioambientales sobre los indicadores de calidad, aunque estos factores aparecen asociados y sea difícil establecer si es uno u otro (o ambos) el responsable de las distribuciones de los índices de calidad dentro de la planta.

Por otra parte, es necesario tener en cuenta que los productores y expendedores de lechuga van removiendo las hojas externas de la lechuga a medida que avanza el almacenamiento post-cosecha, ya que esas hojas empiezan a mostrar signos de deterioro como resultado de la mayor exposición a las condiciones ambientales y manipulación. Por lo tanto, conocer la distribución de los índices de calidad fisiológica, físico-química, nutricional, microbiológica y organoléptica dentro de la planta permite caracterizar la calidad de la materia prima al momento de la cosecha, y a su vez, conocer el valor de las pérdidas que tienen lugar durante las prácticas de prolijado realizadas por los productores y verduleros.

Los objetivos planteados para el presente capítulo fueron:

- Caracterizar la calidad inicial de lechuga mantecosa (recién cosechada) y,
- Evaluar el efecto de la ubicación de la hoja dentro de la planta sobre los índices de calidad.

La calidad fisiológica fue evaluada a través de índices de status de agua (contenido de agua relativo, contenido de agua, contenido de agua libre y agua unida, y relación agua libre a agua total). El recuento de microorganismos mesófilos totales fue utilizado como indicador de la calidad microbiológica. Paralelamente, el recuento de otras poblaciones microbianas (bacterias ácido-lácticas, coliformes y psicrófilas, hongos y levaduras) fue realizado para cuantificar la microflora nativa. El contenido de ácido ascórbico se utilizó como índice de calidad nutricional. La calidad físico-química se analizó a través del contenido de clorofila e índices de color. La calidad organoléptica se evaluó a través del índice OVQ (calidad visual general).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico y preparación de muestras

Las plantas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* var. Lores) fueron cultivadas en invernaderos de la zona de Sierra de los Padres, Mar del Plata, Argentina. Las lechugas fueron cosechadas cuando alcanzaron un tamaño comercializable óptimo (24 – 30 hojas por cabeza). Una vez cosechadas, las cabezas de lechuga fueron inmediatamente transportadas al laboratorio en bolsas refrigeradas dentro de la primera hora luego de la cosecha.

Todos los parámetros fueron medidos en tres secciones diferentes de la cabeza de lechuga llamadas: externa (hojas más externas), media (hojas intermedias) e interna (hojas más internas). Para cada planta de lechuga, las secciones fueron delimitadas visualmente aplicando un criterio organoléptico de acuerdo al cual las hojas internas son amarillentas y están dispuestas más estrechamente formando un cogollo central en la planta, mientras que las hojas más externas son de color verde más oscuro. Las hojas de la sección media de la planta presentan características intermedias entre una y otra. Cada sección de la planta está integrada por una cantidad entre 6 y 9 hojas, y está relacionada con la edad del tejido siendo las hojas externas las más maduras y las internas las más jóvenes.

Se realizaron 5 corridas experimentales y en cada una de ellas 9 plantas enteras fueron analizadas, tres plantas para los índices de agua, tres plantas para los índices microbiológico y nutricional, y tres plantas para los indicadores organoléptico y físico-químicos.

2.2. Calidad fisiológica: Índices del status de agua

El status de agua en la lechuga fue determinado a través de los siguientes índices: contenido de agua (WC), contenido de agua relativo (RWC), contenido de agua libre (FW) y de agua unida (BW), y la relación entre agua libre y agua total (FW/TW). Los índices del status de agua fueron calculados para todas las hojas de la planta, registrando además la sección a la que pertenecía la hoja (externa, media o interna). Los valores obtenidos en las hojas correspondientes a cada sección fueron utilizados para calcular el valor promedio del índice en la sección analizada.

La **Figura 1.1** muestra cómo se procedió a cortar cada hoja de lechuga para medir los diferentes índices de status de agua. Al menos tres rectángulos de 15 cm² cada uno fueron cortados de cada hoja usando una cuchilla de acero inoxidable.



Figura 1.1. Detalle de corte de rectángulos en una hoja de lechuga para determinar el status de agua.

El primer rectángulo, cortado en el área central apical fue destinado a la determinación de RWC. El RWC es un índice que depende de un gran número de variables tales como la edad de la hoja y las condiciones ambientales a las cuales las hojas fueron expuestas (Yamasaki y Rebello Dillenburg, 1999). Por esta razón, sólo un rectángulo por hoja fue cortado siempre en el mismo sector (área central apical) para su determinación. Los otros dos rectángulos fueron cortados en la misma línea horizontal, a 1 cm debajo del primero, y a cada lado de la nervadura central. Los rectángulos obtenidos del lado derecho de la hoja fueron empleados en las determinaciones de FW, BW y FW/TW, mientras que los rectángulos obtenidos del lado izquierdo se destinaron a la determinación de WC. Cuando el tamaño de la hoja lo permitió, más rectángulos fueron cortados para obtener determinaciones de WC, FW, BW y FW/TW por duplicado o triplicado.

Para determinar el RWC, las porciones rectangulares cortadas de cada hoja fueron pesadas para obtener el peso fresco (PF). Luego de esto, los rectángulos fueron colocados en una cámara de humidificación consistente en un contenedor plástico con 5 L de agua destilada provisto por una tapa plástica hermética para prevenir el intercambio de humedad con el ambiente. Los rectángulos permanecieron durante 20 horas a 4 °C y en la oscuridad dentro de esa cámara. Luego, fueron escurridos, secados con papel absorbente, y pesados individualmente para obtener el peso turgente (PT). Finalmente, las porciones fueron secadas durante 24 horas a 80 °C en una estufa convencional para determinar el peso seco (PS). Los valores de PF, PT y PS fueron utilizados para calcular RWC utilizando la *Ecuación 1.1* (Esparza-Rivera *et al.*, 2006):

$$RWC(\%) = \frac{PF - PS}{PT - PS} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 1.1})$$

Para las determinaciones de WC los rectángulos izquierdos (**Figura 1.1**) fueron pesados para obtener el peso fresco (PF). Luego fueron colocados en una estufa convencional a 80 °C durante 24 horas y pesados nuevamente para obtener el peso seco (PS). El contenido de agua (WC) fue calculado a partir de los valores anteriores con la *Ecuación 1.2*:

$$WC(\%) = \frac{PF - PS}{PF} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 1.2})$$

El contenido de agua en el tejido de la hoja está constituido por dos componentes: agua libre solvente y agua unida. Los valores para cada uno de estos índices fueron obtenidos siguiendo la metodología descrita por Singh *et al.* (2006). Los rectángulos derechos (**Figura 1.1**) de cada hoja fueron pesados (PF) y luego congelados colocándolos en tubos Falcon de 15 mL para frizar en nitrógeno líquido. Al día siguiente, los rectángulos fueron descongelados, secados en aire durante 30 minutos y posteriormente fueron pesados para obtener el peso descongelado (PD). Finalmente, se colocaron en una estufa durante 24 horas a 80 °C. El peso de los mismos constituyó el peso seco (PS). Los valores de PF, PD y PS, fueron utilizados para calcular contenido total de agua (TW), contenido de agua libre (FW) y contenido de agua unida (BW) utilizando las *Ecuaciones 1.3, 1.4 y 1.5*:

$$TW = \frac{PF - PS}{PS} \quad (\text{Ec. 1.3})$$

$$BW = \frac{PD - PS}{PS} \quad (\text{Ec. 1.4})$$

$$FW = TW - BW \quad (\text{Ec. 1.5})$$

La relación agua libre a agua total (FW/TW) fue calculada dividiendo FW y TW. FW, BW y TW fueron expresados en gramos de agua por unidad de masa seca (g.g⁻¹).

2.3. Calidad microbiológica: Recuentos de poblaciones de la microflora nativa

Para el estudio de los microorganismos mesófilos totales (indicador de calidad microbiológica), una muestra de 10 g de lechuga correspondiente a cada sección (externa, media e interna) fue macerada (Stomacher 400 Circulator Homogenizer, Londres) en una solución buffer (PO₄K₃, pH = 7.2). El recuento de bacterias mesófilas totales fue realizado en agar para recuento en placa (PCA) luego de una incubación durante 24 h a 35 °C (Mossel y Moreno García, 1985; ICMSF, 1983).

La enumeración de las demás poblaciones microbianas fue llevada a cabo utilizando los siguientes medios y condiciones de cultivo: bacterias psicrófilas en PCA incubado a 5 °C durante 3-4 días (Mossel y Moreno García, 1985; ICMSF, 1983); enterobacterias y coliformes totales en EMB (Eosin Metilen Blue) incubado a 30-32 °C durante 24 horas. Hongos y levaduras fueron contadas en YGC (Yeast-Glucose-Chloranphenicol) incubado a 25 °C durante 5 días (ICMSF, 1983). Las bacterias ácido-lácticas fueron contadas en medio MRS (Man, Rogosa y Sharpe; De Man *et al.*, 1960) incubado a 30 °C durante 24 horas. Los recuentos microbianos fueron realizados por

duplicado en cada sección de la planta y fueron expresados en unidades formadoras de colonias (UFC) por g de tejido fresco, previa transformación mediante la aplicación de logaritmo decimal (Log (UFC/g TF)). Todos los medios de cultivo fueron adquiridos en la empresa Britania, Buenos Aires, Argentina.

2.4. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

El contenido de ácido ascórbico reducido fue determinado por el ensayo titrimétrico descrito por Roura *et al.* (2003). Dos muestras de 20 g de tejido de cada sección de lechuga fueron extraídas y procesadas con 100 mL de ácido metafosfórico al 6 % durante 3 minutos utilizando un homogenizador, manteniendo la temperatura en el rango de 0 a 5 °C. Luego fueron llevadas a un volumen de 250 ml con ácido metafosfórico al 3 % y filtradas a través de papel de filtro Whatman # 42. Alícuotas de 5 mL de filtrado fueron tituladas independientemente con 2,6-dicloroindofenol hasta el viraje de color, que para el caso del homogenato de color verde de la lechuga es hasta la obtención de un color oliváceo en la alícuota (**Figura 1.2**). El contenido de ácido ascórbico de cada sección de lechuga fue informado en base húmeda (mg / 100 g de tejido fresco).

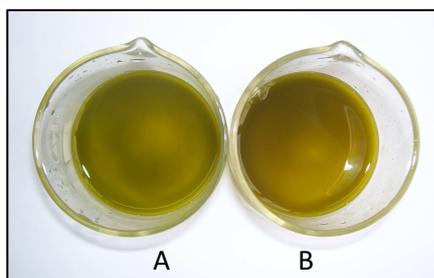


Figura 1.2. Detalle de alícuota de filtrado (A) y filtrado titulado (B).

2.5. Calidad físico-química

2.5.1. Contenido de clorofila

El contenido de clorofila de cada sección fue determinado siguiendo la metodología descrita por Moreira *et al.* (2003). De cada sección de la planta, se tomaron algunas hojas para formar un pool correspondiente a cada sección. Cada uno de ellos fue procesado con un procesador manual (Minipimer, Braun). Dos muestras (de 1 g cada una) fueron tomadas del homogenato. Cada muestra fue homogenizada con 19 mL de una solución fría de propanona e hidróxido de amonio (0.1 N) en una relación 18:1, respectivamente. Este homogenato fue filtrado a través de un filtro de vidrio con lecho poroso y el agua fue removida del filtrado agregando sulfato de sodio anhidro. La absorbancia del filtrado fue medida en las longitudes de onda: 660.0 y 642.5 nm con un espectrofotómetro UV-visible UV 1601 PC (Shimadzu Corporation, Japan). El contenido de clorofila fue calculado aplicando la siguiente ecuación (Moreira *et al.*, 2003; Song *et al.*, 2003; AOAC, 1995):

$$C = 7.12 \cdot A_{660} + 16.8 \cdot A_{642.5} \quad (\text{Ec. 1.6})$$

en la cual C es la concentración total de clorofila (mg L^{-1}) y A_{660} y $A_{642.5}$ son las absorbancias a las correspondientes longitudes de onda. El contenido de clorofila fue informado en base húmeda (mg de clorofila / 100 g de tejido fresco).

2.5.2. Determinación de color

El color se determinó en cada hoja utilizando un colorímetro MINOLTA Serie CR 300 (Osaka, Japón) con 8 mm de diámetro de apertura. El instrumento fue calibrado con un estándar de blanco ($Y = 93.2$, $x = 0.3133$, $y = 0.3192$). El color de la hoja fue medido a través de las coordenadas de cromaticidad L^* , a^* y b^* de la escala CIELab (CIE, 1978). Las mediciones fueron realizadas en 10 puntos diferentes de cada hoja, para obtener un valor promedio para cada una. A continuación se determinó el valor promedio para cada sección de lechuga.

2.6. Calidad organoléptica: Calidad visual general (OVQ)

Cada planta individual fue examinada por 9 jueces, en el rango de edad de 25 a 50 años, todos miembros del Grupo de Investigación en Ingeniería en Alimentos de la Universidad Nacional de Mar del Plata con experiencia en evaluación sensorial de vegetales de hoja y entrenamiento en evaluación de calidad de lechuga (Roura *et al.*, 2008 y 2003; Moreira *et al.*, 2005 y 2003; Pereyra *et al.*, 2005; Ponce *et al.*, 2004). Las evaluaciones fueron llevadas a cabo inmediatamente después de recibir las plantas del invernadero y antes de realizar el análisis físico-químico. Las muestras fueron presentadas para su evaluación de a una a la vez, de manera que los jueces pudieran realizar evaluaciones independientes.

La calidad visual general es un indicador de la primera percepción sensorial por parte del evaluador (o consumidor) y tiene alto impacto en la decisión de compra del vegetal. Este índice fue evaluado en las secciones de la planta de manera independiente, teniendo en cuenta los siguientes descriptores: color de hojas (tonicidad, brillo y uniformidad), textura (grado de marchitamiento), presencia o ausencia de defectos, pardeamiento. Se utilizó una escala de 9 puntos, donde 9 corresponde a una apariencia fresca (color uniforme, sin decoloraciones, sin marchas, sin pardeamiento, sin marchitamientos, sin defectos) y 1 corresponde a una apariencia deteriorada, con decoloración y marchitamiento extremos, presencia de pardeamiento en nervadura y hojas, manchas. El puntaje de 5 corresponde al límite de aceptación a partir del cual el producto es inaceptable y es rechazado (López-Gálvez *et al.*, 1996; Kader *et al.*, 1973).

2.7. Análisis estadístico

Los resultados informados fueron expresados en LSMEANS (estimadores de la media por el método de cuadrados mínimos) acompañados por su correspondiente desviación estándar (Kuehl, 2001; Steel y Torrie, 1992).

Los datos fueron analizados utilizando el software estadístico SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002). Para realizar el análisis de la varianza (ANOVA) se utilizó el procedimiento *General Linear Model* (PROC GLM). El nivel de probabilidad fue fijado en $p < 0.05$. Los factores empleados como fuentes de variación fueron los siguientes: PLANTA y SECCIÓN dentro de la Planta (con tres niveles correspondientes a las secciones: externa, media e interna). Las diferencias entre las secciones de la planta fue analizada con el test de comparación múltiple de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). En aquellos casos en los que se detectaron diferencias con mayor nivel de significancia, el valor p fue informado junto con los resultados. El procedimiento *Univariate* (PROC UNIVARIATE) fue usado para validar los supuestos del ANOVA. Los modelos lineales fueron ajustados utilizando el procedimiento *Regression* (PROC REG).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Calidad fisiológica: Índices de status de agua

La lechuga es un vegetal altamente perecedero cuya calidad y vida útil están limitadas por la deshidratación. Este proceso trae aparejado un descenso en la presión de turgencia en las células así como degradación de la pared celular (Alzamora *et al.*, 2000; Abbot, 1999) lo cual afecta los atributos de calidad tales como textura, turgencia y color, produciendo un detrimento del vegetal durante el almacenamiento post-cosecha. Los índices de status de agua constituyen indicadores importantes que permiten conocer el estado hídrico completo del vegetal.

Para todos los índices de status de agua evaluados, se encontró, mediante los análisis de varianza aplicados, que el factor SECCIÓN fue significativo. Es decir, en la planta de lechuga, no hay uniformidad en los valores de los índices de status de agua, sino por el contrario, los mismos van variando según la posición de la hoja considerada. Para cada uno de estos índices se presenta el perfil de distribución (hoja por hoja) dentro de una planta típica de lechuga (**Figura 1.3**) y además se informan los valores medios encontrados para cada sección de la planta (**Tabla 1.1**). A continuación se detallan los resultados encontrados para cada índice particular.

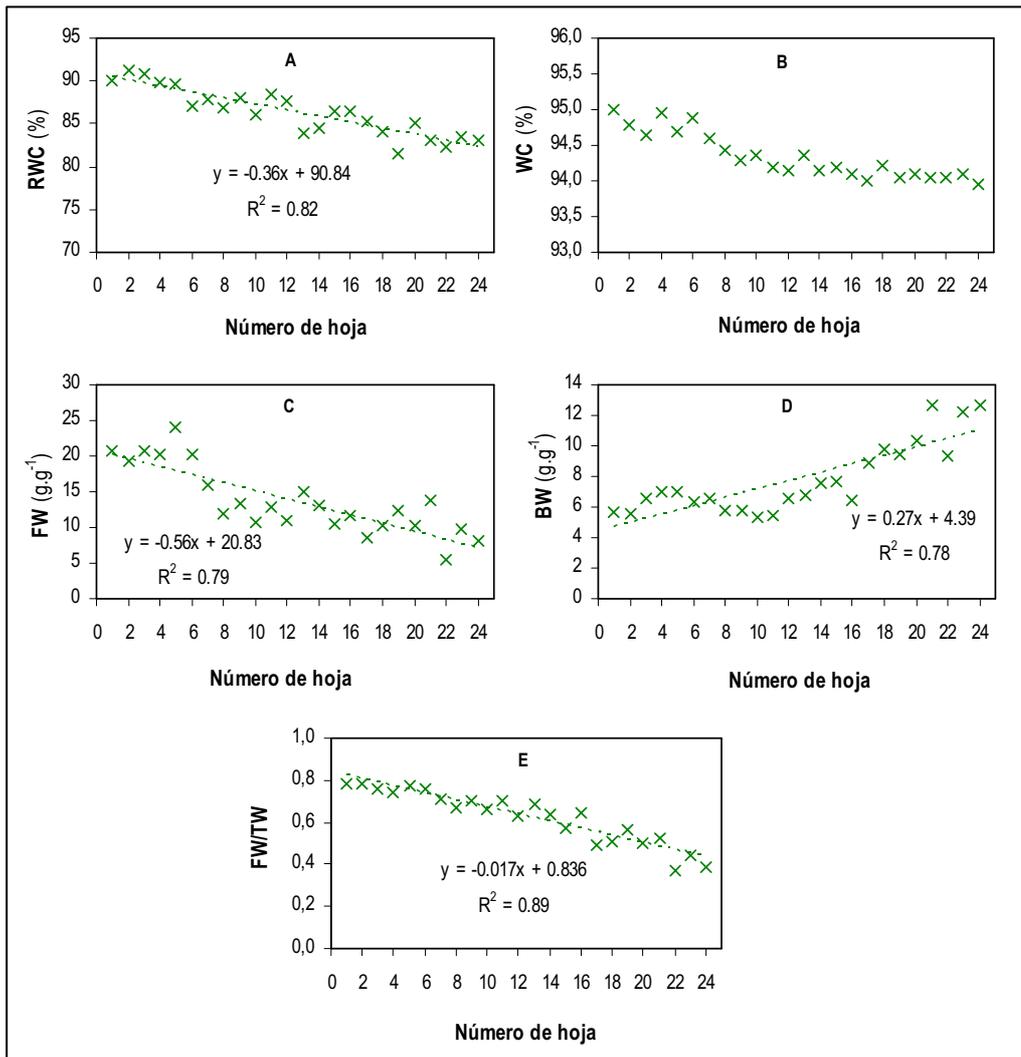


Figura 1.3. Distribución de los índices de status de agua en una planta de lechuga (Hoja N°1: más externa, Hoja N° 24: más interna).

3.1.1 Contenido de agua relativo (RWC)

El contenido de agua relativo (“Relative Water Content” o RWC por sus siglas en inglés) provee información acerca de la cantidad de agua en el tejido en relación a la máxima cantidad que podría tener a saturación completa (Eitel *et al.*, 2006; Yamasaki y Rebello Dillenburg, 1999). Es decir, es un índice que evalúa la cantidad máxima de agua que podría absorber ese tejido vegetal. Para todas las plantas evaluadas, se encontró un gradiente en el RWC dentro de la planta. Como ejemplo, la **Figura 1.3(A)** muestra el perfil de RWC obtenido para una típica cabeza de lechuga recién cosechada. Para esta planta particular mostrada en la figura, las hojas externas presentan valores de RWC de 90 % aproximadamente. A medida que la hoja está ubicada hacia el interior de la planta, los valores de RWC encontrados descienden linealmente, presentando las hojas interiores valores cercanos al 80 %.

Los valores promedios de RWC correspondientes a las secciones de la planta se presentan en la **Tabla 1.1**.

Índice ¹	Sección		
	Externa	Media	Interna
RWC (%)	88.11 ^a ± 1.69	85.93 ^b ± 1.77	83.49 ^c ± 1.46
WC (%)	94.24 ^a ± 0.44	93.23 ^b ± 0.58	92.89 ^b ± 0.99
FW (g.g ⁻¹)	20.13 ^a ± 0.54	12.36 ^b ± 0.46	9.83 ^c ± 0.61
BW (g.g ⁻¹)	7.50 ^a ± 0.44	9.58 ^b ± 0.42	13.47 ^c ± 0.45
FW/TW ²	0.73 ^a ± 0.06	0.56 ^{ab} ± 0.06	0.42 ^b ± 0.06

Tabla 1.1. Valores promedios de los índices de status de agua en cada sección de lechuga.

¹ Para cada índice se informa el valor medio y su desviación estándar.

² La relación FW/TW (agua libre a agua total) es expresada como una fracción.

^{abc} Valores medios con letras diferentes dentro de la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En primer lugar, los valores de RWC encontrados al momento de la cosecha resultaron algo inferiores a los reportados en bibliografía, aunque no hay referencias relativas a lechuga mantecosa, sino a otras variedades. Esparza-Rivera *et al.* (2006), trabajando con hojas de lechuga verde oscura Waldmann's, encontraron al momento de la cosecha valores de RWC del orden de 95 %. Estos valores son mayores a los encontrados para la lechuga mantecosa en el presente estudio. Esta diferencia puede ser atribuida a la variedad de lechuga. Las variaciones en la morfología de los tejidos podrían verse reflejadas en diferencias en la capacidad de almacenar agua de los mismos. Además no se descartan diferencias en el estado inicial de hidratación de la hoja. Generalmente, los valores normales de RWC están en el rango desde 98 % en hojas túrgidas y transpirantes hasta alrededor de 40 % en hojas severamente desecadas (Anónimo, 2009).

En cuanto al impacto del factor SECCIÓN, tal como se anticipó en la presentación general de los resultados de status de agua, se detectaron diferencias significativas en los valores de RWC entre las hojas externas, medias e internas que indican diferente grado de capacidad de mantener agua de estos tejidos. Jones y Tardieu (1998) indicaron que el agua juega un papel clave en la expansión celular y en el crecimiento de los tejidos. Por lo tanto, la edad de las hojas o el grado de desarrollo de las mismas, podría ser responsable de las diferencias encontradas entre las secciones. La sección interna está compuesta por hojas en pleno crecimiento y expansión, mientras que la sección externa está integrada por hojas maduras completamente desarrolladas. Estos tejidos son morfológicamente y fisiológicamente diferentes pudiendo afectar los valores de RWC en cada caso.

3.1.2 Contenido de agua (WC)

El contenido de agua (“Water Content” o WC, por sus siglas en inglés) de un tejido representa la cantidad total de agua que el mismo contiene respecto al peso fresco total (Wrolstad *et al.*, 2005). En vegetales de hoja frescos este índice constituye un indicador útil del balance de agua entre el producto y el ambiente que lo rodea. Las plantas de lechuga recién cosechadas presentaron un gradiente de WC desde valores mayores correspondientes a las hojas más externas hacia valores menores correspondientes a las hojas más internas. En la **Figura 1.3(B)** se muestra un perfil representativo de WC obtenido para una planta de lechuga recién cosechada. Para este caso particular, las hojas externas presentan valores cercanos al 95 %, mientras que las hojas internas presentan valores de alrededor de 93.9 %. Los valores de WC no descendieron linealmente en función de la posición de la hoja dentro de la planta, sino que hubo un descenso entre las hojas de las secciones externa y media. Luego, los valores de WC obtenidos en las secciones media e interna, no difirieron significativamente entre sí (**Tabla 1.1**). Las hojas de la sección externa tuvieron un mayor contenido de agua, coincidentemente con sus valores más altos de RWC demostrando que la parte externa de la planta estuvo bien hidratada al momento de la cosecha. Siomos *et al.* (2002a) también encontraron esta distribución del agua dentro de la planta y asociaron estos resultados a la edad del tejido. Las hojas jóvenes, en pleno crecimiento, presentan mayor contenido de materia seca (menor contenido de agua) y mayor contenido de sólidos en la vacuola debido a la mayor actividad metabólica necesaria para el crecimiento. Las hojas maduras tienen una actividad metabólica de crecimiento menor por lo que la concentración de sólidos y la materia seca de este tejido son menores, resultando en un mayor contenido de agua.

3.1.3 Contenido de agua libre, agua unida y relación agua libre a agua total (FW, BW y FW/TW)

La cuantificación del contenido de agua libre y agua ligada (“Free water” o FW y “Bound Water” o BW, respectivamente) es de especial interés porque permite identificar cuál es la proporción de agua dentro del tejido que está disponible para múltiples propósitos tales como uso en reacciones químicas, crecimiento microbiano, evaporación, entre otros. La **Figura 1.3(C), (D) y (E)** presenta los perfiles de FW, BW y relación agua libre a agua total (FW/TW) obtenidos para una planta de lechuga recién cosechada. Para estos índices también se observó un claro gradiente dentro de la planta: desde las hojas externas hacia las internas hubo una disminución en FW (de 20 a 9 g.g⁻¹, aproximadamente) y FW/TW (de 0.8 a 0.4, aproximadamente), mientras que hubo un aumento en el índice BW (de 5 a 12 g.g⁻¹, aproximadamente). En los tres casos, el ajuste lineal resultó adecuado para describir los perfiles observados para cada índice dentro de la planta en

función de la posición de la hoja. Teniendo en cuenta todas las plantas analizadas, el valor promedio de FW en la sección externa de la planta fue significativamente mayor que el valor encontrado en las otras secciones que también presentaron diferencias significativas entre sí (**Tabla 1.1**). Así, en la sección externa, el FW resultó el doble del encontrado en la sección interna. Para el índice BW, la sección externa presentó valores significativamente menores que la sección media, y esta a su vez resultó menor que la sección interna. En este caso, el valor registrado en la sección externa fue de aproximadamente la mitad del encontrado en la sección interna. Por último, en lo que respecta al índice FW/TW, en la sección externa el valor medio para este indicador fue significativamente mayor que el valor en la sección interna, mientras que no hubo diferencias entre esas secciones y la media.

Del análisis simultáneo de estos tres índices queda claro que las hojas internas presentan mayor proporción de agua unida respecto de agua libre (o de manera equivalente menor proporción de agua libre) en comparación con las hojas externas. Así, la proporción de agua unida a agua total es 0.58 en la sección interna de la planta (complemento del valor de FW/TW) mientras que para la sección externa este parámetro alcanza un valor de 0.27. Esta diferencia entre secciones podría deberse a diferencias anatómicas y metabólicas de los tejidos que caracterizan cada sección. Nuevamente, las hojas internas son hojas en expansión con mayor concentración de sólidos solubles y esto genera mayor unión de agua debida a estos sólidos (Koukounaras *et al.*, 2007; Siomos *et al.*, 2002a).

Los valores de FW/TW podrían tener un papel clave en la vida útil de cada zona de lechuga ya que informan la proporción de agua que podría perderse si la planta estuviera expuesta a condiciones ambientales desfavorables. Así, la sección externa podría perder el 73 % del agua total, mientras que las secciones media e interna podrían perder el 56 % y el 42 %, respectivamente. Estas últimas dos secciones tienen mayor proporción de agua ligada. Este hecho podría tener un impacto directo tanto en la textura de la hoja, como en la aceptabilidad sensorial del producto (Burdon y Clark, 2001).

La determinación del contenido de agua (WC), es sin duda uno de los análisis más sencillos y frecuentes realizados sobre hortalizas frescas, las cuales se componen de más de 90 % de agua. El contenido de agua de los tejidos afecta numerosos índices de calidad tales como la firmeza, la textura, el color, la actividad microbiológica y enzimática, entre otros (Kader 2002a; Isengard, 2001; Alzamora *et al.*, 2000). Por otra parte, este índice tiene implicancias económicas ya que estos productos se venden por peso y el agua es el principal componente de ellos (Jones y Tardieu,

1998). Sin embargo, es evidente que la información que provee este indicador es insuficiente, por sí sola, para conocer el verdadero status del agua dentro del tejido. Los índices RWC, FW, BW y FW/TW, permiten completar la información referida al agua cuantificando la capacidad de mantener agua de los tejidos y la disponibilidad de agua de los mismos. Por lo tanto, la medición completa del status de agua, a través de los índices presentados en este capítulo, es sin duda de interés en la tecnología de alimentos.

3.2. Calidad microbiológica: Recuentos de poblaciones de la microflora nativa.

Las bacterias encontradas en las hortalizas frescas son normalmente las mismas que las encontradas en el ambiente de producción (Zagory, 1999). Debido a que el ambiente en el que crece la lechuga es templado, es esperable que las poblaciones más abundantes de esta hortaliza sean las bacterias mesófilas. En general, la población de microorganismos más abundante en los vegetales verdes es la microflora mesófila (Brackett, 1997; Watada, 1996). El recuento de esta población da una estimación de las poblaciones totales viables y es indicativo tanto de la microflora nativa como de la contaminación que pudo haber sufrido el vegetal (Ponce *et al.*, 2002).

Jacques (1996) informó que el tamaño y la composición de las poblaciones microbianas varían por efecto de factores bióticos y abióticos relacionados con los microorganismos (utilización de recursos nutricionales, habilidades de competencia por el espacio, resistencia, producción de compuestos tóxicos), con los huéspedes (su genotipo, la edad y la composición de las hojas) y con las condiciones ambientales (micro- y macro-clima, actividad de vectores y patógenos, aplicación de pesticidas y otros químicos). A partir de esta aseveración se puede inferir que los recuentos en las diferentes secciones de la planta podrían ser diferentes. De hecho, hay algunos estudios que probaron esta hipótesis. Brandl y Amundson (2008) indicaron que las velocidades de crecimiento de la microflora nativa de lechuga fue dependiente de la edad de la hoja y que las hojas jóvenes pueden estar asociadas con un mayor riesgo de contaminación con *E. coli* O157:H7. Aycicek *et al.* (2006) informaron que las hojas externas de lechuga tenían una mayor carga microbiana que las internas. Por último, King *et al.* (1991) encontraron diferencias significativas en los recuentos iniciales de bacterias mesófilas en lechuga Iceberg en función de la sección de la planta considerada y atribuyeron este resultado a la morfología de la planta: las hojas internas muy protegidas por la estructura cerrada de la cabeza presentó los menores recuentos.

A pesar de lo expuesto, el ANOVA aplicado a los resultados de bacterias mesófilas resultó con el factor SECCIÓN no significativo, indicando que los recuentos de esta población fueron similares en toda la planta de lechuga independientemente de la posición de la hoja dentro de la

misma (**Tabla 1.2**). En consecuencia, el hecho de no encontrar diferencias significativas en los recuentos de bacterias mesófilas podría expresar que los microorganismos encontraron un ambiente pre-cosecha y condiciones nutricionales similares en toda la planta de lechuga. Además, este resultado podría estar indicando que no hubo una contaminación pre-cosecha luego del acogollado, porque si eso hubiera ocurrido, probablemente se encontrarían recuentos más altos en la sección externa de la planta, ya que las hojas más internas estarían protegidas por las hojas medias y externas que se cierran sobre ella.

Población ¹	Sección		
	Externa	Media	Interna
Mesófilas	5.05 ^a ± 0.29	5.56 ^a ± 0.32	5.38 ^a ± 0.32
Ácido-lácticas	4.50 ^a ± 0.27	4.28 ^a ± 0.25	4.15 ^a ± 0.31
Coliformes	4.83 ^a ± 0.31	4.89 ^a ± 0.25	4.83 ^a ± 0.20
Hongos y Levaduras	4.76 ^a ± 0,36	4.19 ^b ± 0.39	4.04 ^b ± 0.28
Psicrófilas	4.82 ^a ± 0.41	3.98 ^b ± 0.36	4.17 ^{ab} ± 0.29

Tabla 1.2. Valores promedios de los recuentos microbiológicos en cada sección de lechuga.

¹ Para cada población se informa el valor medio y su desviación estándar, expresados en Log (UFC/g TF).

^{abc} Valores medios con letras diferentes dentro de la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Similares resultados se encontraron para las poblaciones de bacterias ácido-lácticas (LAB) y coliformes, sin diferencias significativas en los recuentos obtenidos en las diferentes secciones de la planta (**Tabla 1.2**). El rol de las bacterias (LAB) en el mantenimiento de la calidad de vegetales no es claro. Breidt y Fleming (1997) han propuesto que las LAB constituyen agentes de biocontrol en los alimentos refrigerados mínimamente procesados. Las bacterias LAB pueden ejercer efectos antimicrobianos debido a uno o más de los siguientes mecanismos: disminución del pH (Gálvez *et al.*, 2010), generación de peróxido de hidrógeno, competencia de nutrientes y posiblemente por la producción de compuestos antimicrobianos como las bacteriocinas (García *et al.*, 2010; Ponce *et al.*, 2008; Settanni y Corsetti, 2008). Por su parte, las bacterias coliformes, en principio, no serían capaces de colonizar los tejidos vegetales debido a la presencia de la microflora nativa con ventaja competitiva frente a aquellos (Ponce *et al.*, 2002). Sin embargo, los vegetales frescos pueden ser contaminados por contacto con el suelo, agua de irrigación o manipulación inadecuada (Francis *et al.*, 1999; Francis y O'Beirne, 1998; Barriga *et al.*, 1991). Por lo tanto, la presencia de bacterias coliformes constituye un indicador de la higiene en la etapa de producción y el mantenimiento de la cadena de frío.

La sección externa de la planta presentó mayores recuentos de microorganismos psicrófilos y de hongos y levaduras respecto de los recuentos observados en secciones media e interna (**Tabla 1.2**). Sin embargo, a pesar de que estas diferencias detectadas son estadísticamente significativas,

diferencias menores a 1 Log son usualmente consideradas, en el área de microbiología, como no significativas. Los microorganismos psicrófilos representan un grupo importante de microorganismos en los vegetales frescos debido a que, aunque pueden constituir un pequeño porcentaje de la microflora inicial, ellos pueden convertirse en predominantes a las temperaturas de refrigeración recomendadas para el almacenamiento de estos comóditis (ASHRAE, 1994). Los hongos y las levaduras actúan muchas veces como parásitos y otras veces como parásitos latentes, dependiendo de la resistencia de la planta, de la virulencia de la cepa, la microflora competitiva y las condiciones ambientales. Ellos pueden presentar un cambio profundo en la velocidad de crecimiento después de la cosecha, cuando la resistencia de la planta disminuye, dando lugar a un rápido deterioro (Ponce *et al.*, 2002).

3.3. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

Los vegetales constituyen la principal fuente de ácido ascórbico, un nutriente que además de su acción como vitamina, es valorado por sus efectos antioxidantes, estimulación del sistema inmune y otros beneficios a la salud que siguen siendo investigados (Giannakourou y Taoukis, 2003). La lechuga, siendo uno de los vegetales verdes consumidos en mayor medida, es una fuente importante de ácido ascórbico. El nivel de este nutriente es utilizado como un indicador del valor nutritivo del vegetal.

La **Tabla 1.3** presenta los valores medios de contenido de ácido ascórbico reducido (AA) en las lechugas recién cosechadas para cada sección de la planta. El ANOVA aplicado a estos resultados indicó diferencias significativas ($p < 0.01$) en el AA en función de la sección de la planta en consideración.

Índice ¹	Sección		
	Externa	Media	Interna
AA (mg / 100 g TF)	12.45 ^{ab} ± 2.20	13.62 ^a ± 1.95	10.77 ^b ± 1.70
C (mg / 100 g TF)	51.74 ^a ± 1.93	22.13 ^b ± 2.11	10.60 ^c ± 1.76
<i>L</i> ^{*2}	59.13 ^c ± 1.80	65.71 ^b ± 3.38	76.06 ^a ± 2.00
<i>a</i> ^{*2}	-19.73 ^b ± 0.83	-19.25 ^b ± 1.28	-16.30 ^a ± 1.25
<i>b</i> ^{*2}	34.64 ^c ± 0.65	37.26 ^b ± 0.85	40.50 ^a ± 0.78

Tabla 1.3. Valores promedios de los índices de calidad nutricional y fisico-química en cada sección de lechuga.

¹ Para cada índice se informa el valor medio y su desviación estándar.

² Los parámetros *L*^{*}, *a*^{*} y *b*^{*} corresponden a la escala Hunter CIELab.

^{abc} Valores medios con letras diferentes dentro de la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Los valores más altos de AA se registraron en la sección media de la planta. Las hojas pertenecientes a la sección externa mostraron una mayor variabilidad en este índice de calidad.

Esto puede atribuirse a las diferencias en el estado inicial de las plantas. Algunas plantas presentaron una cabeza de lechuga menos acogollada, con hojas más abiertas que posiblemente estuvieron apoyadas en el suelo con mayor exposición a la acción de los microorganismos del suelo, insectos, actividad de larvas, agua de riego que incrementa la humedad superficial y, posiblemente, mayor contacto con metabolitos residuales de agroquímicos. Estos factores, actuando solos o en combinación podrían acelerar la degradación de AA de estas hojas. Respecto de la sección interna, representada principalmente por hojas en vías de desarrollo, el menor contenido de AA que presentó podría atribuirse al menor grado de desarrollo de la hoja y su actividad metabólica. Es conocido que el AA está presente en los tejidos fotosintéticos con el objetivo de ejercer un efecto fotoprotector. En el cloroplasto se lleva a cabo la fotosíntesis generándose oxígeno. Este elemento, en presencia de luz y de transporte de electrones (condiciones dadas en el cloroplasto) genera compuestos tóxicos para la célula tales como el oxígeno singulete, superóxido y peróxido de hidrógeno. El AA, siendo el más abundante antioxidante presente en el cloroplasto (Smirnoff, 2000), neutraliza la acción de estas especies. En este sentido, las hojas externas y medias son las que necesitan una mayor fotoprotección tanto por estar más expuestas a la luz, como por ser las hojas que llevan a cabo la fotosíntesis en mayor medida. Las hojas internas en cambio, son aún ineficientes en este proceso y obtienen el carbono para su crecimiento de las hojas más desarrolladas de la planta y esto podría justificar la mayor concentración de AA en las secciones externa y media de la planta. Siomos *et al.* (2002a) también encontraron menores valores de AA en hojas internas de lechuga mantecosa. Otros autores también informaron para otros cultivos hortícolas diferencias en el contenido de AA entre individuos en diferente estado de madurez (Roura *et al.*, 2001; Lee y Kader, 2000; Audisio *et al.*, 1995).

Por otra parte, la alta variabilidad en el contenido inicial de AA también fue informado por otros autores como Moreira *et al.* (2006; 2005) y Roura *et al.* (2003) que trabajando con cabezas de lechuga Romana encontraron valores de ácido ascórbico en el rango entre 6.0 y 16.6 mg/100 g de tejido fresco. Sin embargo, en esos trabajos los autores utilizaron un pool de hojas de la planta seleccionado al azar para determinar el contenido de AA de la lechuga fresca entera, sin hacer distinción alguna en función del grado de madurez del tejido. Esta metodología pudo haber introducido variabilidad en estos trabajos. Otros autores atribuyen el amplio rango en los valores iniciales de AA a varios factores incluyendo la variedad de lechuga, condiciones climáticas, prácticas de cultivo, madurez al momento de la cosecha, método de cosecha y condiciones de manipulación post-cosecha (Li y Kubota, 2009; Ohashi-Kaneko *et al.*, 2007; Moreira *et al.*, 2006; Lee y Kader, 2000; Kader, 1992).

3.4. Calidad físico-química

3.4.1. Contenido de clorofila

La clorofila es el pigmento vegetal responsable de la captación de energía lumínica para ser convertida luego en energía química en el proceso de la fotosíntesis. Este proceso es llevado a cabo principalmente por las hojas de la planta. En los vegetales de hoja, tales como la lechuga, la clorofila es uno de los compuestos principales que le otorga al tejido el característico color verde (Heaton *et al.*, 1996; Heaton y Marangoni, 1996).

Se encontraron grandes diferencias en el contenido de clorofila en las distintas secciones de la planta, siendo el valor registrado en la sección externa 5 veces mayor que en la interna (**Tabla 1.3**). Por lo tanto, la edad del tejido tiene un impacto significativo en el contenido de clorofila. Durante su desarrollo, a medida que la hoja se expande, muestra un incremento en la tasa fotosintética por unidad de área y esto se debe a que existe un incremento en el número y tamaño de los cloroplastos y en la concentración de clorofila (Di Benedetto, 2005). En la planta de lechuga la sección externa está constituida por hojas maduras, desarrolladas, caracterizadas por un color verde intenso que se relaciona con su alto contenido de clorofila. Por otra parte la sección interna de la planta está constituida por hojas jóvenes en pleno crecimiento caracterizadas por tener un color más pálido, más amarillento relacionado con un bajo contenido de clorofila. El impacto de la edad del tejido sobre la concentración del pigmento de clorofila fue estudiada también en otros vegetales de hoja, encontrándose en general comportamientos similares a los informados en el presente capítulo. Por ejemplo, Lefsrud *et al.* (2007), estudiando la evolución en la concentración de los pigmentos carotenoides y clorofilicos en kale durante la ontogenia de la hoja de esta hortaliza, encontró incrementos en los valores de los pigmentos desde que la hoja se encuentra en los primeros estadios de desarrollo hasta que alcanza la madurez.

El contenido de clorofila varía ampliamente con la variedad de vegetal bajo consideración. Así, la lechuga mantecosa tiene menores concentraciones de clorofila que las variedades criolla y romana que se caracterizan por un color más oscuro en sus hojas (Garbi, 2009). Adicionalmente, las variables pre-cosecha tales como intensidad y calidad de la luz durante el crecimiento de la planta, temperaturas medias, duración del día, entre otros (Hodges y Toivonen, 2008) constituyen una importante fuente de variabilidad.

3.4.2. Determinación de Color

El color es un atributo sensorial importante y un factor crítico que afecta la calidad (Rico *et al.*, 2008). Varios sistemas de color se han desarrollado para la medición colorimétrica, siendo todos

ellos matemáticamente convertibles. Sin embargo, el espacio de color de CIE- $L^*a^*b^*$ fue seleccionado en base a su adecuación documentada para cuantificar teóricamente los cambios de color en los vegetales verdes (Gnanasekharan *et al.*, 1992).

La edad de la hoja afectó significativamente los tres índices de color: L^* , a^* y b^* (**Tabla 1.3**). Se observaron diferencias significativas en los valores de L^* siendo el mayor valor observado en la sección interna y disminuyendo hacia el exterior. El parámetro a^* (verde/rojo) resultó negativo en las tres secciones indicando el predominio del color verde en el producto. Las hojas de las secciones externa y media presentaron los valores más negativos (mayores en valor absoluto), sin diferencias significativas entre ellos. El color verde de las hojas interiores es menos intenso reflejándose este hecho en el menor valor absoluto del parámetro a^* . En cuanto al parámetro b^* (azul/amarillo) todas las secciones de la planta presentaron valores positivos indicando el predominio de color amarillo en esa escala. También se encontraron diferencias significativas entre las tres secciones siendo mayor (más amarillo) en las hojas interiores que en medias y externas. Los valores encontrados para los parámetros de color en lechuga mantecosa recién cosechada están en el rango de los valores informados en bibliografía actualizada (**Tabla 1.4**).

Referencia	Variedad de Lechuga	Parámetro de Color ¹		
		L^*	a^*	b^*
Mónaco <i>et al.</i> (2005)	Mantecosa	57 – 59	-19 to -18	s/v ²
Ihl <i>et al.</i> (2003)	Iceberg	60	-8	19
Martínez-Romero <i>et al.</i> (2008)	Iceberg	55	-14	41
Rico <i>et al.</i> (2008)	Iceberg	68	-4	23
Han <i>et al.</i> (2004)	Romana	44.70 ± 6.55	s/v ²	s/v ²
del Nobile <i>et al.</i> (2006)	Romana (Hojas verdes)	34.5 ± 2.6	-9.4 ± 2.2	s/v ²
	Romana (Hojas blancas)	43.6 ± 5.2	-11.9 ± 1.1	12.8 ± 3.3

Tabla 1.4. Parámetros de color informados para lechuga fresca en bibliografía.

¹ Los datos son informados tal como se presentan en las referencias mencionadas.

² s/v (sin valores): estos valores no son informados en la publicación original.

3.5. Calidad organoléptica

En la lechuga fresca recién cosechada, cada sección presenta características organolépticas típicas y están principalmente diferenciadas por el tamaño, el color y la textura de la hoja. Así, las hojas de la sección externa se caracterizan por presentar un color verde claro uniforme desde la base hasta el ápice, superficie lisa sin ondulaciones y tamaño grande (150 cm² aproximadamente). En el otro extremo, las hojas de la sección interna son de color amarillo claro, casi blanco desde la base pudiendo presentar el ápice un color verdoso claro, de superficie ondulada y con una superficie proyectada mucho menor (50 cm²). Las hojas de la sección media presentan características intermedias con una coloración casi blanca en la base y una coloración verde (más parecida a las hojas de la sección externa) en el ápice. En todos los casos, las hojas

evaluadas no presentaron pardeamiento, ni manchas, ni defectos ni marchitamientos (Anexo II, **Figura A.3**). Cada sección, con sus características organolépticas particulares, fue evaluada de manera independiente por los jueces del panel, sin hacer comparaciones entre secciones. Aunque las secciones presentaron atributos sensoriales diferentes entre sí, las tres fueron consideradas en su puntaje máximo (9), por presentar las características de fresca descriptas.

4. CONCLUSIONES

La caracterización inicial de lechuga mantecosa permitió establecer la existencia, en la mayoría de los índices, de un gradiente en función de la posición de la hoja dentro de la planta. La zonificación realizada para evaluar los índices de calidad permitió identificar este factor como una fuente de variación para los índices evaluados. La sección externa, presentó mayores valores en los índices de agua RWC, WC, FW y relación FW/TW respecto de las secciones media e interna. También se encontraron diferencias en el contenido de AA y de clorofila en función del grado de desarrollo de la hoja. No se detectaron diferencias en los recuentos de bacterias mesófilas, coliformes y ácido-lácticas en función de la edad de la hoja, pero la sección externa presentó recuentos de psicrófilas y hongos y levaduras más elevado. Los valores de los índices L^* , a^* y b^* disminuyeron en función del grado de desarrollo de la hoja.

El factor utilizado como fuente de variación (SECCIÓN) está relacionado con dos eventos que suceden simultáneamente y están íntimamente relacionados. Ellos son: a) la edad del tejido (las hojas de la sección interna son las más jóvenes y las de la sección externa son las más maduras y desarrolladas) y b) el grado de exposición del tejido a los factores ambientales (las hojas internas son las más protegidas y las hojas externas son las más expuestas al ambiente).

Las prácticas de prolijado, ampliamente difundidas entre productores y comerciantes, generan descartes de hojas de la sección externa, en primer lugar, y de la sección media a continuación. Estos descartes no solo implican pérdidas de peso fresco de producto, que conllevan a pérdidas económicas, sino también pérdidas de calidad nutricional ya que éstas son las hojas de la planta con mayor contenido de ácido ascórbico. Por otra parte, las hojas externas podrían funcionar como capas protectoras de las hojas medias e internas principalmente contra la pérdida de agua.

CAPÍTULO II

INFLUENCIA DEL MÉTODO DE CULTIVO SOBRE LA CALIDAD DE LECHUGA MANTECOSA

Esquema conceptual

Índices evaluados:

- Contenido de agua relativo (RWC)
- Contenido de agua (WC)
- Contenido de agua libre (FW)
- Contenido de agua unida (BW)
- Relación agua libre a agua total (FW/TW)
- Contenido de ácido ascórbico (AA)
- Contenido de clorofila (C)
- Color (L^* , a^* , b^*)
- Recuentos de poblaciones microbianas (Log (UFC/gTF))
- Calidad visual global (OVQ)

Seguimiento

- Todos los índices: en el momento de la cosecha realizada en madurez óptima.
- Recuentos de poblaciones microbianas y calidad organoléptica: durante el almacenamiento de 20 días en condiciones óptimas recomendadas para lechuga (0-2 °C, 97-99 %HR).

Modelo

- Se evaluaron plantas cultivadas bajo dos métodos de cultivo: suelo cubierto con cobertura plástica (sistema mulch) y suelo descubierto.
- Todos los índices se evaluaron en cada sección de la planta.
- Se utilizaron modelos de Gompertz y Logístico para describir la evolución de las poblaciones microbianas a lo largo del almacenamiento.

CAPÍTULO II:

INFLUENCIA DEL MÉTODO DE CULTIVO SOBRE LA CALIDAD DE LECHUGA MANTECOSA.

1. INTRODUCCIÓN

En décadas pasadas las investigaciones relacionadas con la producción primaria de vegetales se han ocupado principalmente del incremento de los rendimientos, limitando el estudio de la calidad a las etapas posteriores a la cosecha del producto (Gaviola, 1996). Desde hace unos años, se observa a nivel mundial una tendencia a integrar las áreas de pre- y post-cosecha, mediante el análisis de los efectos de diversos factores pre-cosecha sobre la calidad de los vegetales tanto al momento de la cosecha como durante el almacenamiento post-cosecha. En los últimos años, la literatura hortícola se ha ido enriqueciendo con numerosas investigaciones que describen el impacto de los factores pre-cosecha sobre la calidad post-cosecha de diversas frutas y vegetales. Así, las características genéticas propias del material, las condiciones medioambientales durante el crecimiento (estación, cantidad y calidad de la luz, temperatura, humedad relativa, etc.), las características edafológicas, el manejo del cultivo (uso de almácigos y trasplante, densidad de siembra, uso de fertilizantes, riego, rotación de cultivos, prácticas de manejo de plagas y enfermedades, uso de reguladores de crecimiento, etc.) son algunos de los factores que han sido estudiados para varios tipos de hortalizas (Chiesa, 2010; Daiss *et al.*, 2008; Hewett, 2006; Lin y Hall, 2003; Siomos *et al.*, 2002a; Kays, 1999; Mattheis y Fellman, 1999; Sams, 1999; Varoquaux *et al.*, 1996; Lester *et al.*, 1994).

Uno de los factores pre-cosecha de mayor interés para lechuga mantecosa, es el método de cultivo empleado durante su producción. Esto se debe a que coexisten diversos métodos de cultivo en la misma región geográfica. Por ejemplo, en los cinturones hortícolas de la provincia de Buenos Aires, la producción de lechuga de invernadero es llevada a cabo bajo dos sistemas diferentes:

cultivo sobre suelo descubierto (tierra) y cultivo utilizando coberturas plásticas sobre el suelo (“mulch” o “mulching”). Las investigaciones acerca del uso de mulch plástico han sido principalmente orientadas al estudio de los cambios que se producen en las propiedades del suelo (humedad, temperatura, aireación, biomasa microbiana, aislamiento, disponibilidad de nutrientes, etc.) por efecto de la aplicación del plástico sobre la superficie y cómo repercuten estas variables en la producción de biomasa o rendimiento. Este sistema es considerado como un procedimiento agrotecnológico que puede modificar significativamente el microclima alrededor de la planta con numerosas y beneficiosas consecuencias sobre el cultivo (Fischer-Arndt *et al.*, 2010; Anikwe *et al.*, 2007; Lamont, 1999; Muller, 1991; Liakatas *et al.*, 1986). Li *et al.* (2001) demostraron que el uso de mulch plástico inhibe la evaporación de agua del suelo, permitiendo una mayor eficiencia en el uso de agua y en la producción de materia seca por parte de la hortaliza en crecimiento. Varios estudios han demostrado rendimientos más altos en muchos cultivos debido al uso de películas plásticas (Siwek *et al.*, 2007; Moniruzzaman, 2006; Ngouajio *et al.*, 2003; Fontanetti Verdial *et al.*, 2001; Guo y Gu, 2000; Liu, 2000; Wang y Gao, 1998). Sin embargo, para el cultivo de lechuga mantecosa, el efecto del uso de coberturas plásticas sobre la calidad inicial de esta hortaliza ha sido escasamente investigado. Wojciechowska *et al.* (2007) estudió el efecto del uso de mulch sobre la calidad de lechuga mantecosa variedad “Melodion” y encontró que las plantas cultivadas sobre mulch presentaron menores contenidos de ácido ascórbico, azúcares solubles, iones amonio, aminoácidos libres, materia seca y nitratos en comparación con las plantas control (cultivadas sobre suelo descubierto); mientras que Siwek *et al.* (2007), utilizando el mismo diseño experimental, demostraron mayores rendimientos en lechuga cultivada utilizando mulch que asociaron a mayores temperaturas de suelo para esta situación.

El incremento en la humedad del suelo y en la temperatura, cambian las características biológicas incrementando la biomasa microbiana del suelo, el ciclo de nutrientes y proveyendo un micro-ambiente en el suelo más estable para el crecimiento de los microorganismos (Li *et al.*, 2004). En el caso de productos frescos, los hechos que ocurren en la fase de pre-cosecha del cultivo pueden afectar la calidad bacteriológica y la seguridad final del producto (Brackett, 1999). De lo expuesto se deduce que para asegurar la estabilidad microbiana y la seguridad de los vegetales frescos es esencial considerar la microbiología de la hortaliza durante su cultivo y cosecha así como también los cambios potenciales durante el almacenamiento.

Es importante reconocer que el éxito de cualquier procedimiento hortícola depende no sólo de los altos rendimientos, de la adecuada calidad general y seguridad sanitaria del producto sino también de la aceptabilidad sensorial del mismo por parte del consumidor porque, en definitiva, el

éxito del producto estará dado por la venta del mismo y el incremento en la demanda del consumidor que ha quedado satisfecho (Hewett, 2006). Muchas de las investigaciones que han evaluado el impacto de las prácticas hortícolas sobre la calidad de hortalizas se han enfocado en el análisis químico de los componentes del producto, que se relacionan indirectamente con las características sensoriales del mismo. Sin embargo, el análisis organoléptico usualmente no es llevado a cabo en estas investigaciones (Mattheis y Fellman, 1999).

Se propusieron los siguientes objetivos para el presente capítulo:

- Evaluar el efecto de la técnica de cultivo sobre los indicadores de calidad de la lechuga mantecosa.
- Evaluar el efecto de la técnica de cultivo sobre la microflora nativa y el comportamiento de la misma durante un almacenamiento refrigerado.
- Evaluar el efecto de la técnica de cultivo sobre la evolución de la calidad organoléptica del producto durante un almacenamiento refrigerado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico y preparación de muestras

Las plantas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* var. Lores) fueron cultivadas en dos invernaderos de la zona de Sierra de los Padres, Mar del Plata, Argentina. En cada uno de ellos se utilizó un método de cultivo diferente (Anexo II, **Figura A.4**): cultivo sobre tierra (tradicional) y cultivo sobre cobertura plástica negra (mulch) que separa las plantas del suelo. En ambas quintas se cultivó la misma variedad de lechuga. La cercanía geográfica de ambas quintas aseguró que las condiciones medioambientales y edáficas fueron similares y no constituyeron una fuente de variación adicional. Además el manejo del cultivo (régimen de irrigación) también fue similar. A continuación detallo los registros medioambientales y régimen hídrico utilizado: *luz*: 800 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de flujo de luz fotosintética máximo; *temperatura*: 12-18 °C; *riego*: 60-70 L $\cdot\text{ha}^{-1}$ con 1.5-2 Kg $\cdot\text{cm}^{-2}$ de presión.

Las lechugas fueron cosechadas cuando alcanzaron un tamaño comercializable (24-30 hojas por cabeza). El traslado al laboratorio se realizó dentro de la primera hora post-cosecha. Una vez en el laboratorio, se procedió a realizar la caracterización de la calidad inicial. Para cada índice de calidad evaluado se analizaron tres plantas enteras. Cada índice fue medido en cada una de las tres secciones de la planta: externa, media e interna.

2.2. Índices de Calidad al momento de la cosecha

El status de agua en la lechuga fue determinado a través de los siguientes índices: contenido de agua (WC), contenido de agua relativo (RWC), agua libre (FW), agua unida (BW) y la relación entre agua libre y agua total (FW/TW). Los índices del status de agua fueron calculados para todas las hojas de la planta, registrando además la sección a la que pertenecía la hoja (externa, media o interna). Los valores obtenidos en las hojas correspondientes a cada sección fueron utilizados para calcular el valor promedio del índice en la sección. La calidad microbiológica fue evaluada caracterizando la microflora nativa encontrada en lechugas provenientes de cada método de cultivo. Se realizaron los recuentos de bacterias mesófilas, coliformes, ácido-lácticas, hongos y levaduras y psicrófilas. La calidad nutricional se evaluó a través del contenido de ácido ascórbico. La calidad físico-química de las plantas se analizó mediante el contenido de clorofila y los índices de color L^* , a^* y b^* . La calidad organoléptica se evaluó a través del índice OVQ.

La descripción detallada de la metodología utilizada para la determinación de cada uno de los índices fue previamente descrita en el Capítulo I, bajo Materiales y Métodos (inciso 2.2).

2.3. Almacenamiento refrigerado

Con el objetivo de evaluar la evolución de las poblaciones microbianas y calidad organoléptica, las plantas de lechuga fueron colocadas en bolsas de polietileno (con una permeabilidad al O_2 de $600 \text{ cm}^3/\text{m}^2/\text{d}$, al CO_2 $4000 \text{ cm}^3/\text{m}^2/\text{d}$, y al vapor de agua $4 \text{ g}/\text{m}^2/\text{d}$), colocando dos plantas por bolsa ($28 \times 55 \text{ cm}$, volumen útil: 4 L). Las bolsas fueron termoselladas y almacenadas en cámaras refrigeradas a $0-2 \text{ }^\circ\text{C}$. Este almacenamiento permitió lograr condiciones óptimas recomendadas para lechuga ($0-2 \text{ }^\circ\text{C}$ y $97-99 \text{ \%HR}$). Bajo estas condiciones, la velocidad de respiración, la producción de etileno y otros cambios fisiológicos fueron minimizados (Rinaldi *et al.*, 2010; Kader, 2002b). A tiempos 2, 5, 8, 12 y 19 días, cuatro bolsas de cada condición de cultivo fueron utilizadas para llevar a cabo los análisis microbiológicos y de calidad organoléptica. Dos bolsas fueron utilizadas para llevar a cabo el análisis de la calidad microbiológica siguiendo la metodología descrita en el Capítulo I, bajo Materiales y Métodos (inciso 2.3). Las otras dos bolsas fueron utilizadas para el análisis organoléptico. Las evaluaciones fueron llevadas a cabo inmediatamente después de retirar las plantas de las condiciones de almacenamiento, siguiendo la metodología descrita en el Capítulo I, bajo Materiales y Métodos (inciso 2.6).

Se llevaron a cabo tres corridas experimentales independientes que se continuaron hasta el día 19 de almacenamiento. El final del almacenamiento se definió utilizando un criterio sensorial cuando las muestras presentaron evidencia de senescencia avanzada (analizando parámetros de

color de hoja, brillo, textura, marchitamiento, decaimiento microbiano y pardeamiento en los bordes de las hojas y en las nervaduras de cada sección de la lechuga).

2.4. Análisis estadístico

Los resultados son informados como valores LSMEAN junto con sus desviaciones estándar (Kuehl, 2001; Steel y Torrie, 1992).

Los datos fueron analizados utilizando el software estadístico SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002). Se utilizaron dos modelos estadísticos para el análisis de los resultados. Para la comparación de la calidad inicial de lechuga cultivada bajo diferentes métodos de cultivo, se realizó el ANOVA con el PROC GLM, con un nivel de probabilidad fijado en $p < 0.05$ y con los siguientes factores como fuentes de variabilidad: MÉTODO, SECCIÓN y MÉTODO*SECCIÓN. Por otra parte, para el análisis de la evolución de la microflora nativa y de la calidad organoléptica en lechugas cultivadas bajo diferentes métodos durante el almacenamiento refrigerado, se utilizó el PROC GLM pero con los factores: MÉTODO, TIEMPO, SECCIÓN, las correspondientes interacciones dobles (MÉTODO*TIEMPO, MÉTODO*SECCIÓN, SECCIÓN*TIEMPO) y la interacción triple (MÉTODO*TIEMPO*SECCIÓN). Las diferencias entre métodos, tiempos y secciones fue determinada con el test de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). En aquellos casos en los que se detectaron diferencias con mayor nivel de significancia, el valor p fue informado junto con los resultados. El PROC UNIVARIATE fue usado para validar los supuestos del ANOVA.

Los modelos lineales fueron ajustados utilizando PROC REG. La comparación de los modelos lineales se llevó a cabo mediante el uso de variables dummy que permitieron la evaluación de la probabilidad de paralelismo (pendientes iguales) y/o coincidencia (rectas iguales) entre los modelos lineales ajustados para las diferentes secciones de la planta (Kuehl, 2001). Este análisis se llevó a cabo utilizando los tests de comparaciones múltiples del PROC REG.

Los análisis de correlación entre los índices de calidad microbiológica y la calidad organoléptica a lo largo del almacenamiento, se llevaron a cabo a través de la evaluación de los coeficientes de Pearson, obtenidos con el procedimiento *Correlation* (PROC CORR). Las correlaciones con $p < 0.05$ fueron consideradas estadísticamente significativas.

2.5. Modelado del crecimiento microbiano

Dos de los modelos recomendados para describir el crecimiento de microorganismos son la ecuación de Gompertz modificada (Gibson y Roberts, 1989) y el modelo Logístico (curva simétrica).

La expresión matemática para el modelo de Gompertz modificado está dada por la *Ecuación 2.1*:

$$\log N = \log N_0 + a \cdot \exp(-\exp(-b \cdot (t - m))) \quad (\text{Ec. 2.1})$$

donde $\log N$ es el logaritmo decimal de los recuentos microbianos (Log(UFC/g)) en el tiempo t (días); $\log N_0$ es el logaritmo decimal del recuento microbiano inicial (Log(UFC/g)); a es el incremento en la cantidad de ciclos logarítmicos a medida que el tiempo se incrementa indefinidamente; b es la velocidad relativa de crecimiento máxima en el tiempo m (día⁻¹); m es el tiempo requerido para alcanzar la velocidad máxima de crecimiento (días).

El modelo Logístico también fue aplicado de acuerdo a la siguiente expresión (*Ecuación 2.2*):

$$\log N = \log N_0 + \frac{a}{1 + \exp(d - c \cdot t)} \quad (\text{Ec. 2.2})$$

donde $\log N$, $\log N_0$, a y t tienen el mismo significado que en el modelo anterior, d es un parámetro adimensional, c es la velocidad de crecimiento relativa en la mitad del tiempo de la fase exponencial (expresada en día⁻¹).

Ambos modelos fueron aplicados en aquellas situaciones en las cuales se detectó crecimiento microbiano durante el almacenamiento refrigerado.

Para comparar el desempeño de cada modelo, se calculó el coeficiente de regresión (R^2). Adicionalmente, el ajuste de los modelos fue evaluado gráficamente mediante la comparación entre los valores predichos por ambos modelos y los valores experimentales.

Los ajustes de las regresiones no lineales (modelo logístico y de Gompertz) fueron realizados utilizando el software STATISTICA 7.1 (StatSoft Inc., 2005).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Efecto del método de cultivo sobre la calidad inicial del producto

3.1.1. Calidad fisiológica: Índices de status de agua

La **Figura 2.1** presenta los resultados obtenidos para los índices de status de agua analizados en las secciones de la planta para lechuga cultivada en tierra y en mulch.

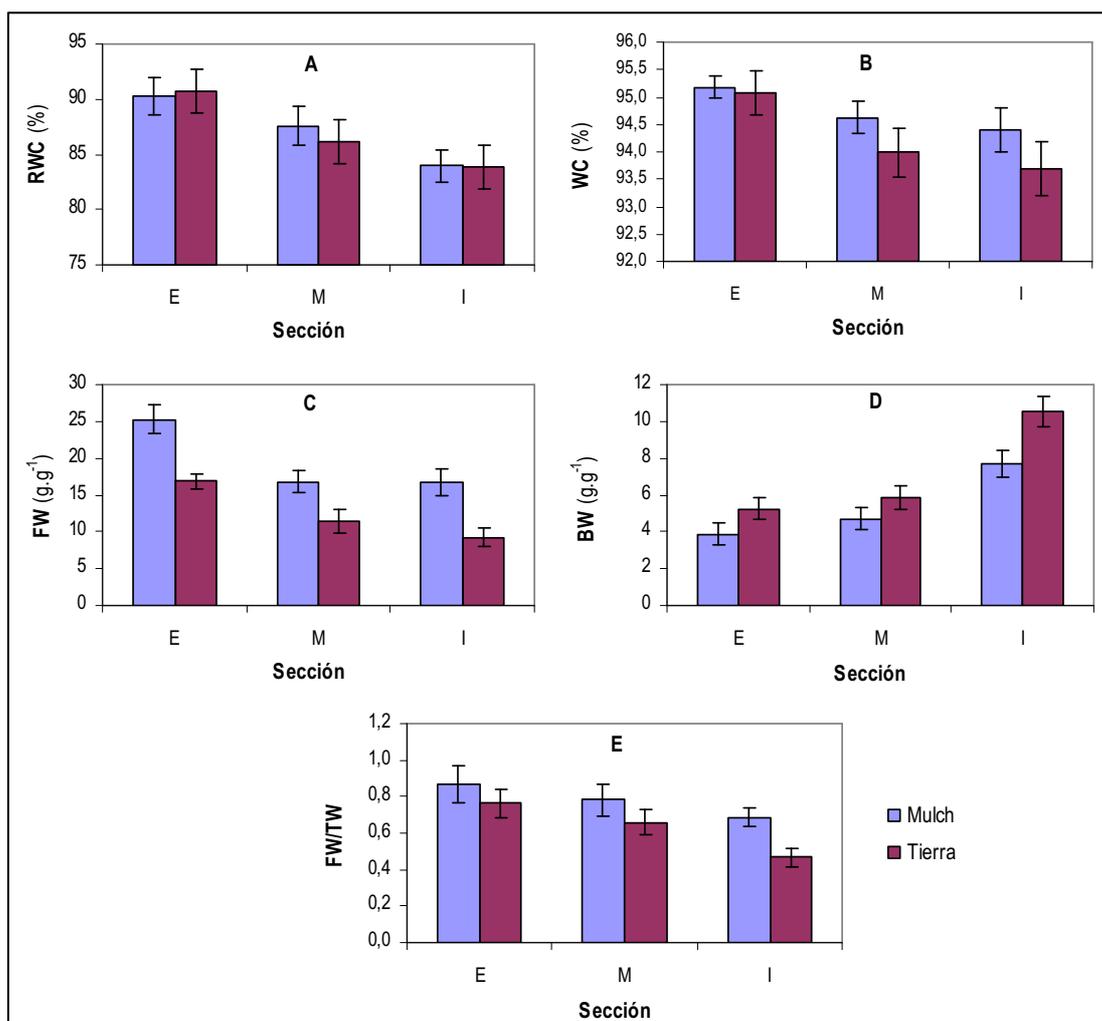


Figura 2.1. Índices de status de agua en las secciones de lechuga cultivada en tierra o en mulch. (A): Contenido de agua relativo; (B) Contenido de agua; (C) Contenido de agua libre; (D) Contenido de agua unida; (E) Relación agua libre a agua total.

Los valores medios obtenidos para RWC se presentan en la **Figura 2.1(A)**. El modelo estadístico aplicado a los resultados de este índice indicó que la interacción MÉTODO*SECCIÓN no fue significativa, es decir el perfil de RWC dentro de la planta fue similar para plantas cultivadas bajo diferentes métodos. Más aún, el factor MÉTODO tampoco resultó significativo, indicando que este factor no introdujo cambios en el parámetro de interés, es decir, que no se detectaron diferencias significativas en función del método de cultivo empleado. Sin embargo, el factor SECCIÓN, resultó significativo, indicando que el valor de RWC fue diferente según la sección de la planta considerada. Para plantas cultivadas ya sea utilizando el sistema mulch o bien sobre suelo descubierto, los mayores valores de RWC se observan para las hojas de la sección externa y van disminuyendo hacia el interior de la planta, tal como se describió en el Capítulo I.

Los valores medios obtenidos para WC se presentan en la **Figura 2.1(B)**. De manera equivalente a los resultados de RWC, el modelo estadístico aplicado a los resultados de WC indicó que la interacción MÉTODO*SECCIÓN no fue significativa: la distribución del índice dentro de la planta fue similar en plantas provenientes de diferentes sistemas de cultivo. Más aún, como en el caso del RWC, el factor MÉTODO tampoco resultó significativo, indicando que no hubo diferencias significativas en el contenido de agua en función del método de cultivo. En cambio, el factor SECCIÓN, sí impactó significativamente sobre el índice WC, indicando un perfil de distribución desde valores altos en hojas externas hacia valores menores en internas. El análisis de ambos factores, método de cultivo y sección de la planta, indica que plantas provenientes de diferentes métodos de cultivo presentan perfiles de WC dentro de la planta similares (sin diferencias significativas).

Los análisis realizados en el Capítulo I sobre la distribución del contenido de agua y del contenido de agua relativo dentro de plantas de lechuga cultivadas sobre tierra son válidos también para lechuga cultivada sobre mulch: el grado de desarrollo del tejido podría ser el responsable de las diferencias encontradas en estos índices para distintas secciones de la planta. Por otra parte, en cuanto al factor MÉTODO, los resultados demuestran que a pesar de que el uso de mulching mejora el manejo del agua en el suelo evitando la evaporación de la misma (Li *et al.*, 2004; Muller, 1991; Liakatas *et al.*, 1986), este método no altera la capacidad de retención relativa de agua del tejido vegetal ni el contenido total de agua en la planta.

A diferencia de lo encontrado para RWC y WC, los modelos estadísticos para los índices FW, BW y FW/TW presentaron interacciones significativas entre los factores MÉTODO y SECCIÓN. Es decir, que la distribución del índice dentro de la planta fue particular para cada método de cultivo. Así, el agua libre de la lechuga mulch fue superior al encontrado en lechuga proveniente de tierra (**Figura 2.1(C)**), sin diferencias entre las secciones media e interna, mientras que para la lechuga de tierra, el valor de FW en la sección interna fue menor que en media. En el caso del agua ligada, los valores registrados en las lechugas cultivadas en el sistema mulch fueron inferiores a los obtenidos en la lechuga de tierra con mayores diferencias ubicadas en la sección interna de la planta (**Figura 2.1(D)**). Finalmente, la relación FW/TW registrada en todas las secciones fue superior en las plantas cultivadas en mulch, encontrándose las mayores diferencias en la sección interna (**Figura 2.1(E)**). Del análisis simultáneo de estos tres índices se puede decir que, para ambos métodos de cultivo, las hojas internas presentan mayor proporción de agua unida respecto de agua libre (o de manera equivalente menor proporción de agua libre) en comparación con las hojas externas. Así, para la lechuga de mulch la proporción de agua unida a agua total es 0.42 (ya que la FW/TW es 0.58) y

para la lechuga de tierra 0.53, mientras que las hojas externas alcanzan valores de 0.13 y 0.24, respectivamente. Esta diferencia entre secciones, tal como se analizó en el Capítulo I, se atribuye a diferencias anatómicas y metabólicas de los tejidos que caracterizan cada sección: las hojas internas son hojas en expansión con mayor concentración de sólidos solubles que generan mayor unión de agua (Siomos *et al.*, 2002a). Por otra parte, la diferencia encontrada entre los métodos de cultivo en cuanto a la forma en que se presenta el agua en cada sección, puede atribuirse a que cuando la lechuga se cultiva en tierra, la planta ligaría más agua en respuesta a un ambiente que no es tan equilibrado en cuanto a la disponibilidad de la misma. Por el contrario, cuando se utiliza la tecnología mulch, el suministro de agua es más constante y el tejido, en respuesta, ligaría menos agua.

3.1.2. Calidad microbiológica: Recuentos de poblaciones de la microflora nativa

La **Figura 2.2** presenta los valores medios de los recuentos de las poblaciones microbianas en las tres secciones de lechuga cultivada bajo los sistemas mulch y tierra.

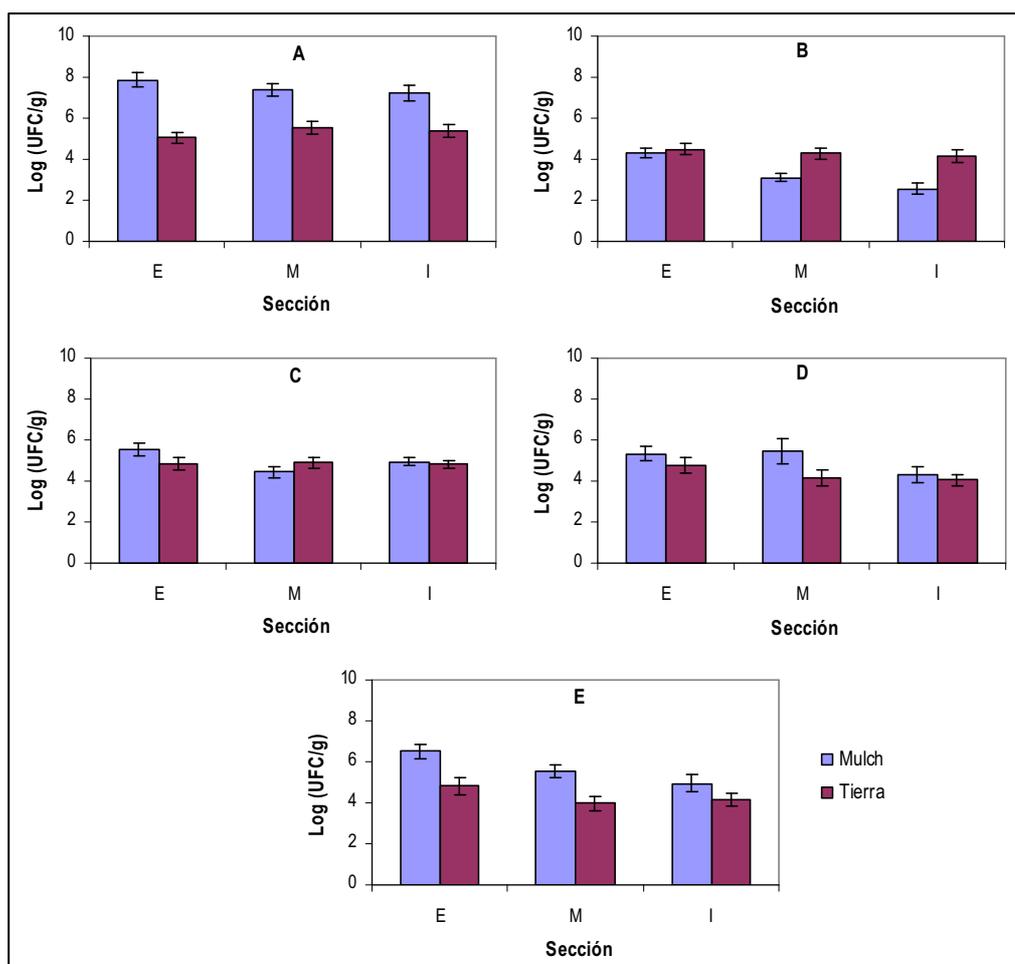


Figura 2.2. Poblaciones microbianas en secciones de lechuga cultivada en tierra o en mulch: (A) Mesófilas, (B) Ácido-lácticas, (C) Coliformes, (D) Hongos y levaduras, (E) Psicrófilas.

Los recuentos de bacterias mesófilas, indicadoras de la calidad higiénico-sanitaria, se muestran en la **Figura 2.2(A)**. El modelo estadístico indicó que no hubo interacción significativa entre los factores del análisis (MÉTODO*SECCIÓN). Esto implica que la distribución de las bacterias mesófilas en la planta de lechuga fue similar para lechugas cultivadas bajo diferentes métodos. El factor SECCIÓN del modelo tampoco resultó significativo indicando que los recuentos no difirieron entre las distintas secciones dentro de la planta, es decir que la posición de la hoja no tuvo efecto sobre los recuentos de las bacterias mesófilas. Sin embargo, el factor MÉTODO resultó significativo y esto se reflejó en las diferencias encontradas en los recuentos de plantas provenientes de diferentes métodos: en la lechuga cultivada en mulch los recuentos resultaron significativamente mayores (entre 1.9 y 2.8 Log) que en la lechuga de tierra.

Los recuentos de bacterias ácido-lácticas (LAB) se muestran en la **Figura 2.2(B)**. El modelo estadístico para este caso presentó una interacción significativa entre los factores del análisis y esto se reflejó en que los recuentos en las tres secciones de lechuga de tierra fueron similares mientras que para la lechuga mulch, los recuentos fueron disminuyendo significativamente a medida que se avanza hacia las hojas internas. Los recuentos de bacterias LAB fueron los únicos que resultaron menores en las lechugas cultivadas en mulch respecto de tierra. Las mayores diferencias entre métodos de cultivo se detectaron en las secciones interna (1.5 Log) y media (1.2 Log), mientras que los recuentos en la sección externa no variaron en función del método de cultivo.

Los recuentos de bacterias coliformes se muestran en la **Figura 2.2(C)**. El modelo estadístico aplicado a esta población microbiana indicó interacción significativa que se manifestó en el siguiente sentido: mientras que para la lechuga cultivada en tierra no se detectaron diferencias en los recuentos de coliformes entre las distintas secciones de la planta, para la lechuga cultivada en mulch los recuentos en hojas externas fueron significativamente mayores que los detectados en las hojas internas. Comparando secciones iguales de lechugas cultivadas bajo diferente método, no se detectaron diferencias significativas en los recuentos de bacterias coliformes entre las secciones media e interna de lechugas de diferentes métodos de cultivo. Sin embargo, en la sección externa los recuentos encontrados en la lechuga de mulch fueron significativamente mayores que en lechuga de tierra.

En el caso de los recuentos de hongos y levaduras (**Figura 2.2(D)**), el modelo estadístico también mostró interacción entre los factores del análisis que se manifiesta principalmente en la sección media de la planta: para la planta cultivada en mulch, los recuentos en esta sección no difieren significativamente de los de sección externa y ambos son mayores que en la sección interna; para la planta cultivada en tierra, en cambio, los recuentos en esta sección no difieren

significativamente de la interna siendo ambos menores que en sección externa. También se puede decir, a partir de los resultados encontrados, que los recuentos encontrados en la lechuga mulch fueron levemente superiores que los de tierra, con una mayor diferencia entre ellos en la sección media de la planta.

Finalmente, para las bacterias psicrófilas (**Figura 2.2(E)**), también se observa una distribución por secciones diferencial en función del tipo de método de cultivo empleado (interacción). Para la lechuga cultivada utilizando mulch se detectaron diferencias significativas entre las tres secciones de la planta, siendo los recuentos en externa mayores que en media, y éstos mayores que en interna. Por su parte, la lechuga de tierra mostró solamente la sección externa con recuentos de bacterias psicrófilas superiores a los de las secciones media e interna, sin diferencias entre ellos. Al igual que con otras poblaciones microbianas, los recuentos en las tres secciones de plantas provenientes del método mulch fueron mayores que las correspondientes a plantas de tierra.

En general los recuentos microbianos encontrados en las plantas cultivadas sobre mulch fueron mayores que en las plantas de tierra, con excepción de los recuentos de bacterias ácido-lácticas. Es conocido que la tecnología mulch incrementa la temperatura del suelo en una magnitud que depende de las características del suelo, las propiedades del plástico utilizado y las condiciones ambientales (Gutkowsky y Terranova, 1991). Por ejemplo, para el caso de lechuga iceberg cv. Lucy Brown cultivada utilizando mulch se han detectado incrementos en la temperatura del suelo entre 1.7 y 2.8 °C (Fontanetti Verdial *et al.*, 2001). En este sentido, es probable que la metodología de cultivo (mulch o tierra) introduzca diferencias en las condiciones ambientales en cada tipo de lechuga, cambiando la utilización del recurso nutricional, el micro y el macro-clima. De esta manera, el crecimiento de lechuga en mulch probablemente sujeto a mayores temperaturas y regímenes de humedad comparados con las lechugas en tierra, favoreció la proliferación microbiana durante la pre-cosecha. Es probable que la disponibilidad de agua en el suelo genere un ambiente más favorable para la proliferación de las poblaciones microbianas en los tejidos de las plantas debido a la mayor turgencia de las células, mayor tasa de transpiración y en consecuencia mayor acumulación de humedad en la superficie de las hojas (Fonseca, 2006; Coelho *et al.*, 2005).

Por otra parte, esta diferencia de temperatura puede afectar la formación del cogollo central de la planta. Es conocido que para esta variedad de lechuga, si la temperatura no es la apropiada, la planta no acogolla (Defilipis *et al.*, 2006; Bermúdez *et al.*, 2000) generando una estructura abierta en todas las secciones de la planta. Esto podría haber sucedido en la lechuga de tierra, que en general presenta recuentos sin diferencias entre secciones. Una temperatura inadecuada en el caso del cultivo de lechuga de tierra podría haber generado plantas con una estructura abierta, sin un

sector interno estrechamente apretado formando un cogollo. Esta diferente morfología en la planta podría ser responsable de la no diferenciación de los recuentos entre las secciones. La presencia de un cogollo central generaría zonas diferenciales dentro de la planta y esto podría ser causante de un mayor o menor crecimiento de ciertas poblaciones según si el microclima generado es más cercano al óptimo o no.

3.1.3. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

La **Figura 2.3** presenta los valores medios obtenidos para los índices de calidad nutricional y físico-química obtenidos para cada sección de plantas de lechuga cultivada utilizando los dos métodos bajo estudio.

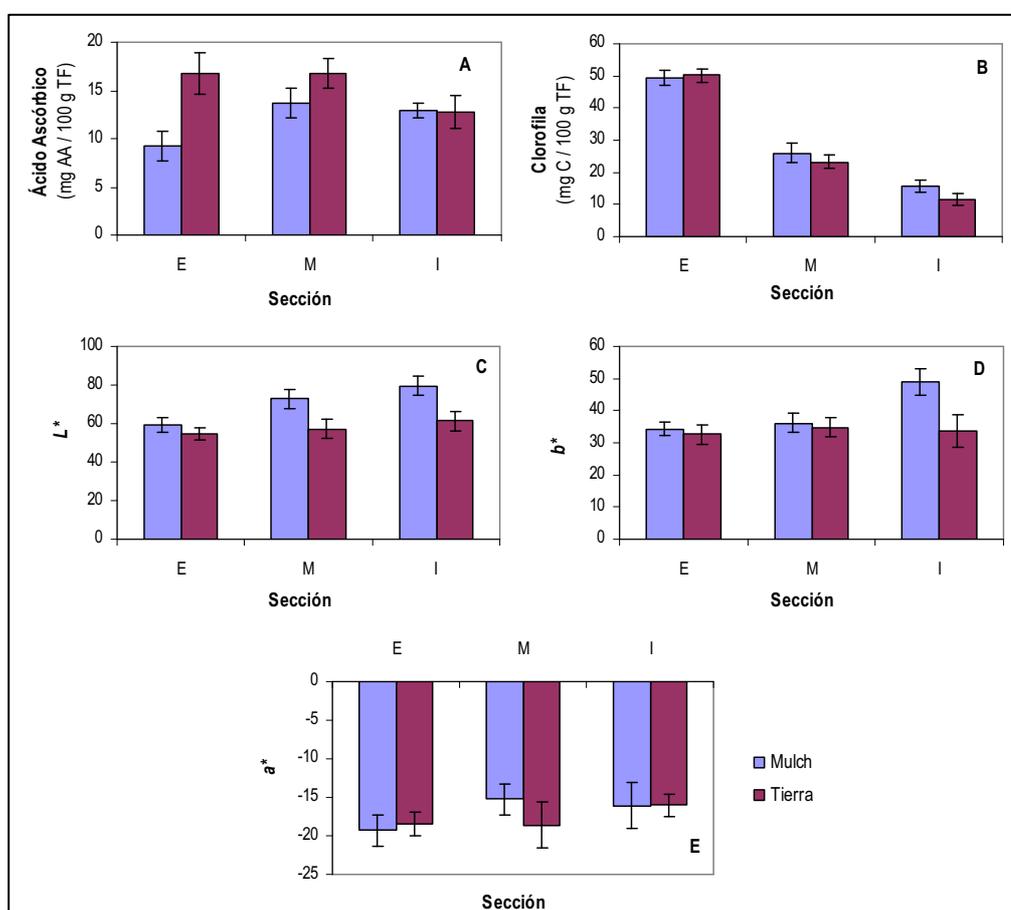


Figura 2.3. Valores promedios de los índices de calidad nutricional y físico-química: (A) Contenido de ácido ascórbico, (B) Contenido de clorofila, (C) Parámetro L*, (D) Parámetro b*, (E) Parámetro a*.

El análisis estadístico aplicado a los datos de AA (**Figura 2.3(A)**), mostró una interacción significativa entre los factores del análisis indicando que el contenido y distribución del AA dentro de la planta fue particular para lechugas cultivadas bajo cada método. En lechuga cultivada en tierra, las hojas externas y medias presentaron los mayores valores de AA de la planta. En cambio, en

lechuga cultivada en mulch se registró el mayor contenido de AA en hojas medias e internas sin diferencias significativas entre ellas, siendo ambas mayores al valor registrado en hojas externas. Por otra parte, los valores de AA registrados en las secciones externa y media de lechuga de tierra fueron superiores a los de lechuga mulch, mientras que para las hojas internas, los valores encontrados en plantas cultivadas bajo diferentes métodos no difirieron significativamente entre sí.

Diferencias en el manejo de suelo entre ambos métodos de cultivo podrían ser responsables de las diferencias en el AA de las lechugas al momento de la cosecha. La temperatura del suelo debajo del plástico negro (sistema mulch) son generalmente 1.7 a 2.8 °C mayores que las de tierra durante el día (Fontanetti Verdial *et al.*, 2001). Las propiedades físicas y ópticas de la película plástica afectan su habilidad de reflejar, absorber, transmitir y emitir radiación y calor (Liakatas *et al.*, 1986). La radiación es uno de los recursos esenciales para las plantas para llevar a cabo la fotosíntesis. Sólo una parte de toda la radiación que atraviesa la atmósfera es utilizada en el proceso de fotosíntesis, esta es la radiación fotosintéticamente activa, o simplemente PAR (por sus siglas en inglés: Photosynthetically Active Radiation), que está en el rango de 400 a 700 nm (Fitter y Hay, 2001). Las coberturas plásticas negras absorben luz del sol reduciendo la reflectancia por parte de la superficie del suelo y por ende, la radiación fotosintéticamente activa que llega a la planta. En consecuencia, el proceso de fotosíntesis se ve disminuido (Anónimo, 2008). Esto podría ser la causa de los menores contenidos de AA en el tejido de plantas cultivadas en sistema mulch. Aunque la luz no es esencial para la síntesis de ácido ascórbico en las plantas, la cantidad e intensidad de luz influye en la cantidad de ácido ascórbico formada debido a que el ácido ascórbico es sintetizado a partir de azúcares aportados por la fotosíntesis de las plantas. En tal sentido, se ha encontrado que las frutas y vegetales expuestos a luz solar máxima contienen una mayor cantidad de ácido ascórbico que aquellas unidades más internas de la misma planta (Lee y Kader, 2000). En general, cuanto menor es la intensidad de luz durante el crecimiento de la planta, menor es el contenido de ácido ascórbico de los tejidos (Ohe *et al.*, 2005; Smirnoff, 2000). Este hecho también guarda una estrecha relación con la actividad fisiológica del ácido ascórbico en el tejido fotosintético. Tal como ya se ha analizado en el Capítulo I, el efecto antioxidante del ácido ascórbico es necesario en las hojas, debido a que las condiciones en las que se da la fotosíntesis (luz) y que genera este proceso (oxígeno, transporte de electrones) son propicias para la aparición de especies tóxicas (como el peróxido de hidrógeno). El ácido ascórbico, o en su forma iónica como ascorbato, es el más abundante de los antioxidantes presentes en el cloroplasto (Smirnoff, 2000). Esto justificaría los menores valores de AA registrados en lechuga cultivada sobre mulch en comparación con la lechuga cultivada en tierra. A su vez, los menores valores en hojas internas, pueden deberse a esta

misma razón, tal como se analizó en el Capítulo I. Por otra parte, las hojas externas están más cerca del suelo y esto podría provocar mayor degradación térmica del AA por la temperatura más alta en el suelo del sistema mulch respecto de tierra.

3.1.4. Calidad físico-química

La **Figura 2.3(B)** presenta la distribución del contenido de clorofila dentro de las plantas de lechuga bajo estudio. El modelo estadístico para este indicador de calidad físico-química resultó sin interacción (SECCIÓN*MÉTODO) ni MÉTODO significativos. El único factor del modelo que tuvo impacto sobre el contenido de clorofila fue la SECCIÓN. En consecuencia, puede afirmarse que el método de cultivo no introdujo variaciones en el contenido ni en la distribución de clorofila dentro la planta. En ambos tipos de lechuga, los valores de clorofila de la sección externa fueron significativamente mayores a los registrados en la sección media y a su vez éstos fueron significativamente mayores a los registrados en la sección interna de la planta. Además, no se detectaron diferencias entre secciones iguales de plantas provenientes de diferentes métodos de cultivo. Tal como se indicó antes, las hojas de la sección externa de la planta están constituidas por tejido desarrollado, maduro y por lo tanto con alta eficiencia fotosintética. Las hojas internas, por su parte están constituidas por tejido inmaduro, en pleno crecimiento. Este tejido más joven es importador del carbono fijado por las hojas más viejas. Es decir que la cantidad de fotoasimilados que necesita para su desarrollo y crecimiento es mayor que la que ese tejido puede producir. Por esta razón, la cantidad de clorofila que se registra en la sección interna de la planta es significativamente menor que la detectada en la sección externa. Por otra parte, las hojas de la sección media constituyen una situación intermedia teniendo características similares a las otras dos secciones. Las hojas medias se presentan con una parte superior de color verde más oscuro, similar a las hojas de la sección externa mientras que la parte inferior de la hoja tiene aun características de tejido inmaduro, de color pálido, similar a las hojas internas.

La distribución de los parámetros de color en lechugas cultivadas en mulch y en tierra se muestra en la **Figura 2.3(C), (D) y (E)**. Para los parámetros L^* (luminosidad) y b^* (azul-amarillo), el modelo estadístico presentó interacciones significativas. Para la luminosidad, la interacción se reflejó en que para la sección externa, no hubo diferencias significativas entre lechugas provenientes de diferentes métodos de cultivo, mientras que para las secciones media e interna, los valores registrados en lechugas de mulch resultaron mayores que en lechugas de tierra. Se puede decir que para ambos tipos de lechuga, L^* se incrementa a medida que las hojas son más internas,

sin embargo, este perfil es más pronunciado en lechuga mulch siendo la diferencia entre sección interna y externa de 20 unidades mientras que en lechuga de tierra la diferencia es de 7 unidades. En el caso del parámetro de color b^* , que representa la escala de color del azul al amarillo, la interacción se manifiesta en que mientras para lechuga de tierra no hubo diferencias entre secciones, para lechuga de mulch los valores de b^* registrados en sección interna fueron significativamente superiores a los detectados en las otras dos secciones. Por otra parte, mientras que en las secciones externa y media no hay diferencias en los valores de b^* comparando los métodos de cultivo, el valor en la sección interna de lechuga de mulch es significativamente mayor que el de tierra. Finalmente, para el parámetro de color a^* , el modelo estadístico no mostró interacción entre los factores del análisis así como el factor MÉTODO tampoco resultó significativo. Estos resultados implican que el método de cultivo no introdujo diferencias en el índice de color a^* de la lechuga. El factor SECCIÓN resultó significativo. Para las lechugas cultivadas bajo ambos métodos la sección interna de la planta presentó menor valor absoluto de a^* (menos verdes) que la sección externa lo cual es coincidente con un menor contenido de clorofila (**Figura 2.3(B)**).

3.1.5. Calidad organoléptica

Los panelistas no detectaron diferencias significativas en la calidad organoléptica de las plantas cosechadas bajo diferentes métodos de cultivo al momento inicial del almacenamiento (plantas recién cosechadas) y dieron a las tres secciones de las plantas el valor máximo de calidad (9).

3.2. Efecto del método de cultivo sobre la evolución de la microflora nativa durante el almacenamiento refrigerado

3.2.1. Microorganismos Mesófilos

Los microorganismos mesófilos dan una estimación de las poblaciones totales viables y son indicativos de la microflora endógena y de la contaminación sufrida por el material (Ponce *et al.*, 2002). La evolución de las poblaciones de bacterias aeróbicas mesófilas en las tres secciones de lechuga cultivada utilizando el sistema tierra o el sistema mulch es presentada en la **Figura 2.4(A1)** y **(A2)**, respectivamente. El ANOVA aplicado a estos datos no mostró interacción triple significativa entre los factores considerados en el análisis (MÉTODO, SECCIÓN y TIEMPO). Sin embargo, se registraron interacciones MÉTODO*TIEMPO y MÉTODO*SECCIÓN, indicando que la evolución de los recuentos de bacterias mesófilas en plantas provenientes de diferentes sistemas de cultivo fue particular para cada caso. Por otra parte, el factor de interacción TIEMPO*SECCIÓN, resultó no significativo lo cual se interpreta como que la evolución de la microflora mesófila no difirió en función de la sección de lechuga analizada, por el contrario, para cada método de cultivo los recuentos en las distintas secciones de la planta evolucionaron de la misma manera, sin diferencias significativas. Al no encontrar diferencias significativas entre las secciones, se calculó una media para el recuento en cada día de almacenamiento sólo en función del método de cultivo. Así, para la lechuga cultivada sobre mulch (**Figura 2.4(A1)**), con un recuento inicial promedio de 7.61 ± 0.41 Log, se registró un descenso lineal ($\text{LogN} = -0.17t + 7.88$, $R^2 = 0.84$, $n=15$) en los recuentos hasta el día 12 de almacenamiento. Luego, los recuentos permanecieron aproximadamente constantes hasta el final del almacenamiento. Por su parte, la lechuga cultivada sobre tierra (**Figura 2.4(A2)**), presentó un valor inicial promedio para las tres secciones de 5.33 ± 0.26 Log. Las diferencias observadas en los valores iniciales encontrados en plantas cultivadas bajo diferentes métodos fueron analizadas en el inciso anterior. Durante el almacenamiento, los recuentos de mesófilas en la lechuga de tierra se incrementaron significativamente ($\text{LogN} = 0.28t + 5.66$, $R^2 = 0.86$, $n=12$) durante los primeros días. Luego del día 12, los recuentos permanecieron sin cambios hasta el final del almacenamiento (día 19). Este comportamiento diferencial, podría atribuirse a la historia pre-cosecha que tuvo cada cultivo: cuando la lechuga crece en el sistema mulch, la microflora nativa prolifera en un ambiente más propicio (con temperatura 1 a 2 °C superior) y más estable (con variaciones en la temperatura más moderadas). Cuando estas plantas son cosechadas y almacenadas a baja temperatura, la microflora no es capaz de adaptarse a este estrés y se vuelven más susceptibles al almacenamiento refrigerado (Bunning *et al.*, 1992) respecto de la microflora que se desarrolló en un ambiente más hostil y cambiante (lechuga cultivada sobre suelo descubierto).

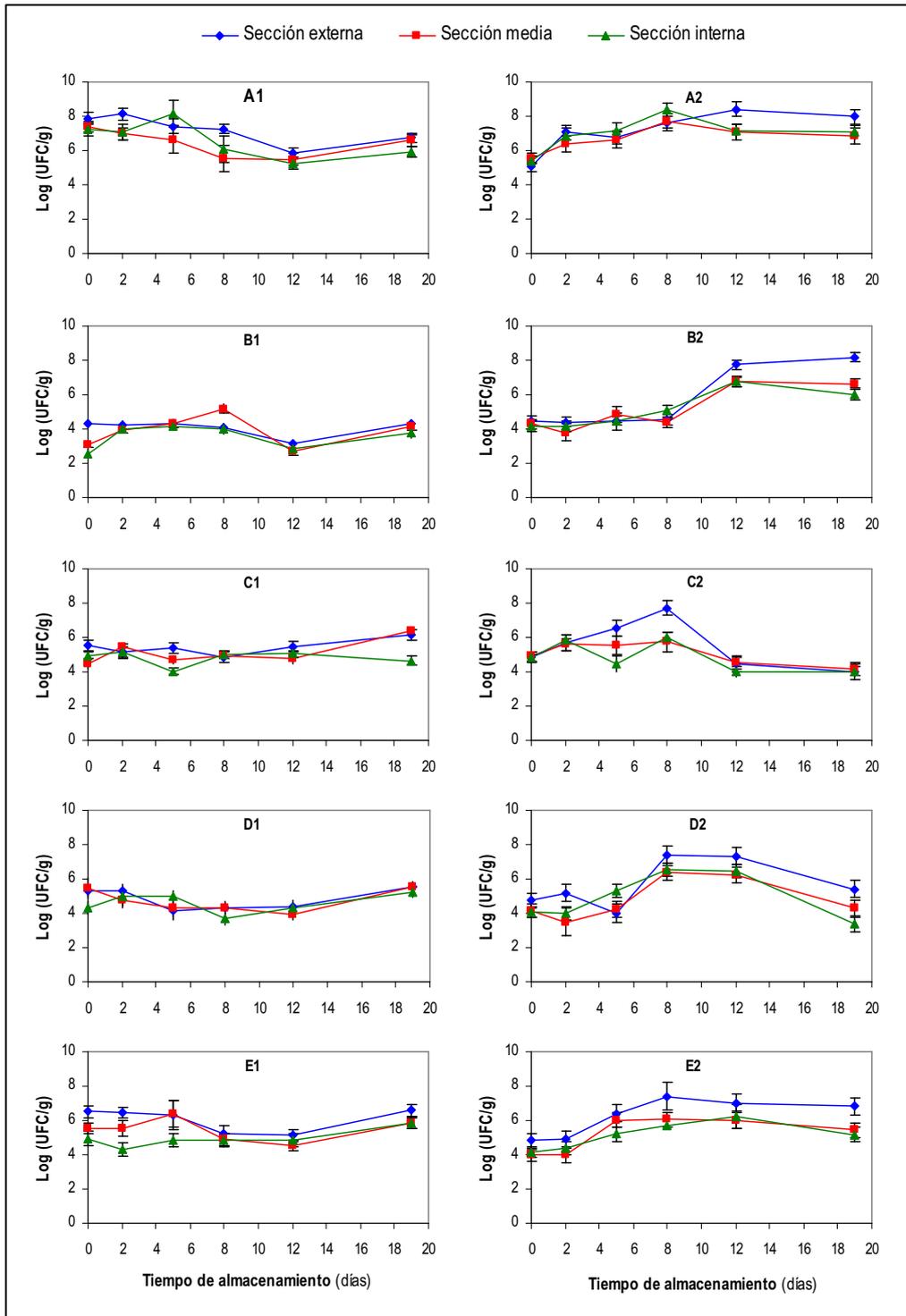


Figura 2.4. Evolución de las poblaciones microbianas en las tres secciones de lechuga cultivada bajo diferentes métodos: (1) Sistema mulch; (2) Tierra; (A) Mesófilas; (B) Ácido-lácticas; (C) Coliformes; (D) Hongos y levaduras; (E) Psicrófilas.

3.2.2. Bacterias ácido-lácticas (LAB)

La evolución de las poblaciones de bacterias LAB en cada sección de lechuga se muestra en la **Figura 2.4(B1)** y **(B2)**. El ANOVA aplicado a los datos de LAB no mostró interacción triple entre los factores del análisis. Sin embargo, sí se registraron interacciones MÉTODO*TIEMPO, SECCIÓN*TIEMPO y SECCIÓN*MÉTODO, indicando que la evolución de las bacterias LAB presentó características particulares durante el almacenamiento refrigerado en cada sección de la planta y en función del método de cultivo empleado en la producción. Así, la sección externa de la lechuga de mulch (**Figura 2.4(B1)**) presentó recuentos constantes a lo largo del almacenamiento refrigerado hasta el día 8, descendiendo hacia el día 12 con efecto rebote hacia el final del almacenamiento alcanzando valores finales que no difieren significativamente de los valores iniciales. En las hojas de la sección media de la planta de mulch se observó un incremento en los recuentos hasta el día 8, decayendo luego hasta los valores iniciales. Finalmente, para los recuentos en la sección interna de estas plantas, se encontró un incremento de LAB de casi 2 Log durante los primeros dos días, manteniéndose estos valores hasta el final del almacenamiento. Por su parte, los recuentos en las tres secciones de la lechuga de tierra (**Figura 2.4(B2)**) se mantuvieron estables y sin variaciones significativas hasta el día 8 de almacenamiento, presentando un incremento luego, hacia el final del período muestreado. En las hojas externas de estas plantas se registraron valores de recuentos de LAB del orden de los 8 Log, mientras que para las hojas de las secciones media e interna los valores finales alcanzaron los 6 Log. Al final del almacenamiento los recuentos de LAB en lechugas de tierra fueron significativamente mayores (en un valor de 2.5 Log) que los de lechuga mulch, especialmente en las hojas de la sección externa.

3.2.3. Coliformes totales

La evolución de las poblaciones de coliformes totales en cada sección de lechuga se presenta en la **Figura 2.4(C1)** y **(C2)**. Para estos resultados, se encontró interacción triple entre los factores de análisis. Para la lechuga cultivada sobre mulch (**Figura 2.4(C1)**), los recuentos de coliformes no presentaron una tendencia definida en su comportamiento durante el período de almacenamiento, oscilando en valores cercanos al recuento inicial de cada sección. Hacia el final del almacenamiento, desde el día 8 para sección externa y desde el día 10 para sección media, se observaron leves incrementos en los recuentos alcanzando valores finales superiores (en 0.7 y 1.9 Log, respectivamente) a los iniciales para cada sección. En cambio los recuentos de coliformes en las hojas de la sección interna se mantuvieron oscilantes durante el período completo de almacenamiento, con un valor final igual al detectado al comienzo del mismo. Para la lechuga

cultivada sobre suelo descubierto (**Figura 2.4(C2)**), en las hojas de las secciones media e interna se observó un comportamiento errático en los recuentos de bacterias coliformes oscilando entre 4 y 6 Log durante el almacenamiento y alcanzando valores finales del mismo orden que al momento de la cosecha. En la sección externa de la lechuga de tierra se observó un incremento lineal durante los primeros 8 días de almacenamiento ($\text{LogN} = 0.3515t + 4.8797$, $R^2 = 0.995$, $n=4$) con una disminución posterior hasta valores similares a los iniciales. Al final del almacenamiento, los recuentos de coliformes en sección interna de lechuga mulch y tierra fueron similares (alrededor de 4 Log), mientras que para las otras secciones de lechuga de mulch los recuentos finales fueron 2 Log superiores a los correspondientes de lechuga de tierra.

Concurrentemente con el crecimiento de bacterias LAB observado a partir del día 8 de almacenamiento, hubo un descenso en el recuento de bacterias coliformes en las lechugas cultivadas en tierra. Algunos autores (Moreno *et al.*, 2006; Franz *et al.*, 1999; Harris *et al.*, 1989; Klaenhammer, 1988) han propuesto que las bacterias LAB podrían ejercer un biocontrol sobre las poblaciones de coliformes. Sin embargo, este comportamiento no fue observado en lechuga cultivada en mulch. Esto sugiere que el rol de las bacterias LAB como agentes de biocontrol, estaría condicionado por el método de cultivo empleado para la producción de la hortaliza.

3.2.4. Hongos y levaduras

La evolución de los recuentos de hongos y levaduras en cada sección de lechuga es presentada en la **Figura 2.4(D1)** y **(D2)**. Como en los casos anteriores, el ANOVA aplicado a los datos de hongos y levaduras rindió interacciones significativas entre los factores del análisis, indicando que los recuentos de hongos y levaduras se comportaron de manera diferente en cada sección de la planta y en función del método de cultivo. Los recuentos en la lechuga cultivada sobre mulch se mantuvieron sin variaciones significativas durante el almacenamiento, alcanzando valores finales similares a los iniciales. En cambio, para la lechuga cultivada en tierra (**Figura 2.4(D2)**), se registraron importantes cambios durante el período refrigerado. En las tres secciones, los recuentos de hongos y levaduras presentaron una fase lag, seguida por un crecimiento, una fase estacionaria y finalmente un descenso, aunque la duración de estas etapas fue diferente en cada sección (2 días de fase lag para las secciones media e interna y 5 días para la externa). Resultados similares para la evolución de hongos y levaduras fueron informados por Roura *et al.* (2003) para lechuga Romana, y por Barriga *et al.* (1991) y King *et al.* (1991) para lechuga Iceberg.

3.2.5. Microorganismos Psicrófilos

La evolución de las poblaciones de bacterias psicrófilas se muestra en la **Figura 2.4(E1)** y **(E2)**. El comportamiento observado durante el período de almacenamiento refrigerado coincide en gran medida con el observado para hongos y levaduras. Para esta población, el ANOVA rindió interacciones significativas entre los factores del análisis, indicando que los recuentos de bacterias psicrófilas se comportaron de manera diferente en función del método de cultivo empleado, detectándose también diferencias entre las secciones de la planta. Así, en las tres secciones de la lechuga cultivada en mulch se detectaron pequeños cambios durante el almacenamiento, finalizando en valores similares a los iniciales. Para estas plantas, los recuentos de bacterias psicrófilas de la sección externa se mantuvieron siempre superiores a los de las demás secciones. En tanto que para la lechuga de tierra, los recuentos de bacterias psicrófilas mostraron una fase lag hasta el día 2 de almacenamiento, luego un incremento significativo hasta el día 8 (alcanzando valores de 7.4, 6.0 y 5.7 para las secciones externa, media e interna, respectivamente) y finalmente un pequeño descenso hacia el final del almacenamiento alcanzando en cada sección valores superiores a los iniciales. Los recuentos finales en la sección externa (6.8) resultaron significativamente superiores a los correspondientes para las secciones media e interna, sin diferencias significativas entre ellos (5.4 y 5.2, respectivamente).

Las condiciones bajo las cuales los vegetales crecieron impactaron significativamente no sólo sobre los recuentos iniciales de las poblaciones microbianas (Inciso 3.1.2, del presente capítulo) sino también sobre la evolución de la microflora durante el almacenamiento refrigerado de las plantas. Nuevamente, el uso de sistemas tipo mulch para el cultivo de hortalizas genera un microclima particularmente beneficioso alrededor de la planta debido a que, por una parte, aumenta la temperatura del suelo y del ambiente próximo a las plantas, y la disponibilidad de agua, y por otra, altera la radiación en las inmediaciones de la planta, entre otros aspectos secundarios. Fontanetti Verdial *et al.* (2001) informaron que el uso de cubiertas de suelo puede causar menores amplitudes térmicas. La microflora de lechuga generada bajo condiciones medioambientales constantes y favorables mostró una alta susceptibilidad al almacenamiento a bajas temperaturas.

Por otra parte, es conocido que los microorganismos que proliferaron bajo condiciones más desfavorables en la pre-cosecha, podrían desarrollar mayor resistencia a factores de estrés tales como las bajas temperaturas (McMeekin *et al.*, 2010; Luo y Bhagwat, 2008; Thomas y O'Beirne, 2000; Abee y Wouters, 1999). Las bacterias pueden encontrar una variedad de condiciones adversas durante su vida y su sobrevivencia depende de la inducción de mecanismos de protección

específicos o generales. La adaptación a condiciones ambientales hostiles tiene el potencial de alterar la fisiología de tal manera que el microorganismo se vuelve más resistente a cualquier estrés posterior (Bunning *et al.*, 1992). Además de la regulación de la expresión de genes específicos, las bacterias han desarrollado redes de adaptación para enfrentar los desafíos de ambientes cambiantes y para sobrevivir bajo condiciones de estrés (Spano y Massa, 2006). También se ha encontrado que la exposición a tipos simples de estrés provee resistencia a condiciones adversas (Sanders *et al.*, 1999).

Con estos antecedentes, son justificables tanto las diferencias en los valores iniciales de los recuentos microbianos como en el comportamiento observado durante el almacenamiento refrigerado según el método de cultivo en el que se desarrolló el vegetal. Así, los recuentos registrados al momento de la cosecha para lechuga cultivada en mulch fueron superiores a los correspondientes a la lechuga de tierra. Sin embargo, cuando las plantas se sometieron al almacenamiento refrigerado (con temperatura 0-2 °C), la microflora de mulch no fue capaz de adaptarse a la situación de estrés que implicó la baja temperatura, mientras que los microorganismos de la lechuga de tierra, que proliferaron bajo un ambiente de condiciones más cambiantes durante la pre-cosecha, luego de cierto período de adaptación a la nueva condición ambiental, pudieron crecer y multiplicarse mostrando evoluciones típicas en los recuentos (fase lag, crecimiento exponencial, mantenimiento y muerte). Además, para el caso particular de las bacterias LAB, es posible que la menor resistencia al estrés térmico (aplicado durante el almacenamiento refrigerado) afecte la capacidad de estas bacterias como agentes de biocontrol, tal como se propuso para la lechuga cultivada sobre suelo descubierto.

3.2.3. Modelado del crecimiento microbiano

Los modelos de Gompertz y Logístico fueron aplicados en aquellos casos en los que se registró crecimiento de las poblaciones estudiadas. En este sentido, ninguna de las poblaciones de lechuga cultivada en mulch mostró un crecimiento significativo durante el almacenamiento refrigerado, aunque en muchos casos se registraron oscilaciones en los recuentos, sin un patrón de comportamiento claro. Por tal motivo, los modelos mencionados solo fueron aplicados para las poblaciones de lechuga cultivada en tierra. En cada caso fue necesario considerar las particularidades que se mencionan a continuación para cada grupo bacteriano:

- a) Para las bacterias mesófilas, dado que no se registraron diferencias significativas en función de la sección de la planta, se consideró un pool de datos con los recuentos de las tres secciones simultáneamente para cada población.

b) Para las demás poblaciones, el comportamiento de los recuentos presentó diferencias en función de la sección considerada; para estos casos, entonces, se modeló el crecimiento separadamente para cada sección o pool de secciones que no presentaron diferencias.

La **Tabla 2.1** muestra los parámetros de cada modelo para los casos detallados en el párrafo anterior. Vale la pena mencionar que para las poblaciones que presentaron un descenso en los recuentos hacia el final del almacenamiento, no se consideraron esos puntos finales para que el modelo ajuste al máximo recuento encontrado durante el almacenamiento refrigerado.

Población	Sección ¹	Modelo Logístico ²					Modelo de Gompertz ³				
		<i>a</i>	<i>d</i>	<i>C</i>	<i>R</i> ²	<i>n</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>m</i>	<i>R</i> ²	<i>n</i>
Mesófilas	E – M – I	2.06	5.94	3.39	0.85	6	2.09	0.92	1.15	0.86	6
LAB	E – M	3.00	19.08	1.82	0.97	6	3.00	1.09	9.40	0.87	6
	M – I	2.30	22.60	2.65	0.96	6	2.30	5.44	8.09	0.96	6
Coliformes	E	3.42	2.50	0.52	0.97	4	4.19	0.26	4.31	0.98	4
	M – I	13.03	56.06	6.74	0.48	4	62.29	0.68	9.99	0.48	4
Hongos y levaduras	E – M	2.34	80.59	11.98	0.98	5	2.34	14.11	5.29	0.98	5
	I	2.46	59.80	11.98	0.99	5	2.46	6.42	4.93	0.99	5
Psicrófilas	E	2.54	58.08	11.72	0.97	5	2.54	7.19	4.89	0.97	5
	M – I	2.29	5.77	1.31	0.99	5	2.29	6.70	4.86	0.99	5

Tabla 2.1. Parámetros de los modelos de crecimiento microbiano para las diferentes poblaciones de microorganismos en lechuga de tierra.

¹ **Sección de lechuga:** E (externa), M (media), I (interna). En aquellos casos en que se citan dos o más secciones juntas el modelo se ajustó al pool de datos correspondiente a esas secciones dado que no presentaron diferencias significativas entre ellas.

² **Modelo Logístico:** el parámetro *a* representa el incremento en el recuento microbiano cuando el tiempo se incrementa indefinidamente y tiene unidades de Log(UFC/g); *d* es un parámetro adimensional; *c*, representa de velocidad de crecimiento relativa en el tiempo correspondiente a la mitad de la fase exponencial y tiene unidades de día⁻¹.

³ **Modelo de Gompertz:** el parámetro *a* tiene el mismo significado que en el modelo logístico; *b* representa la máxima velocidad de crecimiento relativo en el tiempo *m* y es expresada en día⁻¹; *m* es el tiempo requerido para alcanzar la velocidad máxima de crecimiento relativo y es expresado en días. *R*² es el coeficiente de regresión. *n* corresponde a la cantidad de datos considerados para el ajuste del modelo.

En general, ambos modelos ajustaron adecuadamente los datos experimentales, tal como puede diagnosticarse a partir de los valores de *R*² o bien a través de la gráfica de valores predichos por el modelo en función de los valores experimentales (**Figura 2.5**). Los recuentos de bacterias coliformes en las secciones media e interna de lechuga de tierra (considerados simultáneamente, por no presentar diferencias significativas entre ellos), no tuvieron un buen ajuste con los modelos ensayados. En la **Figura 2.4(C2)**, se puede observar que los recuentos en esas secciones presentan oscilaciones sin un patrón de crecimiento típico. Esta podría ser la razón por la cual los modelos de crecimiento microbiano no tuvieron buen desempeño para caracterizar la evolución de

las bacterias coliformes en estas secciones durante el almacenamiento. Por esta razón, simplemente se presenta el resultado en la tabla pero no se analiza en detalle los modelos para esta población.

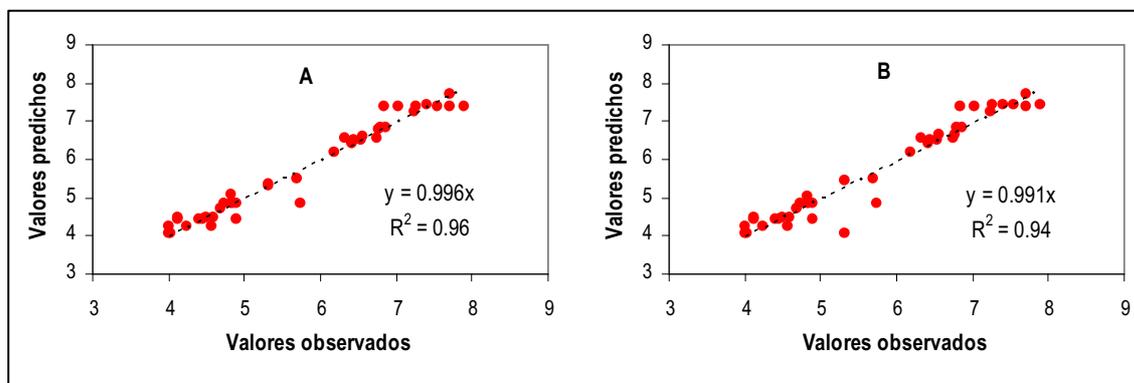


Figura 2.5. Ajuste de valores predichos por los modelos Logístico (A) y de Gompertz (B).

El parámetro a de ambos modelos tiene el mismo significado y corresponde al incremento en el recuento microbiano cuando el tiempo se incrementa indefinidamente, es decir que cuantifica el incremento total desde el recuento inicial hasta el máximo valor alcanzado durante el almacenamiento. En este sentido, podría decirse que durante el período refrigerado las poblaciones microbianas se incrementaron en un valor total comprendido en el rango de 2.06 a 4.19 Log dependiendo de la población bajo consideración (**Tabla 2.1**). El parámetro c del modelo logístico, que informa la velocidad de crecimiento relativa en la mitad de la fase de crecimiento exponencial, resultó superior para los hongos y levaduras seguido por las bacterias psicrófilas en sección externa. A las mismas conclusiones se arriba si se analiza el parámetro b del modelo de Gompertz que indica la velocidad de crecimiento relativo en el tiempo m . Finalmente, al parámetro m se puede correlacionar con la extensión de la fase lag, o al menos con el tiempo que transcurre hasta que esa población microbiana se encuentra en su máximo crecimiento. Así, analizando este aspecto, se puede decir que las bacterias mesófilas son las que alcanzan su máxima velocidad de crecimiento en primer lugar entre las demás poblaciones, mientras que las bacterias lácticas son las que tardan más tiempo en desarrollarse.

3.3. Evolución de la calidad organoléptica

La **Figura 2.6(A)** y **(B)** presenta la evolución del OVQ en las secciones externa, media e interna de la lechuga cultivada sobre mulch y sobre tierra, respectivamente. Tal como se informó previamente, cada sección de la planta presenta al momento de la cosecha (tiempo 0) sus características organolépticas típicas y están principalmente diferenciadas por el tamaño, color y

textura de la hoja. A pesar de esto, los jueces puntuaron sus atributos iniciales con el valor máximo (9), correspondiente a las características de cada sección cuando la planta está en estado fresco, recién cosechado. No se detectaron diferencias en la calidad sensorial inicial de las plantas en función del método de cultivo empleado. Esto demuestra que las características sensoriales al momento de la cosecha no se ven afectadas por la técnica de manejo de suelo empleada.

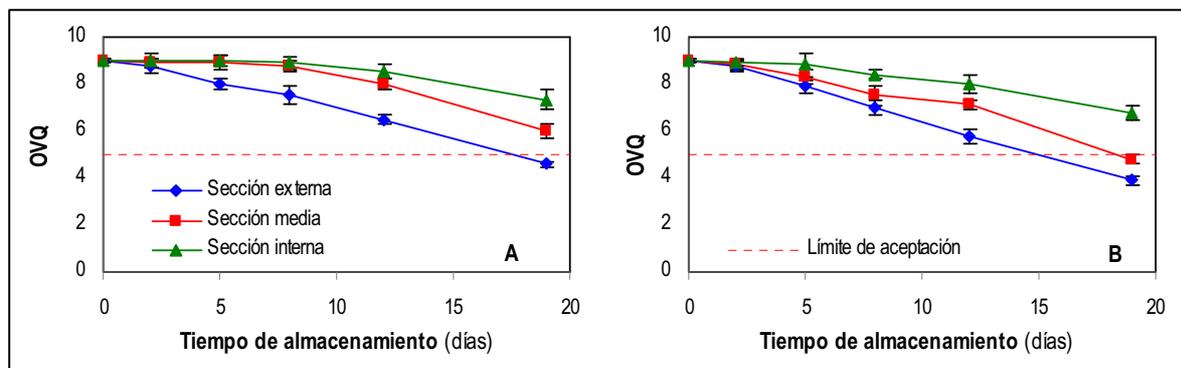


Figura 2.6. Evolución de la calidad visual general (OVQ) durante el almacenamiento refrigerado de lechugas cultivadas en sobre mulch (A) y en tierra (B).

El ANOVA aplicado a los datos de OVQ mostró interacción triple no significativa, mientras que todas las interacciones dobles (MÉTODO*SECCIÓN, MÉTODO*TIEMPO y SECCIÓN*TIEMPO) resultaron significativas indicando diferencias en el comportamiento del OVQ de cada sección durante el almacenamiento en función del tipo de cultivo en el que crecieron las plantas. Para la sección externa de lechuga mulch, se registró un descenso significativo ($OVQ = -0.25 t + 9.40$, $R^2 = 0.99$, $n = 12$, $p < 0.0001$) después de un período de inducción de 5 días, durante el cual no se encontraron cambios significativos respecto de los componentes de la calidad visual de las hojas externas. Las hojas externas de la lechuga de tierra también mostraron un descenso en el OVQ ($OVQ = -0.29 t + 9.31$, $R^2 = 0.99$, $n = 15$, $p < 0.0001$) aunque después de un período de inducción más corto (2 días). El análisis de las líneas de tendencia del OVQ demostraron diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre las pendientes de ambos métodos de cultivo, presentando una mayor velocidad de degradación de la calidad visual la lechuga de tierra. Al finalizar el período de almacenamiento, 19 días, las hojas externas de la lechuga mulch alcanzaron valores de OVQ levemente menores al límite de aceptabilidad comercial, mientras que en la lechuga de tierra, los valores en sección externa cayeron significativamente debajo de los límites de aceptabilidad. Los patrones obtenidos para la sección media fueron similares a los de la externa en ambos tipos de lechuga. Después de un período de inducción el perfil de OVQ para ambos tipos de lechuga decreció significativamente ($p = 0.0144$ y $p = 0.0032$ para mulch y tierra, respectivamente). Una vez más, la lechuga mulch tuvo un período de inducción mayor (8 días) comparado con la lechuga de tierra (2 días). Al final del

almacenamiento, los valores de OVQ en hojas medias de lechuga mulch estuvieron por encima del límite de aceptabilidad, sin embargo las hojas medias de lechuga de tierra presentaron puntaje de rechazo. La sección interna mostró en lechuga mulch un período de inducción de 12 días durante el cual los valores de OVQ permanecieron altos y luego cayeron significativamente hacia el final del almacenamiento ($p=0.0385$). En la sección interna de lechuga de tierra el período de inducción fue más acotado (5 días) luego del cual se registró un descenso significativo hasta el final del almacenamiento ($p=0.0015$). Para ambos casos, los puntajes de OVQ en el día 19 estuvieron por encima del límite de aceptabilidad, siendo mayores en mulch que en lechuga de tierra.

Para ambos métodos de cultivo, los primeros cambios que los panelistas percibieron respecto de la sección externa fue un descenso en el brillo de las hojas. Al día 8, las hojas externas de la lechuga de tierra presentaron una decoloración moderada y leve pardeamiento cerca de los bordes externos, presentando una textura aceptable, alcanzando valores de OVQ de 7.0. Para las secciones media e interna y en ese día de muestreo, el panel dio puntajes altos a la calidad visual de las hojas medias (8.8 y 7.5) e internas (8.9 y 8.4) de lechugas mulch y de tierra, respectivamente. Al día 19, mientras las hojas externas de lechuga mulch presentaron rupturas en el tejido de las hojas, sugiriendo un incremento en su fragilidad mecánica, las hojas externas de lechuga de tierra mostraron un pardeamiento extendido en las nervaduras, extrema fragilidad mecánica con importante pérdida de textura y una decoloración avanzada y extendida en las hojas. Tales defectos significaron un puntaje final en la sección externa de 4.6 para lechuga mulch y de 3.9 para lechuga de tierra, siendo ambos valores menores al límite de aceptabilidad. Para este tiempo, día 19, la sección media de lechuga mulch mostró pardeamiento leve en los extremos de las hojas, preservando su textura y resultando en un puntaje de 6.0. Sin embargo, la sección media de la lechuga de tierra presentó pardeamiento moderado en las nervaduras de las hojas lo cual redundó en un puntaje de 4.8. Para ambos métodos de cultivo, la sección interna mantuvo su color, brillo y textura, alcanzando valores de OVQ mayores al límite de aceptabilidad al final del almacenamiento.

De acuerdo a los valores de OVQ, la vida útil de la sección externa fue 17 y 14 días en lechuga mulch y de tierra, respectivamente. Respecto de la sección media, la vida útil fue de 19 días de lechuga de tierra y se extendió más allá de 19 días en mulch. Para ambos métodos de cultivo, la vida útil de la sección interna fue superior a los 19 días.

3.4. Análisis de correlación entre calidad microbiológica y organoléptica

La **Tabla 2.2** refleja los coeficientes de correlación de Pearson entre el OVQ y las diferentes poblaciones. Este análisis fue realizado en cada sección de la planta y para plantas de cada método

de cultivo. En aquellos casos en que no se detectó correlación entre el OVQ y la población bacteriana a lo largo del almacenamiento completo (19 días), el análisis de Pearson fue llevado a cabo usando los datos hasta los 12 días del almacenamiento, dado que para algunas poblaciones se detectó un descenso en los recuentos hacia el final del almacenamiento.

Método de cultivo	Sección	Población					
		Mesófilas	LAB	Coliformes	Hongos y levaduras	Psicrófilas	
OVQ	Mulch	Externa*	0.853	0.747	0.346	0.761	0.982 ^b
		Media	0.279	0.058	-0.785 ^a	-0.346	-0.013
		Interna	0.523	-0.034	0.096	-0.445	-0.887 ^a
	Tierra	Externa	-0.723	-0.897 ^a	0.396	-0.444	-0.743
		Media	-0.289	-0.797 ^a	0.684	-0.182	-0.474
		Interna*	-0.550	-0.969 ^b	0.317	-0.872	-0.935 ^a

Tabla 2.2. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre el OVQ y las poblaciones microbianas en diferentes secciones de lechugas cultivadas bajo dos métodos diferentes: mulch y tierra.

* No se detectó correlación entre OVQ y ninguna de las poblaciones microbianas considerando todos los días del almacenamiento. Se informa el coeficiente de correlación considerando los datos del almacenamiento hasta el día 12.

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$.

Las diferencias encontradas en los recuentos iniciales y en el comportamiento de los microorganismos durante el almacenamiento refrigerado en función del método de cultivo, pudieron incidir en la calidad sensorial y vida útil de la lechuga. Antes de sacar cualquier conclusión en este sentido, cabe destacar que los resultados del análisis de correlación de Pearson no son suficientes para probar causalidad entre estas dos variables, pero sí indica concurrencia entre ellas. Así, por ejemplo la correlación negativa que existe entre LAB de sección externa de tierra y el OVQ indica que el incremento en las LAB sucede simultáneamente con un descenso en la calidad visual general de esa sección durante el almacenamiento, pero no se puede asegurar, en base a estos resultados, que el descenso en la calidad visual se deba al crecimiento de bacterias ácido-lácticas.

Vale la pena mencionar que a pesar de tener mayores recuentos microbianos iniciales en lechuga mulch con respecto a lechuga de tierra, no hubo diferencias en la calidad sensorial inicial de las plantas. Respecto a esto, Zagory (1999) indicó que, en muchos casos, el número total de bacterias guarda poca o ninguna relación con la calidad del producto y su vida útil. Aún así, el comportamiento de la microflora nativa durante el almacenamiento refrigerado de ambos tipos de lechuga difirió. De esta manera, el número de poblaciones bacterianas iniciales no estuvo directamente asociado con la calidad de la lechuga ni su vida útil. Sin embargo, la evolución microbiana durante el almacenamiento pudo haber tenido un impacto en ambas. En lechuga de tierra, las poblaciones bacterianas con mayor correlación con la calidad sensorial de las hojas

fueron las bacterias ácido-lácticas. Nuevamente, aunque la correlación no indique causalidad necesariamente, el crecimiento de las bacterias LAB podría tener impacto en la calidad organoléptica de la lechuga. El rol que las bacterias LAB tienen en el mantenimiento de la calidad de vegetales permanece poco claro. Carlin *et al.* (1990) han asociado las bacterias LAB con el deterioro de commodities particulares; Tirilly y Thouvenot (1994) informaron que las especies de *Lactobacillus* son unos de los microorganismos más frecuentemente responsables de la alteración de plantas. Por otra parte, Brocklehurst *et al.* (1987) informaron que las bacterias LAB no son necesariamente destructivas para el tejido de las plantas; y Breidt y Fleming (1997) han propuesto que las bacterias LAB actúan como agentes de biocontrol en alimentos refrigerados mínimamente procesados.

El OVQ de secciones externa e interna de lechuga mulch estuvo significativamente correlacionado con las bacterias psicrófilas, aunque de manera diferente. Mientras la correlación fue positiva en la sección externa, en la sección interna fue negativa. Una vez más, el rol que los microorganismos psicrófilos juegan en el mantenimiento de la calidad de los vegetales es poco claro. Algunos autores informaron que las bacterias psicrófilas estuvieron asociadas con la pérdida de calidad (Maxcy, 1982), mientras otros las han asociado con altos índices de calidad (Barriga *et al.*, 1991; Labadie y Dousset, 1988). El OVQ de la sección media de lechuga mulch estuvo negativamente correlacionado con los coliformes totales. Los coliformes son un grupo de bacterias indicadores de la “calidad” o “seguridad” de plantas e incluyen bacterias patógenas de plantas, patógenas de humanos y un grupo diverso de residentes de suelo y plantas. Lavelli *et al.* (2006), estudiando parámetros físico-químicos, microbianos y sensoriales como índices para evaluar la calidad de zanahoria mínimamente procesada, encontraron que los coliformes totales alcanzaron una concentración límite rápidamente en comparación con otras poblaciones microbianas, de este modo propusieron a esta población bacteriana como estimadores de la vida útil de zanahoria.

4. CONCLUSIONES

El método de cultivo para lechuga, uso de mulch o cultivo directo sobre tierra, introdujo diferencias en los valores iniciales de los indicadores de calidad fisiológica, nutricional, físico-química y microbiológica. Sin embargo, no se detectaron diferencias en la calidad visual general entre plantas provenientes de diferente sistema de cultivo. Las diferencias más significativas al comienzo del almacenamiento se encontraron en los índices nutricional y microbiológico: las lechugas cultivadas sobre mulch presentaron mayores recuentos microbianos y menor contenido de

ácido ascórbico al inicio del almacenamiento. Ambos hechos podrían deberse a las temperaturas mayores y el cambio en las condiciones lumínicas generadas por el sistema mulch en el entorno de la planta. En este sentido, la lechuga cultivada en mulch presenta desventajas comparada con la lechuga de tierra.

Sin embargo, al analizar la evolución de la calidad visual general y de la microflora durante el almacenamiento, la lechuga cultivada en mulch tuvo mejor desempeño, manteniendo los atributos de calidad durante mayor tiempo y mostrando un patrón conveniente en el comportamiento de los microorganismos durante el almacenamiento: la mayoría de las poblaciones de microorganismos en lechuga cultivada con sistema mulch presentaron un descenso o a lo sumo un crecimiento leve durante el período analizado. Por el contrario, las poblaciones microbianas de lechuga cultivada en tierra crecieron después de un período determinado de adaptación a las bajas temperaturas (fase lag). Por lo tanto, podría concluirse que las condiciones bajo las cuales crecen los vegetales pueden resultar en diferentes respuestas de la microflora nativa durante el almacenamiento refrigerado. Las respuestas diferentes de las poblaciones microbianas al almacenamiento refrigerado como resultado de su historia pre-cosecha podría tener implicaciones tecnológicas importantes para la manipulación del producto fresco. Los pequeños o nulos incrementos de los recuentos microbianos en lechuga mulch durante el almacenamiento refrigerado podría ser una característica ventajosa. Debería destacarse que este comportamiento correspondió a las condiciones de almacenamiento óptimas recomendadas para lechuga (0-2 °C, 97-99 %HR) y podría ser invertido si la lechuga fuese expuesta a temperaturas abusivas durante el almacenamiento.

Al final del almacenamiento, las secciones interna y media de lechuga cultivada en mulch presentaron recuentos menores de bacterias psicrófilas, LAB y hongos y levaduras que la lechuga de tierra. Como los hongos, levaduras y las bacterias psicrófilas son responsables usualmente del deterioro de vegetales crudos, se observó coincidentemente con estos menores recuentos, un menor decaimiento por microorganismos en lechuga mulch.

Las diferentes respuestas de las poblaciones microbianas al almacenamiento refrigerado como resultado de su historia pre-cosecha correlacionó con la calidad visual general. También es fundamental para asegurar una larga vida útil de lechuga la capacidad de determinadas poblaciones microbianas para adaptarse a condiciones ambientales hostiles en virtud de mecanismos de resistencia desarrollados con anterioridad durante el proceso de pre-cosecha. Por lo tanto, el primer paso para asegurar el éxito en la gestión de la manipulación de hortalizas implica la selección de las condiciones pre-cosecha que favorecen la colonización de la microflora sensible.

CAPÍTULO III

IMPACTO DEL GRADO DE DESARROLLO EN EL MOMENTO DE LA COSECHA

Esquema conceptual

Índices evaluados:

- Contenido de agua relativo (RWC)
- Contenido de agua (WC)
- Contenido de agua libre (FW)
- Contenido de agua unida (BW)
- Relación agua libre a agua total (FW/TW)
- Calidad visual global (OVQ)

Seguimiento

- En el momento de la cosecha realizada en distintas fechas (días después del transplante).
- Luego de un almacenamiento de 7 días en condiciones óptimas.

Modelo

- Índices de status de agua: hoja por hoja.
- OVQ: planta entera.

CAPÍTULO III:

IMPACTO DEL GRADO DE DESARROLLO EN EL MOMENTO DE LA COSECHA

1. INTRODUCCIÓN

El período de pre-cosecha está formado por todos los eventos que ocurren desde la siembra de la semilla hasta el momento de la cosecha del producto. Durante este período ocurren cambios drásticos en la fisiología y morfología del cultivo que son afectados profundamente por las condiciones ambientales, edafológicas, de manejo de cultivo, etc., usualmente considerados en conjunto como factores pre-cosecha. En las últimas décadas se han desarrollado numerosos estudios acerca de los efectos de los factores ambientales sobre el patrón de crecimiento y el grado de limitación que pueden ejercer estos factores sobre el rendimiento de los cultivos (de Grazia *et al.*, 2001).

La radiación, la temperatura y la nutrición nitrogenada se han identificado como los factores de mayor importancia en las diferentes regiones productivas de lechuga del mundo (Dapigny *et al.*, 1996; Custic *et al.*, 1994; Sorensen *et al.*, 1994; Leja *et al.*, 1994; Rozek *et al.*, 1994a y 1994b; Brumm *et al.*, 1993). Más allá de sus efectos sobre la morfología foliar, la radiación y la temperatura son los principales determinantes de la tasa de crecimiento de la lechuga, expresada como el incremento tanto en el número de hojas como en el peso seco de la planta (Wurr *et al.*, 1981). Bajo condiciones hídricas y nutricionales adecuadas, aumentos en la temperatura de 10 a 30 °C y en el nivel de radiación de 1 a 26 MJ.m⁻².día⁻¹, incrementan el número de hojas formadas por unidad de tiempo (Wien, 1997; Wurr y Fellows, 1991; Wurr *et al.*, 1981), lo cual se traduce en una mayor producción de biomasa y en mejores rendimientos del cultivo (Glenn, 1984). En experimentos realizados en condiciones controladas, principalmente con cultivares de lechuga de cabeza crespada, se demostró que el tiempo requerido para obtener plantas de tamaño comercializable disminuye a medida que aumenta la radiación solar incidente (Knight y Mitchell, 1983 y 1988; Cracker y Seibert,

1983). Bajo condiciones de campo, la respuesta al incremento en el nivel lumínico puede ser enmascarada por los efectos adversos de mayores temperaturas o desequilibrios hídricos de las plantas sometidas a ambientes de alta radiación (Wien, 1997). Trabajando en invernaderos, Glenn (1984) midió incrementos continuos en la tasa de crecimiento hasta niveles de radiación incidente de $500 \text{ Cal.m}^{-2}.\text{día}^{-1}$, mientras que Mattei *et al.* (1973) observaron en parcelas a campo que el mayor ritmo de producción de materia seca ocurría a un nivel intermedio de radiación ($150 \text{ Cal.m}^{-2}.\text{día}^{-1}$). La temperatura aparece como el principal factor regulador del crecimiento durante los estadios iniciales del cultivo. Su relación con la tasa de crecimiento resulta lineal en esta etapa, bajo condiciones de radiación constante y elevada (Scaife, 1973). Bajo condiciones de campo, la radiación determina la tasa de producción de biomasa desde la emergencia del cultivo hasta el 100 % de cobertura del suelo por el canopeo, en tanto que la temperatura del aire controla el desarrollo del área foliar, acelerando la tasa de aparición de hojas y el ritmo de expansión foliar (Lorenz y Wiebe, 1980), determinando de esta forma la superficie foliar capaz de interceptar la radiación fotosintéticamente activa.

La **Figura 3.1** muestra una representación esquemática de las diferentes etapas que atraviesan los cultivos durante su crecimiento (Di Benedetto, 2005; Wien, 1997; Salisbury y Ross, 1994).

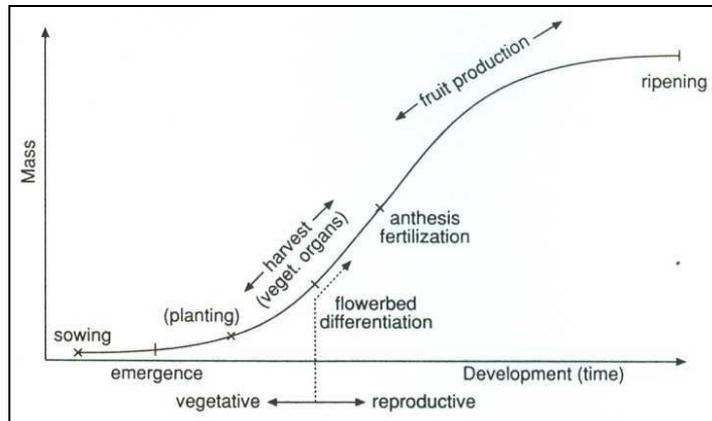


Figura 3.1. Representación esquemática del ciclo de cultivo de especies angiospermas (extraído de Wien, (1997)).

En una simplificación del modelo de crecimiento para el cultivo de lechuga, Bermúdez *et al.* (2000) reconocen tres estadios por los cuales transitan las plantas durante su desarrollo:

- a) Juventud: plantas que tienen de cuatro a seis hojas;
- b) Adultez: plantas que acogollaron o formaron la cabeza. Esta es la etapa adecuada de recolección cuando se cultiva la lechuga con el objetivo de producir hortaliza para consumo.

- c) Reproducción: plantas que comienzan con la emisión de tallo floral (espigado). Esta es la etapa que se utiliza para la producción de semillas de lechuga.

La lechuga constituye un modelo biológico de interés en el que coexisten tejidos con diferente grado de madurez ya que está constituida por hojas de diferentes edades, en diferente fase de desarrollo. Las hojas recién desplegadas (hojas más jóvenes y cercanas al punto de crecimiento, hojas internas) se comportan como un sumidero, es decir, importando fotoasimilados procedentes de otras hojas hasta que alcanza el 30% de su tamaño final, momento en que la importación cesa gradualmente y la hoja pasa de importar a exportar carbono (Peil y Galvez, 2005). Cuando la hoja ha alcanzado su máxima actividad fotosintética (hojas más adultas, más alejadas del punto de crecimiento, hojas externas), se convierte esencialmente en un órgano fuente de asimilados y el balance de carbono la convierte sobre todo en exportador. Por último, durante la fase de senescencia se produce una exportación masiva de carbono de la hoja, que va acompañada por un descenso gradual de la actividad fotosintética.

El momento de realizar la cosecha del vegetal varía ampliamente en función del tipo de producto (hortaliza de hoja, fruto, bulbo, raíz, etc.) y del destino que se le dará al mismo (consumo en fresco, industrialización, etc.). Para el caso de producción de lechuga destinada al consumo en fresco, la cosecha se lleva a cabo en un momento de crecimiento activo de la planta, impidiendo que la planta avance hacia el estado reproductivo (Defilipis *et al.*, 2006).

El grado de desarrollo alcanzado en el momento de la cosecha tiene un importante impacto sobre la calidad y vida útil de los vegetales (Chutichudet *et al.*, 2011; Chiesa, 2010; Zhang *et al.*, 2007; León *et al.*, 2004; Drews *et al.*, 2007; Drews 1996). Tal como se ha mencionado previamente, los cambios que ocurren durante el crecimiento de la planta son muy drásticos y cualquier adelanto o retraso en la cosecha impacta en las características físicas y químicas del producto.

La calidad de los commodities frescos depende fuertemente del estado del agua dentro de las células. Es conocido que las pérdidas de agua son la causa principal de deterioro post-cosecha en las hortalizas de hoja porque provoca no sólo una pérdida cuantitativa directa (pérdida de peso) sino también afecta la calidad visual (marchitamiento) con un descenso en la textura (pérdida de crujencia y jugosidad) y disminución de la calidad nutricional (Kader, 2002a; Paull, 1999). El sistema dérmico de los tejidos vegetales (capas protectoras externas) gobierna la regulación de la pérdida de agua del producto, principalmente la velocidad de transpiración. De esta manera, cambios en la resistencia de la piel o cutícula pueden afectar la velocidad de migración de agua y los movimientos de la misma. Las pérdidas nutricionales del producto, generadas por el marchitamiento, están relacionadas principalmente con descensos en el contenido de Vitamina C (Paull, 1999). En

consecuencia, es importante entender la evolución de los índices de agua durante el desarrollo del vegetal para programar el momento de realizar la cosecha en la etapa fisiológica más adecuada. En la mayoría de los mercados, la ley de oferta y demanda es la fuerza impulsora que motiva a los productores para optar por momentos de cosecha más tardíos o tempranos y esto tendrá impacto sobre la calidad del producto.

Se define la madurez hortícola como la etapa del desarrollo en la cual una planta o parte de la planta posee los pre-requisitos para su utilización por los consumidores para un propósito particular (Reid, 2002). A partir de esta definición general, es deseable contar con un indicador de madurez para el producto de interés. Así, un amplio número de características físicas es usado para evaluar la madurez de diversos productos. Particularmente en las hortalizas, el cambio en el tamaño, forma, área superficial, entre otros, son usados como índices comunes de madurez. En general, los vegetales de hoja son cosechados cuando alcanzan un tamaño comercializable. Y en estos casos también se utilizan índices cronológicos, tales como días transcurridos desde la siembra, desde la emergencia o desde el trasplante. Estos índices cronológicos muchas veces son redefinidos incorporando unidades de temperatura acumuladas durante el período de crecimiento.

Teniendo en cuenta que en la producción de lechuga mantecosa el tamaño aceptable al momento de la cosecha no está claramente definido (Alcalá *et al.*, 2008; Defilipis *et al.*, 2006) y puede variar considerablemente (por ejemplo en Alemania, pesos frescos de 80 a 110 g son considerados aceptables; Krug, 1996), y que los índices de estado de agua de la planta tienen un rol clave en la calidad visual de la lechuga, surgió el interés de analizar la evolución de los índices de agua durante el crecimiento de lechuga con el objetivo de aclarar las siguientes cuestiones:

- a) en qué etapa del desarrollo la planta adquiere su perfil típico de status de agua y establecer la influencia del ciclo de crecimiento en la calidad fisiológica inicial del producto;
- b) analizar los cambios en los índices de status de agua durante el almacenamiento refrigerado en condiciones de temperatura y humedad óptimas (7 días, 0-2 °C y 97-99 %HR);
- c) determinar cómo estos índices de agua impactan en la calidad visual de la lechuga.

Para alcanzar estos objetivos se realizaron cosechas de lechuga mantecosa en sucesivos momentos durante su crecimiento (7 fechas diferentes), desde una pequeña planta con pocas hojas hasta que la planta comenzó a florecer.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico y preparación de muestras

El experimento fue llevado a cabo con lechuga mantecosa var. Lores sembrada en bandejas multicelda para 288 plantines y trasplantada a invernadero donde se desarrolló hasta alcanzar un tamaño comercial. El período de crecimiento en tierra luego del trasplante fue monitoreado entre el 8 de mayo y el 8 de agosto de 2007. La quinta, especializada en la producción de lechuga, está localizada en Sierra de los Padres, en el cinturón hortícola de Mar del Plata.

Se realizaron siete cosechas secuenciales durante el período de crecimiento de la lechuga que correspondieron a 48, 57, 65, 72, 78, 85 y 92 días después del trasplante (DDT). Cada día de muestreo, se cosecharon 12 plantas de lechuga que fueron inmediatamente preenfriadas en bolsas refrigeradas y transportadas al laboratorio dentro de la primera hora de cosecha. Las plantas no fueron sometidas a ninguna operación de acondicionamiento. Seis plantas fueron usadas inmediatamente para evaluar las variables de crecimiento y los índices de status de agua al momento de la cosecha. Las otras seis plantas fueron almacenadas en condiciones óptimas recomendadas para lechuga (0-2 °C, 97-99 %HR) siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo II, inciso 2.3. Al día siete de almacenamiento, las plantas fueron retiradas de la cámara y utilizadas para analizar su calidad visual general. Luego de esto, para evaluar el status de agua post-cosecha.

2.2. Caracterización del crecimiento de lechuga

Para caracterizar el crecimiento de las plantas se analizaron los índices peso fresco (PF), número de hojas y materia seca (MS) por planta. Los valores de peso fresco y número de hojas fueron registrados para cada una de las plantas analizadas al momento de la cosecha (en 7 fechas diferentes). La cosecha se realizó con el mismo procedimiento que el utilizado en la práctica comercial habitual que consiste en la realización de un corte al ras del suelo, separando la parte aérea de la planta (parte comercializable) de la raíz que queda en el suelo. De este modo, el peso registrado en el laboratorio corresponde al peso de la parte aérea de la planta. La materia seca fue calculada a partir de los datos de peso fresco y contenido de agua (WC) de la planta utilizando la *Ecuación 3.1*:

$$MS = \frac{PF \cdot (100 - WC)}{100} \quad (Ec. 3.1)$$

El WC (ver inciso 2.3) fue evaluado hoja por hoja en cada planta de lechuga, de modo que para el cálculo de la MS se utilizó el valor promedio de WC considerando todas las hojas de la planta.

2.3. Calidad fisiológica: Índices del status de agua

El status de agua en la lechuga fue determinado a través del contenido de agua (WC), contenido de agua relativo (RWC), agua libre (FW), agua unida (BW) y la relación entre agua libre y agua total (FW/TW). Los índices del status de agua fueron calculados para todas las hojas de la planta. La descripción detallada de la metodología utilizada para la determinación de cada uno de estos índices fue previamente descrita en el Capítulo I, bajo Materiales y Métodos (inciso 2.2).

2.4. Calidad organoléptica: Calidad visual general (OVQ)

Después de un período de 7 días de almacenamiento en condiciones óptimas, previo al análisis del status de agua, cada planta individual fue examinada por los jueces del panel sensorial descrito en el Capítulo I (inciso 2.6). Sin embargo, a diferencia del procedimiento detallado, la calidad visual general (OVQ) fue evaluada en la cabeza de lechuga entera, sin distinción de secciones debido a que en las primeras fechas de cosecha analizadas, la planta no presentó la conformación de una planta adulta, tal como fue descrita en el Capítulo I (secciones externa, media e interna).

Adicionalmente, los jueces evaluaron independientemente en cada planta de lechuga los descriptores de calidad (color, brillo, textura, presencia/ausencia de defectos y pardeamiento) dando puntuación a cada uno de ellos tal como se detalla a continuación. Para evaluar el color y brillo se utilizó una escala de 9 puntos donde 1 corresponde a apariencia fresca, 5 se corresponde con moderada descoloración y 9 con descoloración extrema. El descriptor de calidad textural fue expresado en términos de grado de marchitamiento, usando una escala de 9 puntos, donde 1= ausencia, 5= moderado y 9= extremo, no aceptable (Kader *et al.*, 1973). Para evaluar la presencia/ausencia de defectos tales como manchas marrones, daño mecánico, entre otros, se utilizó una escala para defectos no contabilizados en otro índice 1= ausencia, 5= moderado y 9= extremo (Kader *et al.*, 1973). El pardeamiento enzimático fue evaluado a través de la presencia de pardeamiento superficial de hoja, en borde de hoja y en la base de la planta (zona de corte), puntuados en una escala de 1 a 9 donde 1= sin pardeamiento y 9= pardeamiento severo (López-Gálvez *et al.*, 1996). El pardeamiento en zona de corte es usualmente referido en bibliografía como *butt stem browning* (Goñi, 2011).

Todos los índices fueron evaluados en las plantas (cosechadas en distintas fechas) al momento de la cosecha y luego del almacenamiento refrigerado.

2.5. Modelado del peso fresco, materia seca y número de hojas durante el crecimiento

Varios modelos han sido propuestos para modelar el crecimiento de lechuga (Lopez Cruz *et al.*, 2005; Seginer *et al.*, 1998; van Henten, 1994; van Henten y van Straten, 1994; Sweeney *et al.*, 1981). En general, estos modelos proponen un balance de carbono con las siguientes variables: contenido de carbono estructural (en pared celular y citoplasma) y contenido de carbono no estructural (como carbohidratos y almidón). El contenido de carbono no estructural, principalmente contenido en las vacuolas, se origina de la asimilación del proceso fotosintético, el cual es afectado por la luz y la disponibilidad de CO₂. La respiración de mantenimiento y la respiración de crecimiento dan cuenta de esos recursos bajo la influencia de la temperatura. La producción de una unidad de carbono estructural para el crecimiento necesita unidades adicionales para respiración de crecimiento. A pesar de que estos modelos tienen sin duda un alto valor científico e instructivo (Tei *et al.* 1996a), existen modelos empíricos más simples que pueden proveer información útil y predicciones, particularmente si están basados en parámetros con significado biológico (Tei *et al.* 1996b). Los modelos empíricos usados con mayor frecuencia para describir el crecimiento de las hortalizas son: la función Logística y el modelo de Gompertz. En estos modelos, el tiempo es la variable independiente que puede ser medida como una variable exclusivamente cronológica (en días) o incorporando el efecto de la temperatura sobre los procesos metabólicos, resultando en la variable tiempo térmico (en °día).

Para modelar la evolución del peso (fresco y seco) y número de hojas de las plantas de lechuga durante su crecimiento se utilizó, en el presente capítulo, el modelo Logístico dado por la siguiente ecuación:

$$X = X_0 + \frac{a}{1 + \exp(d - c \cdot t)} \quad (\text{Ec. 3.2})$$

donde X es el peso (g) o el número de hojas registrados el día t luego del trasplante (DDT); X_0 es el peso (g) o número de hojas de la lechuga en el primer día de muestreo, a es el incremento en el peso o en el número de hojas cuando el tiempo se incrementó indefinidamente, d es un parámetro adimensional, c es la velocidad de crecimiento relativa en la mitad de la fase exponencial (día⁻¹). Tei *et al.* (1996b) ajustó el modelo logístico a la evolución del peso seco de lechuga durante su crecimiento y recomendó el uso del tiempo cronológico (en días después del trasplante) en lugar del tiempo térmico (en °día) por introducir desviaciones que sobreestimaban el crecimiento al comienzo

del ciclo y lo subestimaban hacia el final del ciclo. Por esta razón se utilizó el tiempo expresado en DDT.

Para el caso particular del peso fresco, se realizó una transformación de la variable aplicando logaritmo natural previo al ajuste del modelo, debido a que no se cumplían los supuestos del análisis de la varianza. Este procedimiento es recomendado por otros autores que estudiaron la evolución de la materia fresca y seca durante el crecimiento de diversas hortalizas (Tei *et al.*, 1996a y 1996b).

2.6. Análisis estadístico

Los resultados informados fueron expresados en LSMEANS acompañados por su correspondiente desviación estándar (Kuehl, 2001; Steel y Torrie, 1992). Los datos fueron analizados utilizando el software de análisis estadístico SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002).

El PROC GLM fue utilizado para el análisis de varianza de las diferentes variables analizadas. El nivel de probabilidad significativo fue fijado en $p < 0.05$ en todos los casos. Para el análisis de la evolución del peso fresco, número de hojas y materia seca durante el crecimiento, el factor utilizado como fuente de variación fue la FECHA (fecha de cosecha, expresada en días después del trasplante o DDT). Para el análisis de la evolución de los indicadores de status de agua de la planta durante su desarrollo, se consideraron como fuentes de variación los siguientes factores: FECHA, PLANTA DENTRO DE FECHA, HOJA (posición de la hoja dentro de la planta: desde 1 para la hoja más externa hasta N correspondiente a la hoja más interna) y la interacción FECHA*HOJA. Para la evaluación del comportamiento de los índices de status de agua luego del almacenamiento refrigerado, se introdujo un factor más al modelo estadístico recién descrito: ALMACEN presentando dos niveles: 0 (para el valor obtenido en el momento de la cosecha) y 7 (para el valor obtenido luego de 7 días de almacenamiento refrigerado). Finalmente para el análisis del OVQ se consideró un modelo estadístico con los factores FECHA y PLANTA DENTRO DE FECHA como fuentes de variación.

En todos los casos, la significancia de las diferencias entre los valores hallados para cada combinación de niveles de los factores del análisis fueron evaluadas estadísticamente mediante el método de comparación múltiple de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). En aquellos casos en los que se detectaron diferencias con mayor nivel de significancia, el valor p fue informado junto con los resultados. El PROC UNIVARIATE fue utilizado para validar los supuestos de los análisis de varianza realizados. Los ajustes de las regresiones lineales fueron realizados utilizando el PROC REG y la comparación de los modelos lineales fue realizada según el procedimiento descrito en el

Capítulo II, inciso 2.4. Los ajustes de las regresiones no lineales (modelo logístico) fueron realizados utilizando el software STATISTICA 7.1 (StatSoft Inc., 2005).

3. RESULTADOS

3.1. Caracterización del crecimiento de lechuga

Todas las variables medidas para caracterizar el crecimiento de la planta (peso fresco, número de hojas, materia seca) presentaron un incremento progresivo a lo largo del período de desarrollo del cultivo (**Tabla 3.1**). En todos los casos, el modelo estadístico aplicado resultó significativo ($p < 0.0001$) indicando que el factor FECHA (medido como días después del transplante) tuvo un efecto significativo sobre las variables respuesta analizadas. Tal como se anticipó en Materiales y Métodos, para el caso particular del peso fresco por planta, fue necesaria la transformación de esta variable aplicando logaritmo natural de modo que se cumplieran los supuestos del análisis de la varianza. Aún así, los resultados de la variable original (peso fresco) también se presentan en la **Tabla 3.1** para una mejor interpretación de los cambios ocurridos durante el desarrollo del cultivo.

Fecha de cosecha (DDT ¹)	Peso fresco (g)	Ln (peso) *	Materia seca (g)	Número de hojas
48	61.7 ± 10.8	4.07 ^a ± 0.10	4.3 ^a ± 0.9	9.0 ^a ± 0.7
57	69.9 ± 12.5	4.17 ^a ± 0.12	5.0 ^a ± 1.0	9.0 ^a ± 0.8
65	97.4 ± 12.5	4.57 ^{ab} ± 0.12	8.1 ^{ab} ± 1.0	11.7 ^a ± 0.9
72	139.1 ± 10.9	4.92 ^{bc} ± 0.10	11.9 ^{bc} ± 0.9	14.4 ^b ± 0.7
78	179.4 ± 13.7	5.16 ^c ± 0.13	13.9 ^c ± 1.1	15.3 ^c ± 0.8
85	244.7 ± 15.4	5.49 ^d ± 0.14	19.4 ^d ± 1.2	18.0 ^d ± 1.1
92	224.2 ± 17.8	5.41 ^d ± 0.16	18.9 ^d ± 1.4	18.7 ^d ± 1.2

Tabla 3.1. Evolución de los parámetros de crecimiento durante el desarrollo de lechuga.

¹ DDT: días después del trasplante.

* Logaritmo natural del peso fresco.

^{abc} Valores medios con letras diferentes dentro de la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

El análisis del peso fresco de la planta (realizado a través de la variable transformada) mostró que no se detectaron diferencias significativas en el peso de lechuga durante las tres primeras fechas de muestreo. Después de esto, un continuo y significativo incremento ($p = 0.0003$) fue detectado en las sucesivas fechas de cosecha hasta el día 85 DDT. Finalmente, no se detectaron diferencias significativas en los pesos de lechugas cosechadas en las últimas dos fechas de muestreo (85 y 92 DDT), cuando las plantas alcanzaron valores finales de 224.2 ± 17.8 g.

Defilipis *et al.* (2006), estudiando la respuesta al riego de lechuga mantecosa cultivada en invernaderos de la zona de Rosario, encontraron que el peso fresco de las plantas de lechuga recién cosechadas estuvo en el rango de 246.81 a 254.97 g por planta. El valor final de peso fresco encontrado en el presente capítulo puede considerarse del orden de los reportados por Defilipis *et al.* (2006). Sin embargo, estos valores son considerablemente menores a los característicos para esta variedad de lechuga según productores de la zona de Mar del Plata (Benítez, 2007; Figueroa, 2007) y a los informados en la bibliografía como valores típicos de peso de lechuga mantecosa (400 – 600 g, Galván Vivero y Rodríguez Lagreca, (2010)). Estas diferencias se atribuyen al hecho ampliamente aceptado que el peso fresco de las plantas varía en función de un gran número de factores, tales como la época del año, los niveles de fertilización y riego utilizados, las condiciones agroclimáticas durante el crecimiento (temperatura, iluminación, humedad relativa del ambiente, etc.), enfermedades y plagas durante el crecimiento, entre otras (Pavlou *et al.*, 2007; Di Benedetto, 2005). Para el caso bajo estudio, el cultivo se llevó a cabo en otoño – invierno, época del año en el que se registran las menores temperaturas y que trae asociados cultivos con menor peso fresco por unidad de producto (Di Benedetto, 2005; Wien, 1997).

Se utilizó el modelo logístico para caracterizar la evolución del peso fresco de las plantas. El modelo propuesto ajustó adecuadamente los datos experimentales (transformados) de acuerdo al alto coeficiente de regresión ($R^2= 0.99$) con parámetros del modelo $a= 1.41$, $d= 12.15$, y $c= 0.175$ día⁻¹. La **Figura 3.2(A)** presenta los datos experimentales junto con el ajuste al modelo logístico.

Los resultados obtenidos para la evolución de la materia seca durante el crecimiento fueron similares a los observados para los incrementos del peso fresco: no se observaron diferencias significativas en la materia seca de plantas cosechadas en las primeras tres fechas de cosecha. Luego, esta variable experimentó un significativo incremento ($p= 0.0003$) hasta el día 85 DDT, y en las últimas dos fechas de muestreo no se detectaron diferencias significativas. Los valores finales de materia seca (18.9 ± 1.4 g) resultaron inferiores a los informados en la bibliografía. Carranza *et al.* (2009), estudiando el crecimiento de lechuga 'Batavia' en suelo salino, encontraron un incremento progresivo de materia seca durante el crecimiento de lechuga hasta alcanzar un máximo de 21.44 g, mientras que Premuzcic *et al.* (1995), investigando la absorción y distribución de macronutrientes en lechuga del cultivar 'Maravilla de las 4 estaciones', encontraron un valor máximo de materia seca de 22.5 g. La cantidad de materia seca que un tejido vegetal contiene es resultado del balance entre los procesos fisiológicos de fotosíntesis (que acumula fotoasimilados), respiración (que consume reservas) y traslocación de fotoasimilados desde ese tejido hacia otros. En el caso de la lechuga, la traslocación ocurre principalmente desde las hojas maduras hacia las hojas más

jóvenes y en crecimiento, de modo que los fotoasimilados permanecen en la porción comestible del producto. Por lo tanto, los procesos fisiológicos que afectan el contenido de materia seca de plantas de lechuga son la fotosíntesis y la respiración. Cambios en los factores que afectan estos procesos (temperatura, condiciones de luz, concentración de CO₂ y O₂ en el invernadero, estrés por escasez de agua o nutrientes, entre otros) pueden ser responsables de las diferencias encontradas con los valores informados en la bibliografía. Además, el material genético utilizado en cada estudio (diferente variedad de lechuga) también puede introducir diferencias. El modelo logístico (**Figura 3.2(B)**) con los parámetros $a= 15.96$ g; $d= 11.48$; y $c= 0.157$ g.día⁻¹), ajustó adecuadamente los datos experimentales de materia seca tal como lo muestra el alto coeficiente de regresión obtenido ($R^2= 0.99$). Carranza *et al.* (2009) y Premuzic *et al.* (1995), también modelaron la evolución de la materia seca de las plantas de lechuga utilizando el modelo logístico con velocidades de crecimiento (c) de 0.1103 y 0.092 g. día⁻¹, respectivamente.

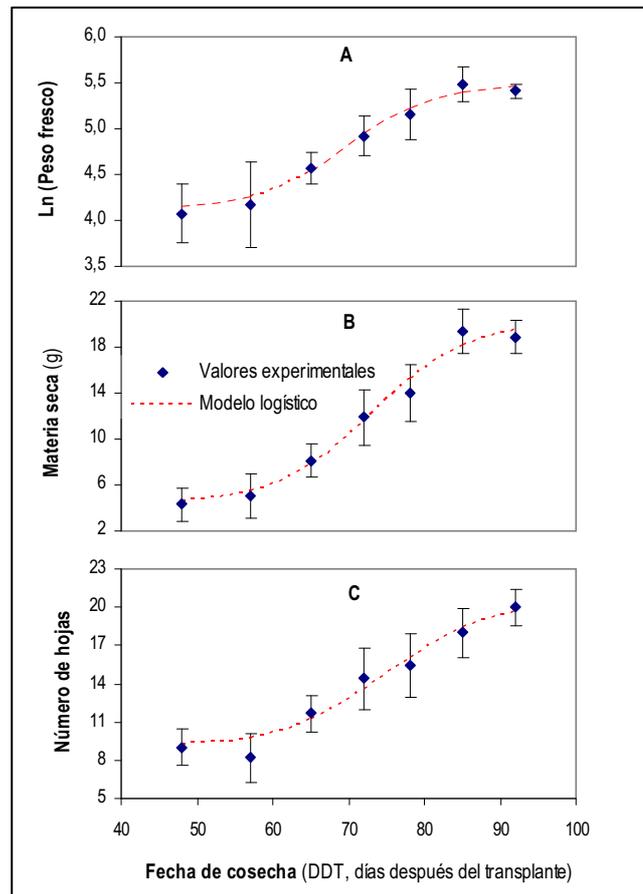


Figura 3.2. Evolución del Ln(peso), materia seca y número de hojas durante el crecimiento de lechuga. Las líneas muestran el modelo logístico ajustado en cada caso.

La evolución registrada en el número de hojas de lechuga a lo largo del crecimiento fue similar a aquellas observadas para el peso fresco y la materia seca: no se observaron diferencias

significativas en el número de hojas de plantas cosechadas en las primeras tres fechas de cosecha. Después, la lechuga experimentó un significativo incremento en el número de hojas ($p= 0.0003$) hasta el día 85 DDT, y en las últimas dos fechas de muestreo (85 y 92 DDT) no se detectaron diferencias significativas. Los cultivares de lechuga de cabeza generalmente producen 13 a 20 hojas antes de que comience la formación de la cabeza (Wurr *et al.*, 1987). El modelo logístico (**Figura 3.2(C)**), con parámetros de modelo $a= 11.47$ hojas; $d= 11.03$; y $c= 0.147$ hoja.día⁻¹, ajustó adecuadamente los datos experimentales tal como lo muestra el coeficiente de regresión obtenido ($R^2= 0.98$).

Durante las primeras fechas de muestreo (hasta el día 65 DDT) hubo una suspensión en los incrementos de peso fresco y número de hojas. La lechuga presentó una limitación o una suspensión de crecimiento durante estas primeras etapas. Este comportamiento puede constituir un mecanismo de adaptación a condiciones ambientales adversas, tales como las bajas temperaturas (Wien, 1997). Los datos meteorológicos obtenidos del boletín mensual agroclimático (Boletín agroclimático, 2008) mostraron que durante Junio y Julio de 2007 las temperaturas mínimas registradas fueron las más bajas de los últimos 30 años con valores tan bajos como -4.0 °C con valores medios de -0.2 a 0.6 °C. Bajo estas condiciones invernales desfavorables, hubo una suspensión en el crecimiento de la lechuga y las plantas entraron en un período de latencia. Estos inusuales valores de temperatura registrados durante el crecimiento pudo afectar el peso final de las plantas, dando lugar a unidades con peso fresco menor al registrado tradicionalmente en este tipo de producto. Después de este stress climático, una recuperación en las temperaturas medias permitió a las plantas continuar su crecimiento y se observaron incrementos en el peso fresco y en la diferenciación de hojas hasta las últimas dos fechas de muestreo (días 85 y 92 DDT). El detenimiento en el crecimiento y desarrollo observados en las plantas de lechuga hacia el final del período de crecimiento vegetativo puede deberse a que las lechugas probablemente presenten un período estacionario antes del comienzo de la etapa reproductiva. Sin embargo, cambios en la morfología y la orientación de la hoja podría tener lugar durante la transición de la etapa vegetativa a la etapa reproductiva y estos cambios no fueron detectados en el presente estudio.

Teniendo en cuenta los resultados presentados para los índices de crecimiento y los análisis estadísticos se dividió el período de desarrollo de la lechuga en tres fases:

- Fase 1 (período de latencia): primeras tres fechas de cosecha, hasta el día 65 DDT;
- Fase 2 (período de crecimiento): desde el día 65 DDT hasta el día 85 DDT;
- Fase 3 (período de pre-floración): últimas dos fechas de cosecha, 85 y 92 DDT.

Resumiendo los resultados hasta aquí presentados, el momento de cosecha tiene un impacto significativo sobre el rendimiento (expresado en peso fresco por unidad, materia seca por unidad, o en número de hojas por unidad). En general, cuanto más tardía es la cosecha es posible lograr mayores rendimientos, la planta logra mayor cantidad de biomasa. Sin embargo, si el período de cosecha se extiende demasiado, la planta puede detener su crecimiento y no se logran mejores rindes aún cuando la planta sigue fotosintetizando y consumiendo agua, con el riesgo de entrar en floración.

3.2. Impacto del grado de desarrollo sobre los índices de status de agua

La **Figura 3.3** muestra los perfiles típicos de RWC en función de la posición de la hoja en la planta, tanto para lechuga recién cosechada como para lechuga luego del almacenamiento refrigerado, obtenidos para las *Fases 1, 2 y 3*. Los perfiles mostrados para cada fase corresponden a una de las fechas de cosecha que integra dicha fase. En el análisis de la evolución del RWC en función de la fecha de cosecha, el ANOVA aplicado a los resultados mostró una interacción significativa entre los factores del análisis (FECHA y HOJA) indicando que el perfil de este índice dentro de la planta fue diferente en función de la fecha de cosecha, es decir del grado de desarrollo alcanzado por la planta al momento de la cosecha. Así, al comienzo de la *Fase 1* (48 DDT), se encontró un gradiente de RWC en la plantas recién cosechadas con valores mayores en las hojas más maduras, decreciendo linealmente hacia las hojas más jóvenes ($y = -N + 95.25$, $R^2 = 0.95$, $n = 54$). A medida que se avanzó en las fechas de cosecha correspondientes a esta primera fase, se observó una disminución en la pendiente de las líneas de tendencia que caracterizó el gradiente, encontrándose al final de la *Fase 1* (65 DDT) un perfil de RWC menos marcado ($y = -0.48.N + 92.07$, $R^2 = 0.86$, $n = 72$). En la **Figura 3.3** se muestra solamente el perfil de RWC correspondiente a la primera fecha de cosecha (48 DDT, *Fase 1*). Este resultado indicó que, aunque no se observaron cambios en el peso y número de hojas durante la *Fase 1* (**Tabla 3.1**), ocurrieron importantes cambios en la capacidad de los tejidos de mantener agua. Más aún, aunque no se observaron diferencias visuales en la morfología de las hojas de la planta, es decir que no se pudo detectar secciones definidas dentro de cada planta, las hojas más jóvenes presentaron menor capacidad de mantener agua que las externas. Los datos de RWC de lechuga fresca en las *Fases 2 y 3* también mostraron valores de RWC más altos en las hojas externas con respecto a las internas, sin embargo las diferencias fueron menos pronunciadas que las detectadas en la *Fase 1*. Adicionalmente, no se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en las pendientes de las líneas de tendencia para estas dos fases con un valor medio en la pendiente igual a 0.45 ± 0.04 . En la *Fase 3* las hojas

externas tuvieron un valor medio de RWC de 91.48 ± 0.74 mientras que las internas tuvieron un valor de 83.50 ± 0.60 . Las diferencias en el RWC entre hojas externas e internas puede atribuirse a diferentes grados en la capacidad de mantener agua de los tejidos, presumiblemente debido a diferencias en el grado de desarrollo del tejido y la función metabólica que ambas secciones deben cumplir: externa como exportador de fotoasimilados e interna como importador de los mismos, tal como se analizó en el Capítulo I.

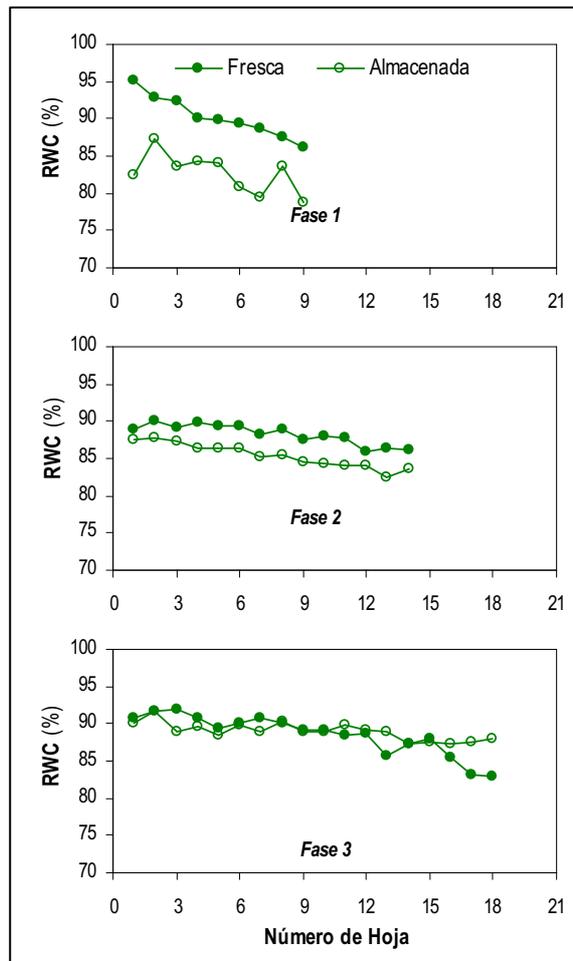


Figura 3.3. Perfiles típicos de RWC en plantas de lechuga (fresca -●- y almacenada durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo.

El análisis estadístico del RWC luego del almacenamiento refrigerado, indicó que el comportamiento de este índice fue dependiente del grado de desarrollo de la planta al momento de la cosecha. Así, para las plantas cosechadas en la *Fase 1*, los perfiles de RWC obtenidos después de 7 días de almacenamiento, fueron significativamente diferentes con respecto a aquellos obtenidos para lechuga fresca, con valores de RWC menores en las muestras almacenadas. Este resultado puede indicar que las lechugas menos desarrolladas (*Fase 1*) fueron incapaces de mantener su capacidad de retener agua durante el almacenamiento. A medida que el desarrollo

avanzó, se observaron menores diferencias en el RWC entre muestras frescas y almacenadas. Para las plantas cosechadas en la Fase 3, no se observaron cambios en el RWC de las hojas más externas de las plantas luego del almacenamiento, mientras que para las hojas más internas se observó un incremento en este índice. La concentración de osmolitos tales como azúcar, sal y otros solutos hidrofílicos contenidos en las vacuolas determina el potencial de agua de las células, es decir la capacidad de la célula de aceptar (y retener) agua (Alzamora *et al.*, 2000). Por lo tanto, el mantenimiento del RWC en las muestras almacenadas, a medida que avanza el desarrollo, podría resultar de cambios en la producción de osmolitos celulares que ayudan a mantener la presión celular de turgencia dentro de la célula de los tejidos durante el almacenamiento incrementando el nivel de hidratación de las hojas.

La **Figura 3.4** muestra los perfiles típicos de WC en función de la posición de la hoja dentro de la planta, tanto para lechugas recién cosechadas (frescas) como para lechugas almacenadas, obtenidos para las Fases 1, 2 y 3. El perfil mostrado para cada fase corresponde a un perfil típico de una de las fechas de cosecha que integra dicha fase.

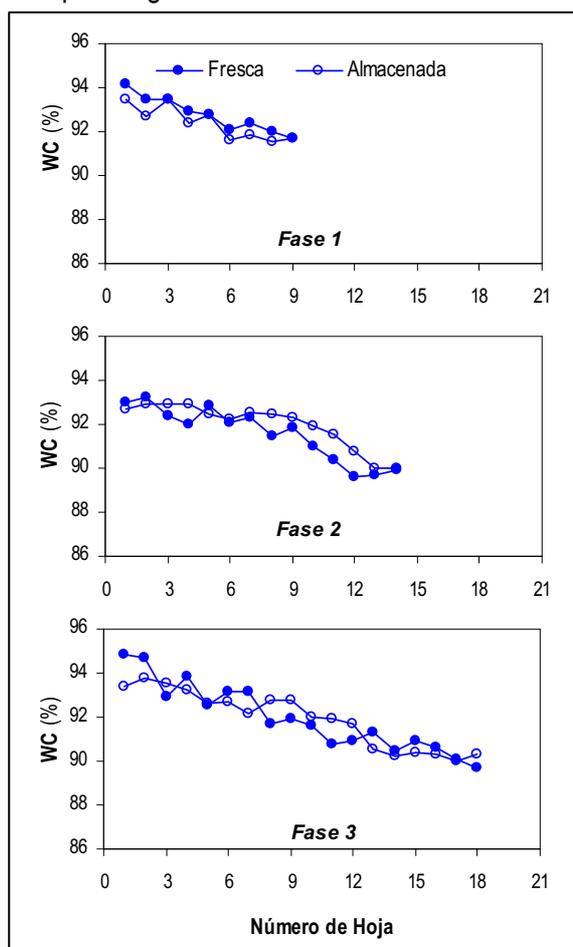


Figura 3.4. Perfiles típicos de WC en plantas de lechuga (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo.

El ANOVA aplicado a los datos de WC de las plantas al momento de la cosecha presentó una interacción significativa entre los factores del análisis, indicando que el perfil de WC en las plantas fue función del grado de desarrollo que presentaban las mismas al momento de la cosecha. En general, se observó un gradiente lineal en el WC dentro de las plantas recién cosechadas en todas las etapas de desarrollo, siendo los valores de WC en las hojas más maduras mayores que los correspondientes a las más jóvenes. La interacción se manifestó en las pendientes de las líneas de tendencia que caracterizó el gradiente de cada fase, tendiendo a disminuir a medida que el desarrollo avanzó. Las medias de las pendientes en cada fase fueron: -0.303 ± 0.012 , -0.273 ± 0.029 y -0.255 ± 0.021 para las Fases 1, 2 y 3, respectivamente. En primer lugar, el gradiente de WC detectado en cada planta puede estar relacionado con el grado de desarrollo de las hojas dentro de la misma planta (Capítulo I, inciso 3.1.2). Por otra parte, los valores de WC obtenidos para plantas cosechadas en los últimos estadios de desarrollo (Fase 3) fueron menores que los encontrados en la caracterización inicial (Capítulo I, inciso 3.1.2). Las diferencias fueron encontradas principalmente en las hojas internas y pueden ser atribuidas al grado de acogollado que presentaron las plantas en cada corrida experimental. En la corrida experimental previa, la lechuga utilizada presentaba una densa cabeza cubierta por hojas medias y externas. Esta morfología de hoja interna puede prevenir la pérdida de agua por evaporación resultando en un mayor WC con respecto al obtenido en las hojas internas de la presente corrida experimental que estuvieron más expuestas directamente al ambiente sin cobertura de hojas medias y externas. La causa de esta diferente morfología puede radicar en las bajas temperaturas detectadas durante el crecimiento de las plantas (Boletín agroclimático, 2008) que dificultaron el acogollado de la lechuga (Defilipis *et al.*, 2006).

La comparación entre los datos de WC de lechugas frescas y almacenadas denotó que no hubo diferencias significativas entre ambos perfiles en ninguna de las fases analizadas. El contenido de agua de la hoja es un indicador útil del balance de agua de la planta que expresa la cantidad relativa de la misma en el tejido vegetal e indica las variaciones en el contenido de agua de estos tejidos debidas a cambios en la presión de vapor de agua en la atmósfera que rodea la planta. El hecho de no encontrar diferencias significativas en el WC de plantas almacenadas y frescas fue un resultado predecible debido a que el almacenamiento se llevó a cabo en condiciones óptimas de humedad (atmósfera saturada). Aún cuando no se detectaron cambios medibles en el WC en las plantas almacenadas, los perfiles de RWC sí mostraron un descenso en el valor de los mismos después del almacenamiento (**Figura 3.1**). De esta manera, el índice RWC resultó ser más sensible que el WC porque fue capaz de expresar cambios estructurales en los tejidos vegetales como

respuesta al grado de desarrollo y al efecto del almacenamiento. Estos resultados indican que durante el almacenamiento, aún en condiciones óptimas, ocurren cambios en los tejidos vegetales, posiblemente a nivel de membrana, con variaciones en la capacidad de retener agua.

La **Figura 3.5** presenta los perfiles típicos de agua libre (FW) en función de la posición de la hoja dentro de la planta tanto para lechugas recién cosechadas como para lechugas almacenadas, obtenidos para las *Fases 1, 2 y 3*. El perfil mostrado para cada fase corresponde a un perfil típico de una de las fechas de cosecha que integra dicha fase.

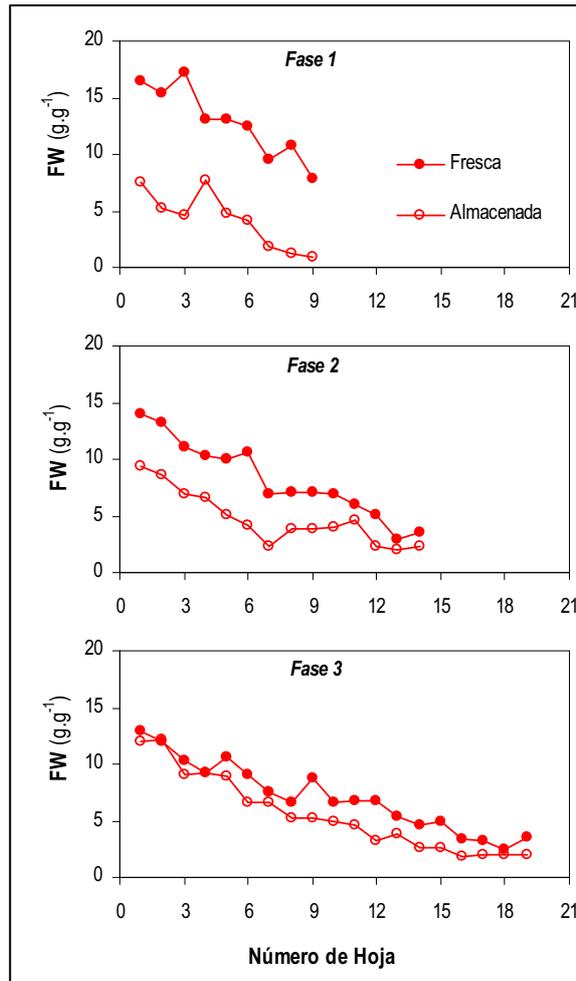


Figura 3.5. Perfiles típicos de FW en plantas de lechuga (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo.

El ANOVA aplicado a los resultados correspondientes a las plantas recién cosechadas mostró una interacción significativa entre los factores FECHA y HOJA, indicando que el perfil de FW dentro de la planta fue función del grado de desarrollo de la planta al momento de la cosecha. En general, para todas las fases se encontró que el FW decreció significativamente desde las hojas más maduras (más externas) hacia las más jóvenes (más internas), siguiendo una tendencia lineal.

Sin embargo, a medida que el desarrollo avanzó las diferencias en el FW entre hojas externas e internas fueron disminuyendo. De esta manera, las pendientes de las líneas de tendencia fueron: -1.03 ± 0.05 , -0.77 ± 0.18 y -0.52 ± 0.03 para las Fases 1, 2 y 3, respectivamente.

El análisis estadístico de los resultados de FW obtenidos para las plantas almacenadas indicó que el comportamiento del índice durante la post-cosecha fue dependiente del grado de desarrollo de las plantas al momento de la cosecha. En general, los perfiles seguidos por el FW en lechugas almacenadas tuvieron el mismo patrón que las muestras frescas (tendencia lineal) con pendientes similares. Sin embargo, para las plantas cosechadas en la Fase 1 se registró un descenso significativo ($p < 0.0001$) en el FW luego del almacenamiento. Las hojas más maduras de las plantas cosechadas en esta fase y almacenadas durante 7 días, presentaron un descenso promedio del 55 % respecto de las plantas frescas, mientras que las hojas más jóvenes de estas plantas presentaron un descenso del 90 % en los valores de FW luego del almacenamiento refrigerado. Por su parte, las plantas cosechadas en la Fase 2 de desarrollo también presentaron descensos significativos en el FW luego del almacenamiento. Sin embargo, las reducciones encontradas (30 % aproximadamente) fueron de menor valor que en el caso anterior. Finalmente, las plantas cosechadas en la Fase 3 de desarrollo, mantuvieron los valores de FW más cercanos a los registrados al inicio del almacenamiento, especialmente en las hojas más externas de la planta. Teniendo en cuenta estos resultados, es evidente que el grado de desarrollo de la planta al momento de realizar la cosecha tiene un impacto significativo no sólo en los índices de calidad al momento de la cosecha, sino también en su desempeño durante la post-cosecha. El contenido de agua libre disminuyó drásticamente en las plantas más jóvenes (cosechadas en la Fase 1), sin embargo, no se detectaron cambios en el contenido de agua (WC), por lo tanto la disminución en el agua libre de las plantas no se debió a pérdida de agua por parte del tejido (que indicaría cierto grado de deshidratación). Anticipando los resultados hallados para el índice BW, se encontraron aumentos en el contenido de agua unida durante el almacenamiento refrigerado, que podrían indicar movimientos de agua dentro de la planta. El intercambio entre el agua libre y el agua unida a lo largo del almacenamiento fue probablemente forzado por cambios en la concentración de solutos en la planta.

La **Figura 3.6** muestra los perfiles típicos de agua unida (BW) tanto para lechugas frescas como para plantas almacenadas, para las tres fases de desarrollo. El perfil mostrado para cada fase se corresponde con una de las etapas que integró dicha fase. El análisis estadístico de los resultados obtenidos para las plantas frescas, indicó una interacción significativa entre los factores del análisis: las características del perfil de BW encontrado fue dependiente del grado de desarrollo

de las plantas al momento de la cosecha. Así, para las Fases 1 y 2 no se detectaron diferencias en el BW entre hojas maduras y jóvenes, ni diferencias entre las fases, siendo el valor medio de BW $6.75 \pm 1.18 \text{ g.g}^{-1}$. En la Fase 3, en cambio, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.01$) en el agua unida entre hojas externas e internas, siendo mayores los valores registrados para las hojas más jóvenes. Este perfil de BW creciente desde las hojas más maduras (con promedio de $6.1 \pm 0.7 \text{ g.g}^{-1}$) hacia las más jóvenes (con promedio de $9.5 \pm 0.6 \text{ g.g}^{-1}$) también fue encontrado en la caracterización inicial (Capítulo I, inciso 3.1).

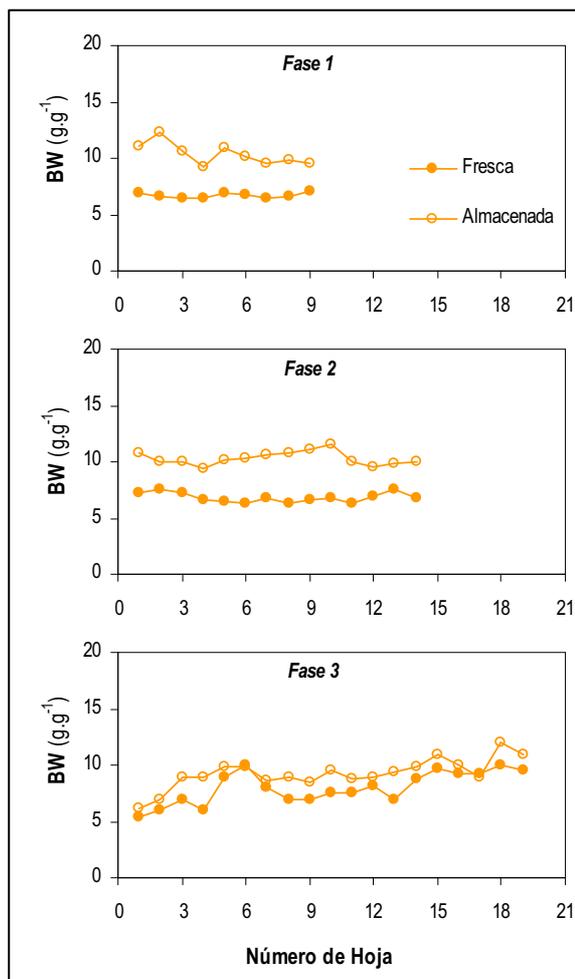


Figura 3.6. Perfiles típicos de BW en plantas de lechuga (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo.

El análisis de los resultados de BW de plantas luego del almacenamiento refrigerado indicó que el grado de desarrollo alcanzado al momento de la cosecha también impactó sobre el comportamiento del índice en la post-cosecha. Para las plantas cosechadas en las Fases 1 y 2, el BW presentó un aumento significativo durante el almacenamiento, mientras que para las plantas cosechadas en una fase más avanzada previa a la floración, los valores de BW aumentaron de manera más moderada y principalmente en las hojas medias e internas de la planta. De este modo,

las reducciones detectadas en el FW, acompañadas de incrementos en el BW (en plantas cosechadas en estas dos Fases) podrían estar indicando movimientos e intercambios entre el agua libre y agua unida. Así, las plantas más jóvenes, en plena actividad metabólica, podrían responder a la cosecha (corte en el suministro de nutrientes) y al almacenamiento refrigerado (baja temperatura) ligando parte de su agua libre. El análisis de la evolución de estos índices durante el almacenamiento refrigerado durante un período más extenso (Capítulo IV) permitirá a estudiar este fenómeno en detalle y corroborar esta hipótesis.

La **Figura 3.7** presenta los perfiles típicos de la relación agua libre a agua total (FW/TW) obtenidos tanto para lechuga recién cosechada como para lechuga almacenada, para las tres fases del desarrollo analizadas. El perfil presentado en cada fase corresponde a una etapa que conforma dicha fase.

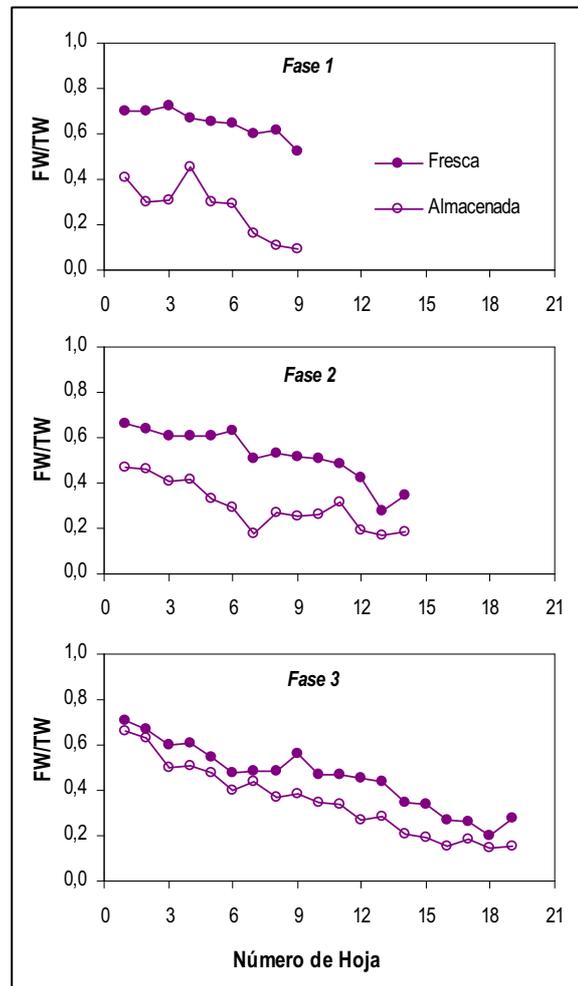


Figura 3.7 Perfiles típicos de FW/TW en plantas de lechuga cosechadas (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) en diferentes fases de desarrollo.

El ANOVA aplicado a los resultados de FW/TW obtenidos para las plantas recién cosechadas presentó una interacción significativa entre los factores del análisis. En general, en las

tres fases analizadas, la relación FW/TW de las plantas frescas presentó un descenso desde las hojas más maduras (más externas) hacia las más jóvenes (más interna). Sin embargo, el gradiente fue mayor en las plantas cosechadas en las fases más avanzadas de desarrollo. De este modo, las plantas cosechadas en los primeros estadios de desarrollo (*Fase 1*) presentaron un gradiente de 0.2 puntos en este índice, desde valores cercanos a 0.7 en las hojas más maduras hasta 0.5 en las hojas menos desarrolladas. Para las plantas cosechadas en los estadios más avanzados de desarrollo (*Fase 3*) el gradiente de FW/TW entre hojas externa e internas fue de 0.4 puntos, desde 0.7 hasta 0.3.

El análisis del FW/TW para las plantas almacenadas, indicó, al igual que en los índices anteriores, que el grado de desarrollo al momento de la cosecha también tiene impacto significativo sobre el comportamiento del FW/TW durante el almacenamiento refrigerado. Se encontró un descenso significativo ($p < 0.01$) en el FW/TW de las lechugas almacenadas respecto de las frescas, siguiendo la misma tendencia decreciente dentro de la planta (con mayores valores en las hojas externas que en las internas). Sin embargo, a medida que la planta fue cosechada en estadios más avanzados de su desarrollo, el descenso detectado fue menor. El agua total de la planta está constituida por la suma del agua libre y del agua unida. Dado que el contenido de agua no sufrió variaciones a lo largo del almacenamiento (**Figura 3.3**), un descenso en el índice FW/TW en las lechugas almacenadas puede constituir también una evidencia del movimiento del agua dentro de la planta como respuesta al almacenamiento refrigerado.

Resumiendo los resultados presentados en este inciso, el grado de desarrollo alcanzado por la planta al momento de la cosecha impacta sobre el status de agua de la planta fresca y también sobre el comportamiento de los índices de status de agua durante el almacenamiento refrigerado. Las plantas cosechadas en estadios tempranos no son capaces de mantener niveles altos de RWC, FW y FW/TW, pudiendo tener consecuencias sobre la calidad y vida útil post-cosecha. Las plantas cosechadas en la *Fase 3*, lograron mantener estos valores indicando que el tejido cuenta con la madurez adecuada a nivel fisiológico, lo que le permite retener mejor el agua en el interior de las células.

3.3. Impacto del grado de desarrollo sobre los atributos sensoriales

Independientemente de la fase de desarrollo en que fueron cosechadas las plantas, los jueces otorgaron el máximo puntaje al tiempo 0, es decir al momento de la cosecha. Es generalmente aceptado que el almacenamiento introduce alguna degradación en la apariencia de

las cabezas de lechuga, principalmente en la pérdida de textura, la extensión de la decoloración y el desarrollo de pardeamiento. La **Tabla 3.2** presenta los datos sensoriales obtenidos para las lechugas cosechadas en distintas fases de desarrollo, luego de 7 días de almacenamiento refrigerado.

Fase	Descriptor				
	Color	Brillo	Textura	Pardeamiento	Defectos
1	1.8 ± 0.3 ^a	2.1 ± 0.3 ^a	5.2 ± 0.8 ^a	7.5 ± 0.7 ^a	6.7 ± 0.4 ^a
2	1.1 ± 0.3 ^b	1.4 ± 0.5 ^b	2.8 ± 0.7 ^b	4.5 ± 0.9 ^b	4.0 ± 0.3 ^b
3	1.1 ± 0.3 ^b	1.3 ± 0.4 ^b	1.4 ± 0.6 ^b	2.1 ± 0.3 ^c	2.4 ± 0.2 ^c

Tabla 3.2. Valores medios junto con la desviación estándar obtenidos para los descriptores sensoriales para lechuga almacenada (7 días) en función del grado de desarrollo de la planta al momento de la cosecha.

^{abc} Valores con letras diferentes indican diferencias significativas para las comparaciones dentro de la misma columna.

Una vez más, el ANOVA aplicado sobre cada uno de los descriptores de calidad organoléptica indicó que el grado de desarrollo de la planta en el momento de la cosecha tiene un impacto significativo sobre estos indicadores. De esta manera, se encontraron diferencias menores en relación al color verde y brillo en las lechugas almacenadas en función del grado de desarrollo al momento de la cosecha. Los jueces fueron capaces de detectar solo una pequeña decoloración y ausencia de brillo en las lechugas cosechadas en las etapas más tempranas (*Fase 1*). El color y el brillo de las lechugas cosechadas en las etapas más tardías de desarrollo (*Fases 2 y 3*) fueron calificados como “apariencia fresca”. Con respecto a la textura, una pérdida moderada fue percibida sólo en las lechugas cosechadas en la *Fase 1* de desarrollo. Esta pérdida de textura puede estar relacionada con la reducción en el RWC encontrada para estas plantas y a los cambios en el contenido de agua libre y agua unida de los tejidos que pudieron conducir a la incapacidad para retener el grado de hidratación óptimo durante el almacenamiento (menores valores de RWC después del almacenamiento). El principal desorden observado en lechuga luego del almacenamiento fue el grado de pardeamiento desarrollado en la base de la lechuga debido al corte realizado durante la cosecha (*butt stem browning*). Este descriptor presentó diferencias en función de la etapa de desarrollo en la que fue cosechada la planta. Mientras que las lechugas cosechadas en la *Fase 1* presentaron un pardeamiento severo en la base de corte que se extendió hacia las nervaduras, las lechugas cosechadas de la *Fase 2*, presentaron un pardeamiento moderado en la base de corte extendiéndose a las nervaduras. Cuando la cosecha se llevó a cabo en la *Fase 3*, las lechugas solo presentaron un leve pardeamiento en la base de corte mientras que las nervaduras conservaron su apariencia fresca. El pardeamiento enzimático es una de las principales causas de pérdida de calidad organoléptica durante el procesamiento y almacenamiento de lechuga. Teniendo

en cuenta que la presencia de pardeamiento enzimático generalmente tiene un impacto negativo en la decisión del consumidor, las plantas cosechadas en la *Fase 3* de desarrollo fueron las que mejor mantuvieron su calidad visual en la post-cosecha. Con respecto a la evaluación de la presencia o ausencia de defectos, los jueces detectaron algunas manchas marrones además de daño mecánico en las plantas almacenadas más jóvenes (*Fase 1*). La lechuga cosechada en la *Fase 3* mostró menos defectos y esto estuvo expresado por el bajo valor asignado por los jueces a estas muestras.

La **Figura 3.8** muestra el índice OVQ (calidad visual general) de las plantas cosechadas en diferentes fases y almacenadas durante siete días.

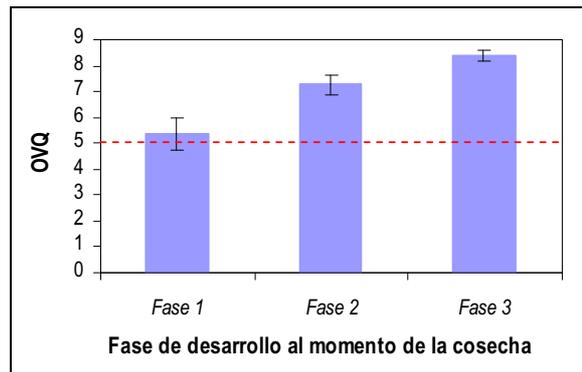


Figura 3.8. Calidad visual general de plantas luego del almacenamiento en condiciones óptimas para lechuga (0 – 2°C y 97-99%HR) durante 7 días.

Como se esperaba, las plantas cosechadas en la *Fase 1* tuvieron un bajo puntaje en el OVQ, y este hecho está de acuerdo con la puntuación obtenida para los descriptores sensoriales individuales. Luego de siete días de almacenamiento, las lechugas cosechadas en la madurez óptima mostraron los valores más altos de OVQ cerca del óptimo (9 puntos). Este hecho era esperado porque el período de almacenamiento no se extendió y las condiciones durante el almacenamiento fueron óptimas para este vegetal.

Los mejores atributos de calidad (basados en los descriptores de calidad y OVQ) después del almacenamiento, fueron observados en lechugas cosechadas en la madurez óptima (*Fase 3*). En esta etapa, las lechugas estabilizaron su capacidad de mantener agua de su tejido y tuvo menor agua disponible en la zona externa (menos agua libre y más agua unida). Estos hechos deben mejorar el grado de hidratación celular durante el almacenamiento, teniendo un impacto importante en la calidad visual de las muestras de lechuga.

4. CONCLUSIONES

Cuándo cosechar un cultivo es usualmente una de las decisiones más difíciles que un productor debe llevar a cabo debido a que debe evaluar varios factores tales como madurez de la planta, necesidad de espacio en el invernadero, la ley de la oferta y la demanda, entre otros. La madurez en el momento de la cosecha tiene también una importante influencia en la calidad del producto y su vida útil.

El grado de desarrollo de la planta al momento de realizar la cosecha afectó todas las variables de crecimiento, la calidad fisiológica de las plantas recién cosechadas, la evolución de los índices de calidad fisiológica durante el almacenamiento refrigerado y la calidad organoléptica de las plantas en el almacenamiento post-cosecha de las mismas.

El crecimiento de las plantas expresado en materia seca, peso fresco y número de hojas siguió un modelo logístico, con una fase inicial de latencia en la que no se evidenciaron cambios en las variables de crecimiento (*Fase 1*), seguida por un período de crecimiento neto en la que todas las variables se incrementaron (*Fase 2*) y finalmente un período de detenimiento en la evolución de los indicadores donde no se detectaron aumentos significativos de peso, número de hojas ni materia seca (*Fase 3*).

Los perfiles obtenidos para los índices de status de agua en las plantas recién cosechadas tuvieron características particulares en función del grado de desarrollo de las plantas al momento de la cosecha. En general, las plantas cosechadas en los primeros estadios de desarrollo presentaron gradientes agudos en estos índices que fueron moderándose hasta los estadios finales de desarrollo. A su vez, la respuesta de estos indicadores al almacenamiento refrigerado también fue afectada por el grado de desarrollo de la planta. Así, las plantas cosechadas en la fase temprana presentaron drásticas disminuciones de RWC, FW y FW/TW, mientras que las plantas cosechadas en la fase final fueron capaces de retener el nivel de hidratación óptimo durante el período de almacenamiento ensayado. Como la lechuga es una hortaliza altamente perecedera cuya calidad y vida útil están limitadas por la deshidratación, es importante para la hoja de la lechuga permanecer bien hidratada con el objetivo de mantener los atributos sensoriales como textura y apariencia durante largos períodos de almacenamiento.

El grado de desarrollo al momento de la cosecha también afectó la calidad organoléptica de las lechugas durante el almacenamiento, principalmente a través del pardeamiento. Las plantas jóvenes de lechuga (cosechadas en la *Fase 1*) fueron severamente afectadas por el pardeamiento enzimático en la zona de corte y en las hojas y presentaron moderada pérdida de textura. Las

plantas cosechadas en un estadio de desarrollo más avanzado (*Fase 3*) fueron las que mantuvieron su calidad organoléptica durante el almacenamiento.

En consecuencia, se recomienda cosechar la lechuga cuando ha alcanzado la *Fase 3* de desarrollo, cuando ya no se manifiestan cambios en el peso, no solo porque se logran beneficios económicos para los productores (mayor peso, mayor precio, venta por peso) sino también porque la respuesta fisiológica de las plantas durante el almacenamiento refrigerado permitió mantener la calidad óptima con respecto a otras plantas cosechadas más tempranamente.

CAPÍTULO IV

ALMACENAMIENTO EN CONDICIONES ÓPTIMAS Y SUB-ÓPTIMAS

Esquema conceptual

Índices evaluados:

- Contenido de agua relativo (RWC)
- Contenido de agua (WC)
- Contenido de agua libre (FW)
- Contenido de agua unida (BW)
- Relación agua libre a agua total (FW/TW)
- Contenido de ácido ascórbico (AA)
- Contenido de clorofila (C)
- Recuentos de poblaciones microbianas (Log (UFC/g TF))
- Calidad visual global (OVQ)

Seguimiento

- Durante el almacenamiento en condiciones óptimas.
- Durante el almacenamiento en condiciones sub-óptimas.

Modelo

- Secciones de la planta: externa, media e interna.
- Modelos de variación de índices de calidad en función del tiempo.

CAPÍTULO IV:

ALMACENAMIENTO EN CONDICIONES ÓPTIMAS Y SUB-ÓPTIMAS

1. INTRODUCCIÓN

El ambiente al que son expuestos los vegetales frescos recién cosechados tiene un efecto altamente significativo sobre la vida útil de estos productos (Paull, 1999). La temperatura (T) y la humedad relativa (HR) de la atmósfera que rodea al producto hortícola son los dos factores principales que están involucrados en su conservación post-cosecha y que afectan en gran medida su calidad organoléptica (Nunes *et al.*, 2009). En consecuencia, la aceptabilidad por parte del consumidor es afectada por las dos variables mencionadas.

El efecto de la temperatura sobre la calidad de los vegetales es bien conocido: las bajas temperaturas son usualmente recomendadas durante la manipulación del producto fresco, recomendándose una temperatura óptima de almacenamiento para cada hortaliza en particular. La reducción de la temperatura es una práctica comúnmente conocida y aceptada y constituye la manera más simple y fácil para retrasar el deterioro del vegetal (Nunes *et al.*, 2009; Paull, 1999).

Por su parte, también es conocido que la HR del ambiente tiene una relación directa con la pérdida de agua del producto durante el almacenamiento (Nguyen *et al.*, 2007). Como la HR es función de la temperatura, ambientes con iguales condiciones de HR pero con distinta temperatura pueden generar pérdidas de agua diferentes. Esto hace necesaria la utilización del concepto de déficit o diferencia de presión de vapor (DPV), que es independiente de la temperatura y constituye la verdadera fuerza impulsora para la pérdida de agua del producto. El DPV es equivalente a la diferencia o gradiente de presión de vapor de agua entre el espacio interno (intercelular) del tejido y el ambiente que lo rodea (Hertog *et al.*, 2004; Maguire *et al.*, 2001) ya que normalmente se asume que el aire contenido en los espacios intercelulares del tejido está saturado (Paull, 1999). Cuando el

producto es expuesto a ambientes con altos DPV, ocurren pérdidas de agua desde el producto y, en consecuencia, pérdidas de peso y turgencia, marchitamientos, entre otros efectos (Nguyen *et al.*, 2007). En los últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios sobre la evolución de distintos índices de calidad de vegetales expuestos a condiciones de almacenamiento con altos DPV. Sin embargo, la mayoría de ellos utilizaron como objeto de estudio frutas (manzana, higo, frutilla, etc.) y hortalizas (zanahoria, tomate, cebolla, etc.) diferentes a las hortalizas de hoja (Ogwen *et al.*, 2009; Mahajan *et al.*, 2008; Shin *et al.*, 2007; Nguyen *et al.*, 2007; Guevara *et al.*, 2006; Guevara-Arauz *et al.*, 2006; Hertog *et al.*, 2004; Veraverbeke *et al.*, 2003; Shibairo *et al.*, 2002).

La exposición de las hortalizas de hoja a ambientes que favorecen la pérdida de agua resulta muy perjudicial para la calidad de las mismas debido a que la pérdida de agua es un fenómeno superficial (Mahajan *et al.*, 2008) y estos productos presentan una alta relación superficie a volumen. Es por esto que la HR recomendada para su almacenamiento post-cosecha es por encima del 95 % (Cantwell, 2002). Sin embargo, durante las prácticas habituales de manipulación de lechuga desde la cosecha hasta el consumidor, no suelen tomarse medidas para controlar este factor, exponiendo a los vegetales a ambientes con HR menores (sub-óptimas) a las recomendadas. Como esta hortaliza es transportada en vehículos sin protección, abiertos al ambiente y sin control de humedad, es muy común encontrar condiciones de baja temperatura y baja HR durante la distribución del producto. Adicionalmente, durante la venta al por menor, el producto es expuesto al ambiente sin protección alguna.

La pérdida de agua produce una disminución en la presión de turgencia de las células así como degradación de la pared celular (Abbot y Harker, 2008; Alzamora *et al.*, 2000) que afecta los atributos de calidad tales como textura, turgencia y color, produciendo cambios detrimentales y pardeamiento enzimático durante el almacenamiento post-cosecha. En consecuencia, las mediciones del status de agua de la planta son esenciales durante la post-cosecha. El estudio del status de agua del tejido, permite conocer los movimientos de agua en diferentes condiciones de almacenamiento en respuesta a los cambios ambientales. Las investigaciones sobre el status de agua de plantas se han enfocado generalmente en estrategias adaptativas de los cultivares bajo regímenes de disponibilidad de agua contrastantes en la pre-cosecha (Martínez *et al.*, 2007; Bacelar *et al.*, 2006; Bai *et al.*, 2006; Eitel *et al.*, 2006; Romero y Botía, 2006; Rodríguez *et al.*, 2004; Diallo *et al.*, 2001; Yamasaki y Rebello Dillenburg, 1999). Sin embargo, son pocos los estudios que han abarcado el efecto de las condiciones post-cosecha y su influencia en los índices de agua. Landrigan *et al.* (1996) investigaron las relaciones de agua y el pardeamiento en la fruta rambután.

Estos autores encontraron que el desarrollo del pardeamiento fue precedido por pérdida de agua y descensos en el potencial de agua en espinas y piel. Herppich *et al.* (1999) analizaron los efectos del estrés climático y mecánico sobre los índices de agua del tejido de zanahoria con el objetivo de caracterizar el status de agua del producto durante diferentes etapas de la cadena completa de comercialización. Burdon y Clark (2001) examinaron los efectos de la pérdida de agua post-cosecha en el status de agua de kiwi variedad 'Hayward' durante 14 días luego de la cosecha mientras era expuesto a condiciones de deshidratación. En este caso, el descenso en el peso fresco de la fruta estuvo acompañado por un descenso en el contenido de agua, en el RWC y en el potencial de agua (parámetro que cuantifica la tendencia del agua a moverse de un área a otra de la planta debido a ósmosis, gravedad, presión mecánica o acción capilar). Esparza-Rivera *et al.* (2006) estudiaron la evolución del índice RWC en lechuga pre-tratada con ácido ascórbico y almacenada a 5 °C. Los valores iniciales de RWC estuvieron en el rango de 94.07 % a 99.79 % y declinaron después de 14 en las muestras no tratadas con ácido ascórbico. Las lechugas sumergidas en ácido ascórbico mantuvieron sus valores de RWC hasta los 21 días (Esparza-Rivera *et al.*, 2006).

Tal como se mencionó previamente, la pérdida de agua del producto no sólo afecta el estado hídrico del mismo sino también los demás índices de calidad. La pérdida de agua provoca una considerable pérdida de peso y disminución del volumen del producto durante el almacenamiento. Estos hechos, sumados a los cambios en el color, impactan directamente sobre la calidad organoléptica del producto. También es posible que la calidad nutricional del producto expuesto a condiciones perjudiciales se vea afectada, en particular el contenido de ácido ascórbico, que es considerado uno de los compuestos nutricionales más sensibles a cualquier tipo de estrés (Shin *et al.*, 2007; Giannakourou y Taoukis, 2003; Nunes *et al.*, 1998). Otro fenómeno básico que confronta la extensión de vida útil de vegetales frescos es la proliferación de microorganismos. El conocimiento de la microflora nativa del vegetal fresco y su evolución bajo diferentes condiciones de almacenamiento es de importancia fundamental cuando el producto es comercializado como una hortaliza fresca en donde los microorganismos juegan un papel primordial en el mantenimiento de la calidad (Ponce *et al.*, 2002). Además, hay que tener presente que la pérdida del agua redundará en pérdidas económicas importantes cuando las mercaderías hortícolas son vendidas por peso (Nunes y Emond, 2007; Kays y Paull, 2004; Herppich *et al.*, 1999).

En el presente capítulo se analizan los cambios en diversos índices de calidad de lechuga durante su almacenamiento bajo dos condiciones diferentes: la óptima recomendada para esta hortaliza (0-2 °C, 97-99 %HR), y una combinación de T y HR sub-óptima (0-2 °C, 70-72 %HR)

comúnmente encontrada durante la cadena de distribución y comercialización. Se plantearon los siguientes objetivos de trabajo:

- 1) Evaluar la evolución del status de agua de las plantas durante el almacenamiento en cada una de las condiciones descriptas.
- 2) Describir los efectos de estas condiciones sobre los parámetros de calidad nutricional, físico-química, microbiológica y organoléptica.
- 3) Describir las relaciones, si las hubiera, entre la calidad organoléptica de las plantas de lechuga y los índices de calidad fisiológica, nutricional, físico-química y microbiológica para cada una de las condiciones de almacenamiento analizadas.
- 4) Evaluar el efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la extensión de la vida útil de las plantas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico y preparación de muestras

Las plantas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* var. Lores) fueron cultivadas sobre tierra en invernaderos de la región de Sierra de los Padres. Las cabezas de lechuga fueron cosechadas en su madurez óptima después de alcanzar un tamaño comercializable (aproximadamente 24-30 hojas por cabeza). Una vez cosechadas, fueron inmediatamente transportadas en contenedores refrigerados al laboratorio dentro de la primera hora posterior a la cosecha. Las plantas no fueron sujetas a ninguna operación de acondicionamiento, sólo fueron identificadas y pesadas en el laboratorio. Luego, parte de las plantas fueron almacenadas en condiciones óptimas recomendadas para lechuga (0-2 °C, 97-99 %HR), siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo II, inciso 2.3. Las otras plantas fueron colocadas en bolsas perforadas y almacenadas en una cámara ambiental (SCT, Pharma, Argentina) programada en las siguientes condiciones: 0-2 °C y 70-72 %HR.

Se realizaron 3 corridas experimentales independientes. La extensión del período de muestreo fue determinada mediante el panel sensorial cuando se detectó rechazo del producto. Debido a que la vida útil de las plantas fue afectada profundamente por la HR del ambiente durante el almacenamiento, los días de muestreo fueron diferentes para cada condición de HR:

- a) para las plantas almacenadas en condiciones óptimas, se realizaron los muestreos en los siguientes días: 0, 2, 5, 8, 13, 16 y 20. En cada día de muestreo, tres bolsas fueron tomadas de la cámara de almacenamiento. Una bolsa (2 plantas) fue usada para

analizar el status de agua, otra para determinar el contenido de clorofila, ácido ascórbico y la calidad microbiológica y otra para analizar la calidad visual general.

- b) para las plantas almacenadas en condiciones sub-óptimas y para la evaluación de los índices de status de agua, contenido de clorofila, contenido de ácido ascórbico y calidad visual general, se realizaron los muestreos diariamente desde el día de cosecha (día 0) hasta el día 5 de almacenamiento. Los índices microbiológicos fueron evaluados cada 2 días desde el momento de la cosecha hasta el día 6 del almacenamiento. Del mismo modo que para el almacenamiento óptimo, en cada día de muestreo, tres bolsas fueron tomadas de la cámara. Una bolsa (2 plantas) fue usada para analizar el status de agua, otra para determinar el contenido de clorofila, ácido ascórbico y la calidad microbiológica y otra para analizar la calidad visual general.

En ambos casos, todos los parámetros fueron medidos en las tres secciones de la cabeza de lechuga: externa, media e interna.

2.2. Pérdida de peso

La pérdida de peso (WL, por sus siglas en inglés *Weight loss*) fue determinada en todas las plantas a medida que fueron retiradas del almacenamiento. Cada planta fue pesada inmediatamente después de la cosecha al llegar al laboratorio (PC, peso cosechado) y luego del almacenamiento (PA, peso luego del almacenamiento). Entonces, la pérdida de peso de cada planta individual fue calculada a través de la *Ecuación 4.1*:

$$WL(\%) = \frac{(PC - PA)}{PC} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 4.1})$$

La pérdida de peso se expresa como relación porcentual entre el peso perdido y el peso fresco inicial.

2.3. Índices de calidad

El status de agua en la lechuga fue determinado a través de los índices: contenido de agua (WC), contenido de agua relativo (RWC), agua libre (FW), agua unida (BW) y la relación entre agua libre y agua total (FW/TW). Los índices del status de agua fueron calculados para todas las hojas de la planta, registrando además la sección a la que pertenece la hoja (externa, media o interna). Los valores obtenidos en las hojas correspondientes a cada sección fueron utilizados para calcular el valor promedio del índice en la sección. La calidad nutricional se evaluó a través del contenido de ácido ascórbico reducido. La calidad físico-química de las plantas se analizó mediante el contenido

de clorofila. La calidad organoléptica se evaluó a través del índice OVQ. Cabe aclarar que la evolución de los recuentos de las diferentes poblaciones microbianas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento en condiciones óptimas fue presentada y analizada en detalle en el Capítulo II al estudiar el efecto del método de cultivo (mulch o tierra) sobre la calidad microbiológica de las plantas de lechuga (Capítulo II, inciso 3.2 de Resultados, **Figura 2.4**(A2) - E2)). Así mismo, en esa oportunidad se presentaron las correlaciones existentes entre la calidad visual general de las plantas y las poblaciones bajo estudio (Capítulo II, inciso 3.4 de Resultados, **Tabla 2.2**). Por esta razón, esta información no se presenta nuevamente en este capítulo, aunque sí se presenta en detalle para las plantas almacenadas en condiciones sub-óptimas.

Para las plantas almacenadas en condiciones de HR sub-óptima, tanto el contenido de clorofila como el contenido de ácido ascórbico se expresaron en base seca, es decir, en mg (de clorofila o de ácido ascórbico) por g de tejido seco ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Esto se debe a que la cantidad de agua en el tejido almacenado fue disminuyendo en estas condiciones (ver Resultados, inciso 3.1.1), por lo que no sería correcto expresarlo en base húmeda.

La descripción detallada de la metodología utilizada para la determinación de cada uno de los índices fue previamente descrita en el Capítulo I, bajo Materiales y Métodos (inciso 2.2).

2.4. Análisis estadístico

Los resultados son informados como valores LSMEAN junto con sus desviaciones estándar (Kuehl, 2001; Steel y Torrie, 1992).

Los datos fueron analizados utilizando el software estadístico SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002). La evolución de los índices de calidad fue analizada de forma independiente para cada condición de almacenamiento utilizando el modelo estadístico detallado a continuación. El PROC GLM fue utilizado para llevar a cabo el análisis de varianza. Los factores empleados como fuentes de variación fueron: TIEMPO (tiempo de almacenamiento, día de muestreo), PLANTA DENTRO DE TIEMPO, SECCION (sección de la planta: externa media o interna) e interacción TIEMPO*SECCIÓN. El ANOVA para la pérdida de peso fue realizado utilizando una única fuente de variación: el factor TIEMPO (tiempo de almacenamiento). En ambos casos, el nivel de probabilidad fue fijado en $p < 0.05$ y las diferencias entre tiempos y secciones fueron determinadas con el test de comparación múltiple de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). En aquellos casos en los que se detectaron diferencias con mayor nivel de significancia, el valor p fue informado junto con los resultados.

Para todos los modelos estadísticos descritos, PROC UNIVARIATE fue usado para validar los supuestos del ANOVA. Los análisis de correlación entre los índices del status de agua dentro de

la planta, la concentración de clorofila, la concentración de ácido ascórbico y la calidad visual general se llevaron a cabo a través de la evaluación de los coeficientes de Pearson, obtenidos con el PROC CORR. Las correlaciones con $p < 0.05$ fueron consideradas estadísticamente significativas.

Los modelos lineales fueron ajustados utilizando PROC REG. La comparación de los modelos lineales se llevó a cabo mediante el uso de variables dummy, tal como se describió en el Capítulo II, inciso 2.4. Los ajustes de las regresiones no lineales fueron realizados utilizando el software STATISTICA 7.1 (StatSoft Inc., 2005).

3. RESULTADOS

3.1. Almacenamiento en condiciones óptimas (0-2 °C, 97-99 %HR)

3.1.1. Pérdida de peso

Las plantas almacenadas en condiciones óptimas, no presentaron cambios significativos en el peso durante el almacenamiento en condiciones óptimas (el factor TIEMPO del ANOVA aplicado a estos datos resultó no significativo). La pérdida de peso está dada principalmente por pérdida de agua cuando se expone al vegetal a un ambiente con condiciones de T y HR que generan una elevada fuerza impulsora para este proceso (DPV). Bajo las condiciones ensayadas, el DPV en la atmósfera que rodea el producto es muy reducido (13.2 ± 7.7), de modo que la fuerza impulsora para la pérdida de agua y, en consecuencia para la pérdida de peso es prácticamente despreciable (Thompson, 2002a). Por otra parte, la respiración del producto podría generar pérdidas de peso por consumo de las reservas para obtener energía para sus actividades metabólicas (Kader, 2002a) con la liberación de CO₂ al ambiente. En las condiciones ensayadas, la respiración del producto estuvo reducida.

3.1.2. Calidad fisiológica: Índices de status de agua

La **Figura 4.1(A)** muestra la evolución del RWC en cada sección durante el almacenamiento refrigerado. El ANOVA aplicado a los datos de RWC mostró una interacción significativa entre los factores considerados en el análisis (SECCIÓN y TIEMPO), indicando que el comportamiento del RWC durante el almacenamiento fue particular para cada sección. Así, mientras que en la sección externa no se detectaron diferencias significativas en el RWC durante el almacenamiento, en las secciones media e interna este índice presentó una evolución similar: los valores de RWC se incrementaron desde 84.1 a 92.5 y de 85.8 a 90.8 hasta el día 8 de

almacenamiento para las secciones interna y media, respectivamente. Luego de ese incremento, el RWC decreció en ambas secciones alcanzando al final del almacenamiento valores por encima (en la sección interna) o similares (en la sección media) a los valores iniciales de RWC.

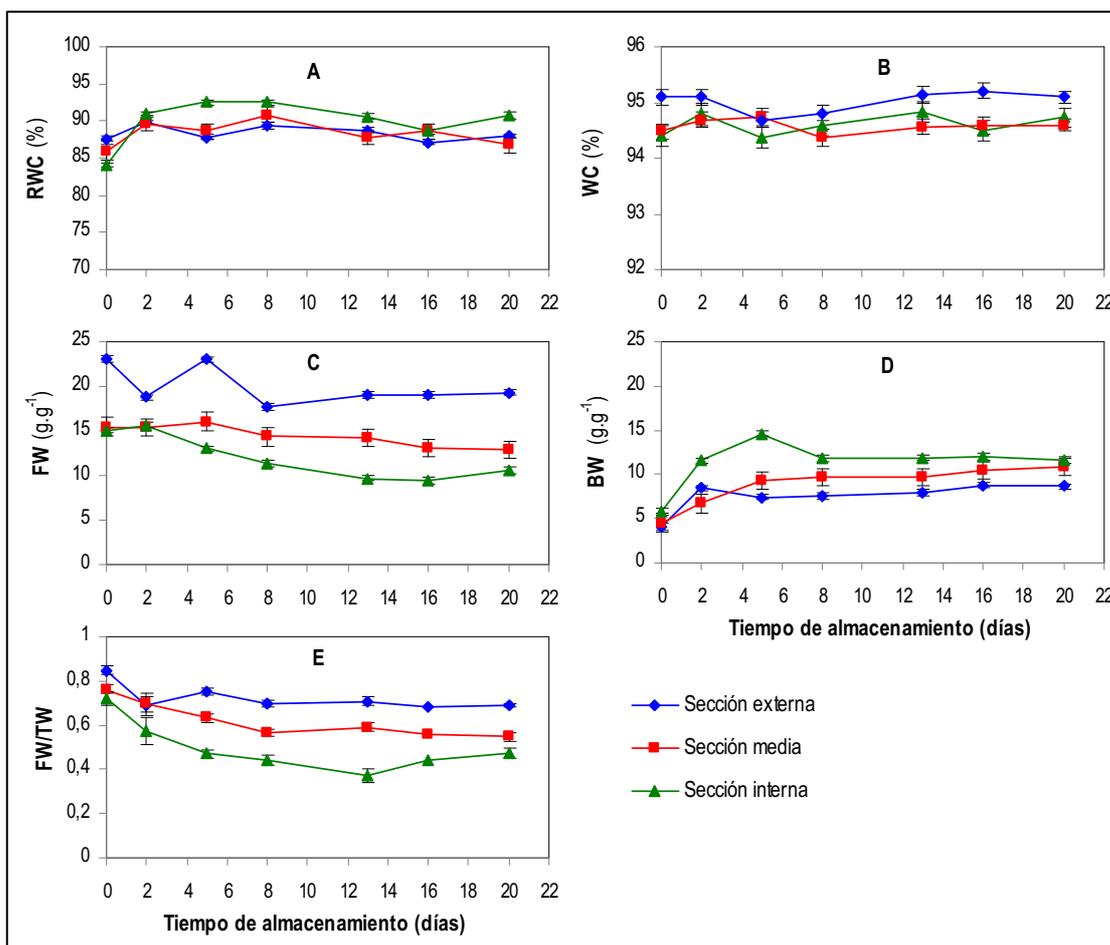


Figura 4.1. Evolución de los índices de status de agua en secciones de lechuga mantecosa durante el almacenamiento en condiciones óptimas.

Valores altos de RWC durante el almacenamiento podrían indicar un buen nivel de hidratación de los tejidos de lechuga (Esparza-Rivera *et al.*, 2006). Estos autores, analizando los efectos del ácido ascórbico en las propiedades físicas y químicas de lechuga de hoja verde, informaron un leve descenso a los 21 días de almacenamiento refrigerado (5 °C) en los valores de RWC para las lechugas control (sin tratamiento con ácido ascórbico) desde 99.79 a 94.04 %. Sin embargo, estos autores utilizaron un diseño experimental diferente: removieron 2 hojas enteras por lechuga en cada tiempo de muestreo, reempacando y almacenando la misma lechuga hasta el próximo tiempo de muestreo. Haciendo esto, no se consideró la posibilidad de que haya diferentes respuestas de RWC en las distintas secciones de la planta. En el presente trabajo de tesis se encontró que valores de RWC de diferentes secciones se comportaron diferencialmente durante el

tiempo de almacenamiento (**Figura 4.1(A)**). El grado de desarrollo de la hoja en cada sección de la planta es distinto y esto puede implicar cambios en las respuestas fisiológicas. Otros autores, trabajando bajo condiciones de almacenamiento post-cosecha que favorecen la pérdida de agua de los tejidos (baja humedad relativa y temperatura ambiente) informaron un continuo descenso en los valores de RWC (Landrigan *et al.*, 1996; Burdon y Clark, 2001). En esta parte del diseño experimental, las lechugas fueron almacenadas en condiciones óptimas, que previenen la pérdida de agua (0-2 °C y 97-99 %HR) observándose para este caso incrementos en los valores de RWC en las secciones media e interna, que pueden ser atribuidos a cambios estructurales en el tejido a nivel de membrana que afecten la capacidad de retener agua por parte de estos tejidos (Maalekuu *et al.*, 2006).

La **Figura 4.1(B)** presenta la evolución del WC en cada sección de la lechuga durante el almacenamiento refrigerado. El ANOVA aplicado a estos resultados no mostró interacción entre los factores considerados en el análisis. Más aún, el factor TIEMPO del modelo estadístico resultó no significativo, indicando que no hubo cambios en el WC en función del tiempo de almacenamiento. Esto fue predecible debido a que durante el almacenamiento las plantas de lechuga estuvieron expuestas a una atmósfera saturada dentro de la bolsa.

Aún aunque no se detectaron cambios medibles en el contenido de agua durante el almacenamiento, los perfiles de RWC obtenidos para las secciones media e interna sí mostraron cambios. Teniendo en cuenta la expresión matemática del RWC (Capítulo I, *Ec. 1.1*), los incrementos en los valores de RWC podrían deberse a dos posibles causas: un incremento en el peso fresco del vegetal (PF) y/o un descenso en su peso de turgencia (PT). Debido a que durante el almacenamiento no se detectaron cambios en el WC, se asume que los valores de PF permanecieron invariables, por lo tanto el incremento en los valores de RWC se puede deber principalmente a un descenso en el peso de turgencia, luego, a una reducción en la capacidad de retener agua en los tejidos. Para verificar esto, se calculó la relación masa de turgencia a masa seca (TM/DM) para las secciones media e interna (en las cuales se detectaron incrementos en el RWC). Para ambas secciones, esta relación decreció significativamente hasta el día 16 de almacenamiento, indicando cambios en la capacidad de retener agua de los tejidos de lechuga bajo atmósfera de saturación de agua. Esto podría indicar un ajuste post-cosecha del tejido vegetal expresado como una respuesta en corto tiempo bajo atmósfera de saturación de vapor de agua. Bacelar *et al.* (2006) informaron que la habilidad de las plantas de olivo a aclimatarse a la disponibilidad de agua incluye alteraciones a nivel de la hoja, asociados a características morfológicas, anatómicas y fisiológicas. Es conocido que ocurren cambios en el tamaño de la célula

en diferentes especies en respuesta al estrés abiótico, tales como reducción en el tamaño de la célula bajo estrés de agua (Martínez *et al.*, 2007). Nuevamente, tal como se encontró en el Capítulo III, inciso 3.2, se puede inferir que el índice RWC es un índice más sensible que el índice WC que permitió detectar cambios, mientras que los valores de WC permanecieron constantes.

Las **Figura 4.1(C)** y **(D)** muestran las evoluciones del agua libre (FW) y del agua unida (BW), respectivamente, en cada sección de lechuga durante el almacenamiento refrigerado. El ANOVA aplicado a los resultados de FW mostró una interacción significativa entre los factores considerados en el análisis (SECCIÓN y TIEMPO), indicando que el comportamiento de este índice a lo largo del almacenamiento fue dependiente de la sección de la planta bajo consideración. Los valores de FW en la sección externa, presentaron algunas oscilaciones durante los primeros días de almacenamiento y, luego del día 8 se mantuvieron estables en un valor significativamente inferior al encontrado al momento de la cosecha, con un descenso neto del 20 % en el valor del FW entre el día de la cosecha y el final del almacenamiento. En la sección media, los valores de FW se mantuvieron más estables durante el almacenamiento, aunque también se detectó un descenso neto del 20 % entre el día 0 y el final del almacenamiento. Finalmente en la sección interna, se produjeron cambios más importantes en el contenido de agua libre, descendiendo desde el día 2, con un descenso total del 31 % al final del periodo muestreado. Por su parte, el ANOVA aplicado a los resultados de BW también indicó interacción significativa que se manifestó de la siguiente manera: los valores de BW de las secciones media y externa presentaron un incremento gradual y continuo a lo largo del almacenamiento, duplicando el valor obtenido al momento de la cosecha hacia el día 20 de almacenamiento. En la sección interna, los valores de BW se incrementaron de manera abrupta durante los primeros días de almacenamiento (2.5 veces en 5 días), luego se detectó una disminución significativa hasta el día 8 y a partir de este tiempo se observaron valores constantes hasta el final del almacenamiento.

A diferencia de los dos índices anteriores, el ANOVA aplicado a los resultados de FW/TW no mostró interacción aunque los factores (TIEMPO y SECCIÓN) evaluados de manera independiente sí resultaron significativos. En las tres secciones los valores de FW/TW decrecieron durante el almacenamiento (factor TIEMPO) en una cantidad que fue dependiente de la sección bajo consideración (factor SECCIÓN), en el rango de 24 a 39 % en el período completo de almacenamiento (**Figura 4.1(E)**). El agua total (TW) está expresada matemáticamente como la suma del agua libre y del agua unida. Este índice, en concordancia con la evolución del WC, no sufrió variaciones a lo largo del almacenamiento. Por lo tanto, los cambios en el FW y BW durante el almacenamiento indicarían movimientos de agua dentro de la planta. Estos intercambios entre agua

unida y agua libre, podrían ser forzados por cambios en la concentración de solutos en la planta de lechuga. Una correlación entre la acumulación de soluto y un incremento en el agua unida fue informada en el tejido de hoja de trigo durum (Rascio *et al.*, 1994).

El agua unida en el tejido vivo juega un rol importante en la tolerancia al estrés abiótico (Misik 2000; Rascio *et al.* 1998; El-Saidi *et al.*, 1975). Singh *et al.* (2006) indicaron que el agua unida actúa manteniendo la integridad estructural y/o la extensibilidad de la pared celular de las hojas mientras que un incremento en la cantidad de agua libre podría incrementar la acumulación de soluto, permitiendo un mejor ajuste osmótico y tolerancia al estrés de agua. Dado que, durante el almacenamiento, la lechuga estuvo almacenada en humedad relativa óptima, desarrollando un equilibrio de humedad entre el aire y el alimento, los ajustes en el tejido podrían haber sido forzados por estrés abiótico en vez de estrés de agua. De esta manera, el incremento en los valores de BW podría constituir una respuesta del tejido al estrés abiótico. En el presente estudio, las plantas de lechuga estuvieron expuestas principalmente a tres tipos de estrés abiótico: la cosecha (que implica el corte en el suministro de nutrientes), la exposición al almacenamiento refrigerado (baja temperatura) y el tiempo de almacenamiento.

El comportamiento diferencial del BW durante el almacenamiento, detectado entre las diferentes secciones de la lechuga podría relacionarse con el grado de desarrollo del tejido que caracteriza cada sección, presentando cada uno de estos tejidos, una actividad metabólica diferente: las hojas externas, como tejido exportador neto de carbono y las internas como importador. El proceso involucrado en esta actividad es la fotosíntesis que continúa aún después de que la planta ha sido cosechada. Para poder producir carbono orgánico, el tejido utiliza el CO₂ disponible en el espacio de cabeza y requiere de agua. Sin embargo, el suministro de agua desde las raíces ha sido interrumpido con la cosecha, por lo tanto el tejido de la sección externa presenta una demanda de agua ante la cual, las hojas en desarrollo (internas) responderían aumentando su contenido de BW para no ser deshidratadas. Por otra parte, las diferencias detectadas en la evolución del BW entre secciones podrían estar relacionadas con el hecho de que las hojas externas son las de mayor edad de la planta y pueden presentar síntomas de senescencia. Las hojas más internas están constituidas por tejido más joven que requiere de un suministro y uso de agua más importante para cumplimentar con sus reacciones metabólicas. El aumento en el BW detectado en mayor medida en las hojas internas puede también ser una respuesta para economizar este recurso por parte del tejido en desarrollo.

3.1.3. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

La **Figura 4.2(A)** presenta la evolución del contenido de ácido ascórbico reducido (AA) en cada una de las secciones de lechuga en función del tiempo de almacenamiento.

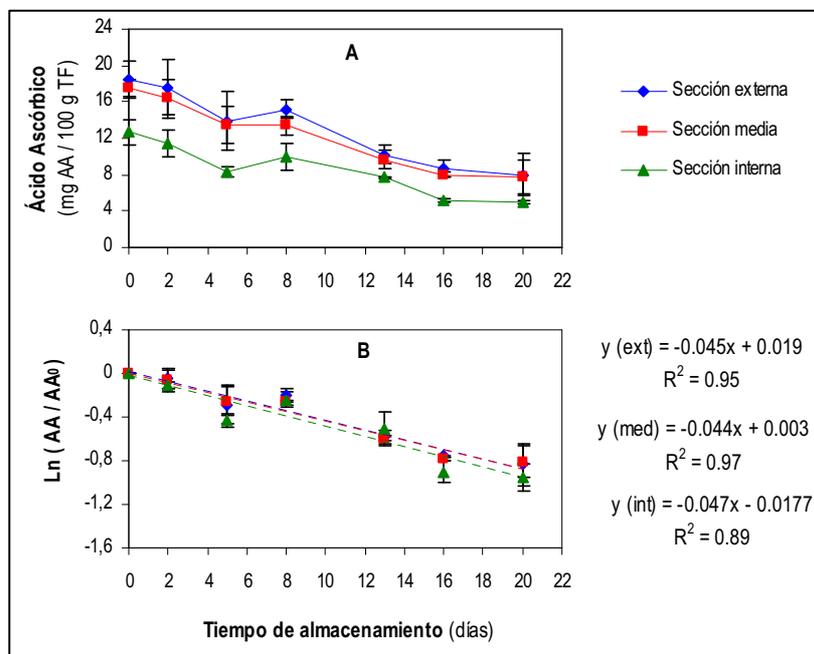


Figura 4.2. Evolución del contenido de Ácido Ascórbico en las secciones de lechuga.

El ANOVA aplicado a estos datos no mostró interacción significativa entre los factores del análisis SECCIÓN*TIEMPO, mientras que los factores individuales sí resultaron significativos. Este resultado indica que si bien hubo diferencias en el contenido de AA en función de la sección considerada, este índice evolucionó de manera semejante en cada sección a medida que transcurrió el almacenamiento. La significancia del factor SECCIÓN se manifestó en las diferencias encontradas en los valores de AA entre la sección externa y la interna. La sección media, por su parte, no mostró diferencias con la externa, mostrando, ambas, contenidos de AA mayores que en la sección interna y este resultado se mantuvo durante todo el período evaluado. En cuanto al factor TIEMPO, la significancia del mismo se manifestó en las tres secciones de la planta que mostraron disminuciones de AA durante el período de almacenamiento, alcanzando valores en el rango de 9.6 - 11.5 mg de AA / 100 g TF en el último día de muestreo, que representa un 40 % de pérdida en promedio considerando las tres secciones de la planta.

La degradación de AA en las secciones de la planta se ajustó a cinéticas de primer orden. La velocidad de degradación de este indicador nutricional, dada por la pendiente de la recta de tendencia de la **Figura 4.2(B)**, no fue afectada por la sección de la planta en consideración, ya que

no se detectaron diferencias significativas entre las pendientes correspondientes a cada sección. Es decir, la disminución en el contenido de AA durante el almacenamiento refrigerado se produce a una tasa que es independiente de la sección de la planta bajo consideración. Más aún, el test de coincidencia efectuado sobre los datos correspondientes a las tres secciones indicó que los tres modelos lineales ajustados no sólo fueron paralelos sino también coincidentes. De esta manera, para el pool de datos correspondientes a las tres secciones la cinética de degradación obtenida fue: $\ln(AA/AA_0) = -0.045.t - 0.001$, $R^2 = 0.93$, $n = 21$.

La pérdida de vitamina C durante la post-cosecha de las hortalizas está fuertemente condicionada por las condiciones ambientales, especialmente por la temperatura (Altunkaya *et al.*, 2009; Paull, 1999). En el caso analizado, las condiciones de almacenamiento de las plantas de lechuga fueron las óptimas recomendadas para este tipo de hortaliza. Aún así, se detectó un deterioro en la calidad nutricional del producto. Este resultado refuerza las hipótesis de que la máxima calidad está asociada al momento de la cosecha y que posteriormente se desencadenan una serie de eventos que a lo sumo podrán ser ralentizados mediante técnicas de manejo adecuado, pero el deterioro no puede detenerse por completo (Kader, 2002a y 2002b; Paull, 1999). Resultados equivalentes fueron encontrados en otras hortalizas de hoja almacenadas en condiciones óptimas (Konstantopoulou *et al.*, 2010; Rinaldi *et al.*, 2010; Peng *et al.*, 2009; Tulio *et al.*, 2002; Nam y Kwon, 1999). Para el caso particular de lechuga entera, Konstantopoulou *et al.* (2010), estudiando el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la calidad de lechuga de invernadero, encontraron que a los 10 días de almacenamiento a 5 °C de plantas enteras, se produjeron pérdidas de ácido ascórbico en el rango de 18 a 46 % en función del tratamiento de fertilización aplicado en la pre-cosecha, rango que alcanza valores superiores al encontrado en el presente estudio para el almacenamiento de 20 días de plantas enteras de lechuga en condiciones óptimas.

Sintetizando los resultados encontrados para la calidad nutricional de lechuga mantecosa, vale la pena destacar que la posición de las hojas en la planta (que está relacionada con la edad del tejido y con grados de exposición diferencial al medio ambiente), no afectó la velocidad de degradación del AA durante el almacenamiento en condiciones óptimas recomendadas para lechuga. Si bien las secciones difirieron en los valores absolutos de AA, y esto sí es atribuido a la edad del tejido (ver Capítulo I), su degradación presentó la misma velocidad en las tres secciones.

3.1.4. Calidad fisicoquímica: Contenido de clorofila

Es conocido que durante el almacenamiento de vegetales de hoja, éstos pueden presentar disminuciones de pigmentos clorofílicos (Konstantopoulou *et al.*, 2010; Gonçalves *et al.*, 2009; Ferrante y Maggiore, 2007; León *et al.*, 2007; Ferrante *et al.*, 2004; Tulio *et al.*, 2002; Haard, 1993; Yamuchi y Watada, 1993 y 1991; Bolin y Huxsoll, 1991). De hecho, la degradación de clorofila durante el almacenamiento de hortalizas es una expresión de la senescencia en numerosos vegetales de hoja tales como verdolaga (Rinaldi *et al.*, 2010), lechuga (León *et al.*, 2007; Ihl *et al.* 2003), valeriana (Ferrante y Maggiore, 2007), col china (Noichinda *et al.*, 2007), rúcula (Koukounaras *et al.*, 2006), acelga (Ferrante *et al.*, 2004), espinaca (Yamuchi y Watada, 1991) entre otros.

La **Figura 4.3(A)** presenta la evolución del contenido de clorofila en cada sección de lechuga durante el almacenamiento refrigerado.

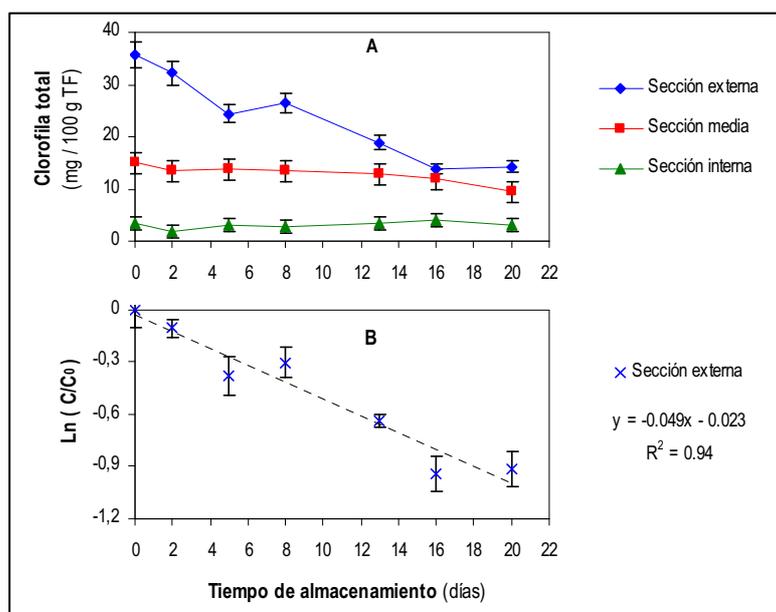


Figura 4.3. Evolución del contenido de clorofila en lechuga almacenada en condiciones óptimas.

El ANOVA aplicado a estos datos mostró una interacción significativa entre los factores SECCIÓN y TIEMPO. Este hecho implica que la evolución del contenido de clorofila durante el almacenamiento fue particular para cada sección de lechuga: mientras la sección externa exhibió degradación de los pigmentos de clorofila a lo largo de todo el almacenamiento (alcanzando un porcentaje final de pérdida del 59.9 %), las secciones media e interna no mostraron cambios.

Existen escasas referencias sobre la evolución de este pigmento en el almacenamiento de lechuga entera en condiciones de T y HR óptimas sin previa aplicación de ningún tratamiento.

Konstantopoulou *et al.* (2010), estudiando el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la calidad de lechuga de invernadero, encontraron que a los 10 días de almacenamiento de plantas enteras a 5 °C, se produjeron pérdidas de clorofila en el rango de 3 al 15 % en función del tratamiento de fertilización aplicado en la pre-cosecha. En el presente estudio, la pérdida de clorofila registrada en la sección externa de la planta resultó de 25.9 % a los 8 días del almacenamiento a 0-2 °C.

Durante el almacenamiento de lechuga mantecosa, la degradación de pigmentos de clorofila para las hojas de la sección externa (**Figura 4.3(B)**) siguió una cinética de primer orden con una constante de velocidad de 0.049 s^{-1} , con $R^2= 0.83$, $n=7$. La degradación de este pigmento ha sido previamente modelada para diferentes tipos de vegetales, siendo la cinética de primer orden principalmente asociada a su deterioro. Albanese *et al.* (2006) encontraron una cinética de primer orden en la degradación de clorofila de espárrago verde durante el almacenamiento refrigerado y encontraron una constante de degradación (0.0355 s^{-1}) del mismo orden que la del presente capítulo. Marangoni (1996) también propuso un modelo cinético de primer orden para la degradación de clorofila en tejido verde usando la suma de clorofila *a* y *b*. Factores ambientales como la luz, la temperatura, la humedad, el oxígeno y el etileno (Adams y Brown, 2007; Koca *et al.*, 2006; Yamuchi y Watada, 1991; Watada *et al.*, 1990) y factores internos de las plantas tales como la actividad de las enzimas clorofilasa y Mg-dequelactasa (Rinaldi *et al.*, 2010; Koca *et al.*, 2006; Ihl *et al.*, 2003; Jacob-Wilk *et al.*, 1999; Shioi *et al.*, 1996) son responsables de las pérdidas de clorofila durante el almacenamiento de vegetales verdes.

Las diferencias en la degradación de clorofila entre las secciones podrían atribuirse a la mayor exposición de las hojas externas a los factores ambientales tales como luz y oxígeno, los cuales pueden acelerar el deterioro del pigmento. También el descenso significativo hasta el día 8 de almacenamiento en el contenido de agua libre podría favorecer la pérdida de clorofila a través de los movimientos de agua (Wright *et al.*, 2009; Siomos *et al.*, 2002). La destrucción de clorofila podría aumentar por el incremento en la concentración de etileno durante el almacenamiento. Se ha informado que la destrucción de clorofila por el etileno podría ser respuesta del incremento de la actividad de la enzima clorofilasa (Watada *et al.*, 1990). Sin embargo, en la lechuga mantecosa almacenada en condiciones óptimas, la destrucción de clorofila fue sólo evidente en la sección externa. No es probable que los niveles de etileno y oxígeno difirieran mucho entre las secciones de lechuga, de esta manera estos posibles factores de destrucción de clorofila pueden ser descartados. Por otra parte, los factores ambientales a los que se expusieron las plantas durante el almacenamiento eran los óptimos recomendados para lechuga, por lo tanto el deterioro de clorofila detectado en la sección externa podría ser un signo de mayor velocidad de senescencia en esta

sección en comparación con las otras secciones de la planta, independientemente del medio ambiente que rodea la planta. De hecho, se ha demostrado que la degradación de los pigmentos clorofílicos constituyen síntomas precoces de senescencia en los tejidos fotosintéticos (Di Benedetto, 2005).

Adicionalmente, ciertos autores (Izumi *et al.*, 1997; Foyer *et al.*, 1983) han vinculado la degradación de clorofila con disminuciones en el contenido de AA, porque los cloroplastos contienen alrededor del 30 a 40 % del total de AA de las células vegetales en las hortalizas de hoja. Por lo tanto, la destrucción de los cloroplastos, que es un síntoma de la senescencia del tejido (Heaton y Marangoni, 1996), redundaría en pérdidas de AA. En el presente capítulo, cuando las plantas fueron expuestas a condiciones óptimas durante el almacenamiento, las hojas medias e internas mostraron disminuciones de AA durante el almacenamiento; sin embargo el contenido de clorofila permanece constante en estas hojas durante este período. Por lo tanto, estos dos parámetros de calidad no están asociados, al menos en esos tejidos, y los cambios en el AA pueden deberse a otras causas tales como estrés de cosecha y otros. En la sección externa, en cambio, se observó degradación de ambos indicadores, pudiendo entonces estar ligados estos dos fenómenos en el tejido más maduro que constituye esta sección.

3.1.5. Calidad organoléptica

En la lechuga recién cosechada, cada sección presentó las características organolépticas típicas principalmente diferenciadas por tamaño foliar, color y textura. Aunque las secciones difirieron en sus atributos sensoriales iniciales, éstos fueron considerados con un puntaje máximo al inicio del almacenamiento, resultando en un OVQ de 9 puntos para las tres secciones de la planta.

El tiempo de almacenamiento introduce cambios en la apariencia de la lechuga principalmente pérdida de textura, extensión en la decoloración y desarrollo de pardeamiento. La **Figura 4.4** muestra la evolución del OVQ en cada sección de lechuga durante el almacenamiento refrigerado. Es interesante observar que los valores de OVQ obtenidos en estas corridas experimentales resultaron superiores a los registrados en lechuga cultivada sobre suelo descubierto informados en el Capítulo II, inciso 3.3.

El ANOVA aplicado a los datos de OVQ mostró una interacción significativa entre los factores SECCIÓN y TIEMPO. Esto implica que el OVQ evolucionó de manera diferente en cada sección de lechuga durante el almacenamiento. Mientras que la sección externa mostró un descenso en el OVQ desde el primer día de muestreo que continuó durante todo el período de almacenamiento, las secciones media e interna no mostraron reducciones en el OVQ hasta los días

8 y 13, respectivamente. A partir de entonces, en ambas secciones se manifestaron disminuciones en la calidad visual general que fueron más acentuadas en la sección media respecto de la interna.

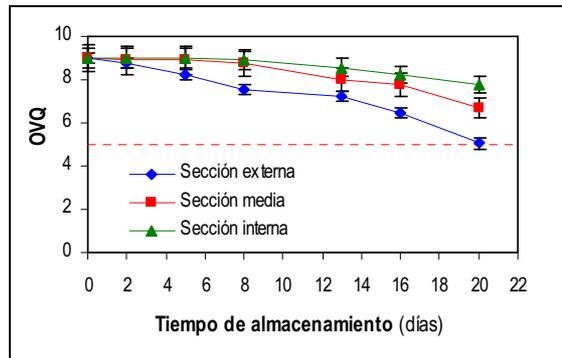


Figura 4.4. Evolución de la calidad visual general de las distintas secciones de lechuga durante el almacenamiento refrigerado.

El primer cambio observado por los panelistas en la sección externa fue un descenso en el brillo de las hojas. Al día 16, las hojas externas presentaron decoloración moderada y un pardeamiento leve en los bordes externos de las hojas. La calidad visual fue aún aceptable con un puntaje medio de 6.4. En este día, el panel describió el OVQ de secciones media e interna como bueno, con defectos menores y le atribuyeron un puntaje de 7.8 y 8.2, respectivamente. Al día 20 de almacenamiento, las hojas externas presentaron moderada ruptura en los tejidos indicando un incremento en la fragilidad mecánica, pardeamiento severo en la base de las nervaduras que se extendía hacia la hoja. Tales defectos redundaron en un puntaje final de 5, alcanzando el límite de aceptabilidad. En este tiempo, las hojas medias presentaron pardeamiento leve en sus bordes manteniendo las hojas su textura típica, resultando en un OVQ final de 6.7. La sección interna mantuvo un buen color, brillo y textura, alcanzando un OVQ final de 7.8.

Las diferencias en la evolución del OVQ entre las secciones de lechuga podrían atribuirse a varios factores además de la mayor exposición de las hojas externas a factores ambientales, los cuales podrían acelerar el deterioro. Entre ellos, las diferencias en la relación FW/TW en cada sección (**Figura 4.1(E)**); variaciones en el metabolismo fenólico entre las secciones, las cuales podrían representar diferentes potenciales de pardeamiento; diferentes niveles de fenilalanina-amonio liasa en cada sección y diferencias en la sensibilidad al CO₂, entre otros. Lopez-Galvez *et al.* (1996) condujeron una extensa discusión comparando la calidad visual y vida útil de varios tipos de lechugas y la importancia relativa de los defectos del OVQ durante el almacenamiento.

3.1.6. Análisis de correlación

La **Tabla 4.1** lista los coeficientes de correlación de Pearson para todas las correlaciones cruzadas entre todos los parámetros analizados: índices de status de agua, contenido de clorofila, contenido de ácido ascórbico y calidad visual general para las secciones externa, media e interna, respectivamente. Las correlaciones entre los índices microbiológicos y el OVQ fueron presentadas y analizadas en el Capítulo II, en la sección Resultados, inciso 3.4.

	RWC	WC	FW	BW	FW/TW	C	AA
Sección externa							
RWC	1.00						
WC	-0.41	1.00					
FW	-0.38	-0.34	1.00				
BW	-0.12	0.43	-0.65	1.00			
FW/TW	-0.07	-0.38	0.83 ^a	-0.96 ^c	1.00		
C	0.49	-0.40	0.43	-0.75 ^a	0.69	1.00	
AA	0.57	-0.54	0.40	-0.77 ^a	0.69	0.97 ^c	1.00
OVQ	0.32	-0.29	0.46	-0.61	0.59	0.91 ^b	0.92 ^b
Sección media							
RWC	1.00						
WC	-0.17	1.00					
FW	0.17	-0.49	1.00				
BW	0.22	0.22	-0.64	1.00			
FW/TW	-0.22	-0.29	0.79 ^a	-0.96 ^c	1.00		
C	-0.46	-0.12	-0.33	0.38	-0.34	1.00	
AA	0.02	-0.51	0.85 ^b	-0.82 ^b	0.88 ^b	-0.52	1.00
OVQ	0.35	-0.69	0.89 ^b	-0.67	0.69	-0.96 ^c	0.87 ^b
Sección interna							
RWC	1.00						
WC	0.25	1.00					
FW	-0.14	-0.33	1.00				
BW	0.89 ^b	0.14	-0.34	1.00			
FW/TW	-0.65	-0.41	0.81 ^a	-0.77 ^a	1.00		
C	0.03	-0.04	-0.09	-0.23	-0.04	1.00	
AA	-0.11	-0.19	0.85 ^b	-0.47	0.72 ^a	0.11	1.00
OVQ	0.14	-0.47	0.77 ^a	-0.07	0.41	0.10	0.71 ^a

Tabla 4.1 Coeficientes de correlación de Pearson (*r*) entre los índices de status de agua (RWC, WC, FW, BW, FW/TW), el contenido de clorofila (C), el contenido de ácido ascórbico (AA) y la calidad visual general (OVQ) en las diferentes secciones de la planta. (^a*p*< 0.05, ^b*p*< 0.01, ^c*p*< 0.001).

El OVQ para cada sección de lechuga mostró correlaciones diferenciales con los índices evaluados. Esto está de acuerdo con el hecho de que cada índice se comportó de manera diferencial en relación a la sección analizada. En la sección externa uno de los parámetros con mayor correlación con la calidad organoléptica de lechuga fue la clorofila (indicador de color verde). El descenso en el contenido de clorofila observado en las hojas externas correlacionó fuertemente (*p*< 0.01) con el descenso en la calidad visual general en esa sección. El primer cambio en el color

observado por los panelistas fue un descenso en el brillo de la hoja probablemente inducido por los primeros pasos de la degradación de clorofila. Al día 16, las hojas externas presentaron una decoloración moderada y un pardeamiento leve en los bordes externos de las hojas. La presencia de pardeamiento fue considerado por los panelistas como un defecto de color. El OVQ en la sección externa estuvo también correlacionado con el contenido de Ácido Ascórbico, que presentó un descenso continuo durante todo el almacenamiento. Estos dos índices presentaron una correlación significativa con el contenido de agua unida.

El OVQ de las secciones media e interna estuvo significativamente correlacionado con el contenido de agua libre. Un descenso gradual en los valores de FW a lo largo del almacenamiento fue observado en estas secciones, acompañado de un aumento en los valores de BW. Como el contenido de agua total permaneció estable a lo largo del tiempo de almacenamiento, los cambios descritos podrían indicar movimientos de agua dentro la planta que resultaron en un descenso en el FW/TW durante el almacenamiento. Es posible que los movimientos de agua de la planta dañen la textura del tejido durante el almacenamiento. Es conocido que la turgencia, característica responsable de la firmeza y succulencia de los tejidos vegetales, depende del agua cuya retención dentro de la célula está limitada por la resistencia mecánica de la pared celular (Aguilar *et al.*, 1999). La permeabilidad de las membranas celulares y, por consiguiente la textura se modifica durante el almacenamiento de los vegetales. En ambas secciones los panelistas no notaron cambios en el color verde durante la post-cosecha; sin embargo, en la sección externa se detectó una correlación entre el contenido de clorofila y el OVQ. Al final del almacenamiento, se detectaron signos de leve fragilidad mecánica (pequeñas rupturas en el borde exterior de algunas hojas). Nuevamente, los movimientos de agua libre en la planta durante el almacenamiento podrían ser los responsables del daño en la textura al final del almacenamiento. En estas dos secciones, y en semejanza con lo encontrado en la sección externa, el descenso en la calidad visual de las plantas durante el almacenamiento refrigerado estuvo correlacionado con el descenso en el contenido de ácido ascórbico, es decir en la calidad nutricional del producto.

3.2. Almacenamiento en condiciones sub-óptimas (0-2 °C, 70-72 %HR)

3.2.1. Pérdida de peso

La **Figura 4.5** presenta los datos de pérdida de peso de las plantas expuestas a HR sub-óptima durante el almacenamiento. El ANOVA aplicado a estos datos indicó que el factor TIEMPO fue significativo ($p= 0.0003$), es decir que hubo diferencias significativas en la pérdida de peso de lechuga registrados en diferentes días de muestreo, con un incremento continuo en esta variable a medida que transcurrió el almacenamiento. Las pérdidas de peso más importantes ocurrieron durante los primeros días, con una tendencia a estabilizarse después del día tres. Al final del almacenamiento (día 5), las plantas presentaron una pérdida de peso total de 18.0 ± 1.0 %. Cuando la lechuga es almacenada en ambientes insaturados (como en la situación planteada en este capítulo: 0-2 °C y 70-72 %HR) la diferencia en la presión de vapor de agua (DPV) entre los espacios intercelulares del tejido y el ambiente inicia el proceso evaporativo de agua hacia el ambiente y los movimientos difusivos de agua dentro de la planta. En las condiciones ensayadas, la DPV alcanzó un valor promedio de 191 Pa.

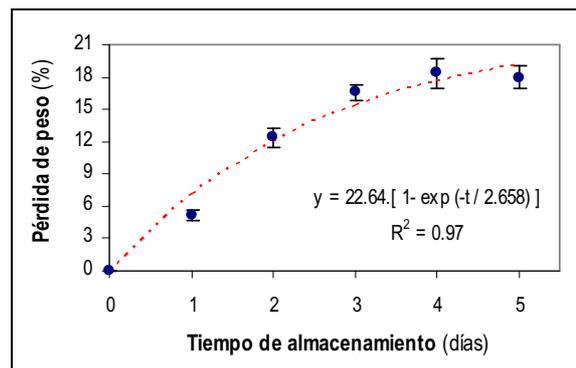


Figura 4.5. Evolución de la pérdida de peso durante el almacenamiento refrigerado de lechuga mantecosa.

La información disponible en la bibliografía sobre la pérdida de peso de plantas de lechuga entera durante su almacenamiento es escasa. Además, en cada investigación en que se consideró esta variable, se utilizaron diferentes binomios de condiciones T y HR y diferentes variedades de lechuga, lo cual hace difícil la comparación directa con el resultado encontrado en el presente capítulo. Sin embargo, estos valores pueden ser tomados como referencia, sin olvidar los efectos de los factores mencionados (la variedad y las condiciones de T y HR). Por ejemplo, Chandra *et al.* (2008) encontraron pérdidas de peso en el rango 17-18 % en lechugas Iceberg de dos cultivares diferentes luego de un almacenamiento en bolsas perforadas durante 10 días a 20 °C. Estos autores no hacen referencia en su trabajo a la HR del ambiente que rodeaba el producto. Isik y Çelik (2006) informaron una reducción en el peso de plantas de lechuga de hoja del 18.45 % durante 21 días de

almacenamiento en condiciones de 0.5 ± 1.0 °C y 90 %HR. En el presente capítulo, la pérdida de peso detectada en las plantas almacenadas 5 días en condiciones de HR sub-óptimas y T óptima está en el orden de las referencias citadas, pero en un tiempo más reducido. Esto se atribuye a las condiciones de almacenamiento, que en nuestro caso generaron una DPV mayor favoreciendo el proceso de pérdida de peso. Otros autores encontraron pérdidas de peso considerablemente menores. Por ejemplo, Martínez-Romero *et al.* (2008) informaron una pérdida de peso del 2 % en lechuga Iceberg almacenada 28 días a 2 °C y 85-90 %HR, mientras que Artés y Martínez (1996) informaron, para la misma variedad de lechuga una pérdida del 6.32 % cuando el almacenamiento se extendió 15 días bajo las mismas condiciones que las utilizadas por Martínez-Romero *et al.* (2008). Finalmente, Martínez y Artés (1999), almacenando lechuga Iceberg 15 días en condiciones más cercanas a las óptimas (2 °C y 90-95 %HR) encontraron una pérdida de peso del 4.75 % en las plantas. La variedad de lechuga es un factor clave a considerar ya que cada variedad presenta particularidades morfológicas. Así, la lechuga Iceberg tiene alto grado de compactación, lo cual hace que la superficie total expuesta al ambiente sea menor, y esto redundaría en menores pérdidas de peso. La lechuga mantecosa, en este sentido presenta una estructura más abierta, con mayor superficie expuesta, favoreciéndose de esta manera el proceso de pérdida de agua y en consecuencia, pérdida de peso. La pérdida de peso está dada principalmente por pérdida de agua cuando se expone al vegetal a un ambiente con condiciones de T y HR que generan una fuerza impulsora para este proceso (DPV) alta.

La evolución de la pérdida de peso de las plantas de lechuga durante los 5 días de almacenamiento, fue modelada con la siguiente ecuación:

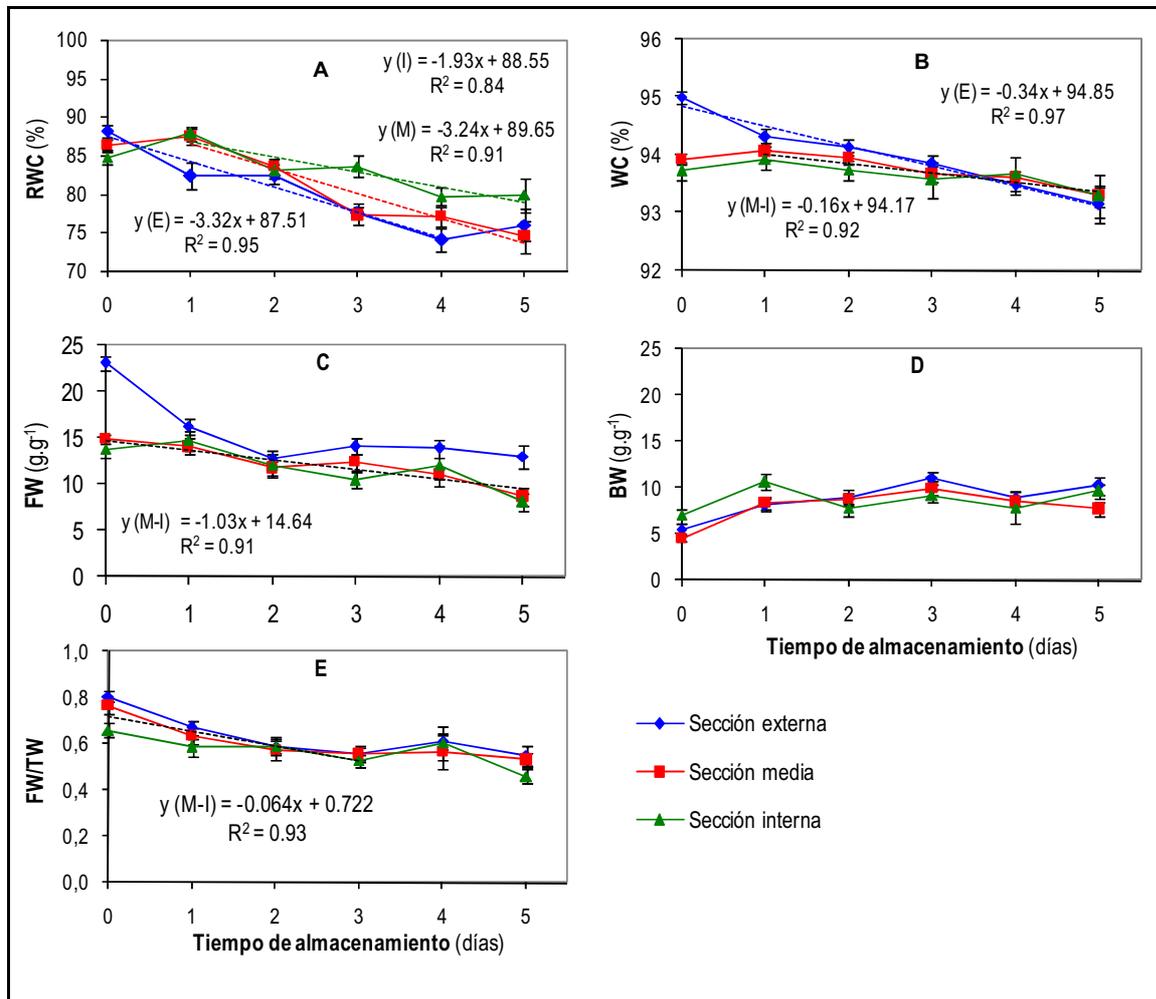
$$WL = A \cdot [1 - \exp(-t / \tau)] \quad (\text{Ec. 4.2})$$

donde WL es la pérdida de peso; A es el valor de estabilización de la pérdida de peso; t es el tiempo y τ es una constante de tiempo. Los parámetros del modelo (A y τ) fueron estimados y resultaron en los siguientes valores A= 22.64 % y τ = 2.7 días, con un ajuste de datos experimentales satisfactorio ($R^2= 0.97$).

Este modelo ha sido usado también por Roura *et al.* (2000) para describir las pérdidas de peso de hojas enteras y porciones cortadas de hojas de acelga almacenada a 4 °C y a una humedad relativa de 98 %. Ellos encontraron un valor de A más bajo y un τ más altos que los encontrados en el presente análisis. Esto se puede atribuir al hecho de que trabajaron con otro vegetal de hoja, así como a que trabajaron con una condición de HR más alta. De este modo, el valor de A, que indica la pérdida de peso cuando el tiempo se incrementa indefinidamente, es mayor en situaciones en que la humedad relativa es baja (mayor DPV), favoreciendo las pérdidas de peso.

3.2.2. Calidad fisiológica: Índices de status de agua

La **Figura 4.6** muestra la evolución de los índices de status de agua para cada sección de lechuga en función del tiempo de almacenamiento.



El modelo estadístico aplicado a los datos de RWC mostró interacción significativa entre los factores del análisis (TIEMPO*SECCIÓN), indicando este resultado que los valores de RWC en cada sección de la planta evolucionaron de manera diferente (**Figura 4.6(A)**). Si bien en las tres secciones se observó una disminución significativa de RWC en el período de post-cosecha ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$, $p = 0.0450$ para externa, media e interna, respectivamente), la sección externa de la planta evidenció ese descenso desde la cosecha misma y hasta el día 4, mientras que en las secciones media e interna, el RWC comenzó a disminuir luego del primer día de almacenamiento y este proceso continuó hasta el día 5. En las tres secciones de la planta el descenso en el RWC fue lineal en el tiempo, presentando las secciones externa y media mayor velocidad (-3.32 y -3.24

%·día⁻¹, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas), que la registrada en la sección interna (-1.93 %·día⁻¹). La caída total en el RWC (RWC final – RWC inicial) resultó de: 12.20, 11.81 y 4.92 % para las secciones externa, media e interna, respectivamente, alcanzando al día 5 valores absolutos de RWC que estuvieron por debajo del 80 % en las tres secciones de la planta.

Tal como se mencionó previamente, otros autores (Burdon y Clark, 2001; Landrigan *et al.*, 1998) también encontraron descensos continuos en el RWC de kiwi y rambután durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptimas. Si bien ellos trabajaron con frutas, la exposición a un ambiente con similares características que las ensayadas en el presente capítulo generó una respuesta similar de los tejidos medida a través de la disminución en el índice RWC. Estos descensos en el RWC pueden estar dados por reducciones en el peso fresco de las hojas (PF, ver *Ec. (1.1)*, Capítulo I) y también, cuando el grado de deterioro del tejido es elevado, por un aumento en el peso de turgencia (PT). Cuando el tejido vegetal es expuesto a un ambiente saturado, tal como se realiza en la técnica para determinar RWC, las células vegetales dañadas no ofrecen ninguna resistencia a la entrada de agua en el tejido. De este modo, es probable que en los estadios finales de deterioro las células del tejido presenten este estado dando lugar a un aumento en el PT (ver *Ec. (1.1)*, Capítulo I), generando mayores descensos en el RWC.

El análisis de los resultados de WC (**Figura 4.6(B)**) mostró, al igual que en el caso de RWC, una interacción significativa entre los factores del análisis, de modo que los cambios en el WC durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima tuvieron características particulares en cada sección de la planta. En todas las secciones de la planta se detectó un continuo descenso de WC desde el comienzo del almacenamiento hasta el día 5, pero la interacción se manifestó en la velocidad que caracterizó este proceso en cada sección. Así, la sección externa presentó una tasa de disminución del WC (-0.34 %·día⁻¹) que duplicó a la detectada en las secciones media e interna (-0.16 %·día⁻¹), sin diferencias significativas entre estas dos últimas. Al final del almacenamiento, la pérdida de agua total (WC final – WC inicial) alcanzó en cada sección de la planta: 1.98, 0.63 y 0.44 %, respectivamente. De este modo, las pérdidas de agua en la sección externa fue 4 veces más alta que en la interna. La velocidad de pérdida de agua en los vegetales, además de depender de la DPV, está influenciada por factores internos referidos al producto (características anatómicas y morfológicas, madurez del tejido, superficies dañadas, etc.) y factores externos o ambientales (temperatura, humedad relativa, movimiento del aire, etc.) (Ngure *et al.*, 2009). Las menores pérdidas de agua detectadas en las secciones media e interna podrían atribuirse a un efecto protector ejercido por las hojas externas que cubren parcialmente a las más internas.

Uno de los aspectos principales de la calidad de lechuga es su alto contenido de agua. El estrés climático aplicado (dado por la baja humedad relativa del aire durante el almacenamiento del vegetal post-cosecha) redujo el contenido de agua del producto. El proceso consiste en la desorción del agua de la superficie del vegetal, seguido por la migración de humedad del interior hacia la superficie, que facilita mayor desorción superficial, etc., hasta que el vegetal está completamente desecado. Para vegetales de hoja, como la lechuga, este proceso es particularmente crítico porque son productos con una elevada relación superficie-volumen y, al ser un fenómeno superficial, el proceso de deshidratación está favorecido en este tipo de productos.

La pérdida de agua máxima permisible en los productos hortícolas varía en función del vegetal considerado. Para la mayoría de los vegetales frescos se considera que una pérdida de agua entre el 5 al 10 % resulta en un producto de descarte sin posibilidades de comercialización (Kim *et al.*, 2004). Por ejemplo, para las cebollas es el 10 %, para espárrago es el 8 % y para lechuga alrededor del 3 % (Paull, 1999). Otros autores afirman que para el caso particular de la lechuga, una pérdida del 5 % de su contenido de agua causa rechazo total de las plantas debido a pérdida excesiva de textura (Martín-Diana *et al.*, 2007, 2005). En el presente estudio, las pérdidas de agua alcanzaron en la sección externa valores cercanos al 2 %, valor inferior al informado como máxima pérdida de agua aceptable para esta hortaliza.

La evolución del índice FW durante el almacenamiento se presenta en la **Figura 4.6(C)**. Para este índice también se detectó una interacción significativa entre los factores del análisis. Esta interacción se vio reflejada en que la sección externa tuvo un fuerte descenso (44 %) en el FW durante los dos primeros días de almacenamiento, manteniéndose constante luego, hasta el final del almacenamiento. La evolución de FW observada en las secciones media e interna se caracterizó por un descenso gradual y moderado durante el período completo de almacenamiento. Las pérdidas de FW alcanzaron un 42 % en estas secciones al final del almacenamiento. Cabe destacar que cuando la lechuga fue almacenada en condiciones óptimas, también se detectó una reducción en los valores de FW (**Figura 4.1(C)**). Sin embargo, los descensos encontrados en la situación óptima fueron menores y se registraron en un período de 20 días. Las disminuciones en el contenido de agua libre en los vegetales pueden estar dadas por pérdidas de agua (descensos en el WC) y/o por cambios en el status de agua al convertirse el agua libre en agua unida, por ejemplo.

A diferencia de los resultados estadísticos encontrados para los índices de status de agua hasta aquí presentados, el ANOVA aplicado a los datos de BW no presentó interacción significativa y el factor SECCIÓN tampoco fue significativo, pero sí lo fue el factor TIEMPO. Este resultado indica que no hubo diferencias significativas en los valores de BW entre las diferentes secciones de la

planta a lo largo del almacenamiento, presentando las tres el mismo comportamiento ascendente (**Figura 4.6(D)**). De este modo, el aumento registrado en promedio en las tres secciones fue de 4.39 g.g⁻¹ a lo largo del almacenamiento. Otra característica de este aumento fue que el mismo ocurrió principalmente durante el primer día de almacenamiento, con un valor promedio de aumento del 58 % respecto de los valores iniciales. Sabiendo que el agua unida tiende a reducir la presión de vapor de agua en el producto, este fenómeno (el aumento en BW) pudo ser una respuesta fisiológica vegetal buscando disminuir la cantidad de agua perdida. Sin embargo, en el almacenamiento bajo condiciones saturadas (97-98 %HR y de 0-2 °C) también se registró un aumento en el BW. Bajo las condiciones que no favorecen la pérdida de agua, el incremento en el BW es atribuido a ajustes primarios en el tejido forzados por el estrés abiótico en vez del estrés hídrico. El-Saidi *et al.*, (1975), Rascio *et al.*, (1998) y Misik (2000) coinciden en que el BW en los tejidos vivos parece jugar un rol principal en la tolerancia al estrés abiótico. En el presente capítulo, los incrementos de BW observados también en las lechugas almacenadas bajo condiciones óptimas refuerzan la hipótesis que los cambios en el status de agua son una respuesta fisiológica del tejido al estrés abiótico. Como una respuesta al corte en el suministro de nutrientes causado en la cosecha, es probable que los vegetales aumenten el contenido de BW intentando reducir las pérdidas de agua. Este hecho causa una reducción en la presión de vapor de agua del alimento, disminuyendo la velocidad de pérdida de agua hacia el ambiente insaturado.

De manera semejante a lo encontrado en el índice BW, sólo el factor TIEMPO del modelo estadístico aplicado a FW/TW resultó significativo. El FW/TW disminuyó durante almacenamiento un 30-31 % respecto del valor inicial encontrado en cada sección de lechuga (**Figura 4.6(E)**). Por lo tanto, FW no solo disminuye durante almacenamiento sino que también lo hace su proporción respecto al agua total de la planta. Parece ocurrir un cambio entre el agua libre y el agua unida a lo largo de almacenamiento, probablemente forzado por cambios de la concentración de solutos en la planta de lechuga. Una correlación entre la acumulación de solutos y un aumento en la fuerza de ligar el agua unida fue reportada en trigo durum (Rascio *et al.*, 1994).

3.2.3. Calidad microbiológica

La **Figura 4.7** presenta la evolución de los recuentos microbianos durante el almacenamiento de lechuga mantecosa en condiciones de HR sub-óptimas.

El análisis estadístico de los recuentos de bacterias mesófilas (**Figura 4.7(A)**) presentó como único factor significativo el TIEMPO. Este resultado indica que la evolución de la microflora mesófila no difirió en función de la sección de lechuga analizada, por el contrario, los recuentos en

las distintas secciones de la planta evolucionaron de la misma manera, sin diferencias significativas a lo largo del almacenamiento de 5 días. La evolución de este grupo de bacterias presentó un aumento significativo en las tres secciones, alcanzando valores en el rango entre 8.7 y 9.0 Log al final del almacenamiento. Tomando el pool de datos correspondientes a las tres secciones de la planta, el incremento en los recuentos fue lineal, con una velocidad de 0.25 Log.día⁻¹.

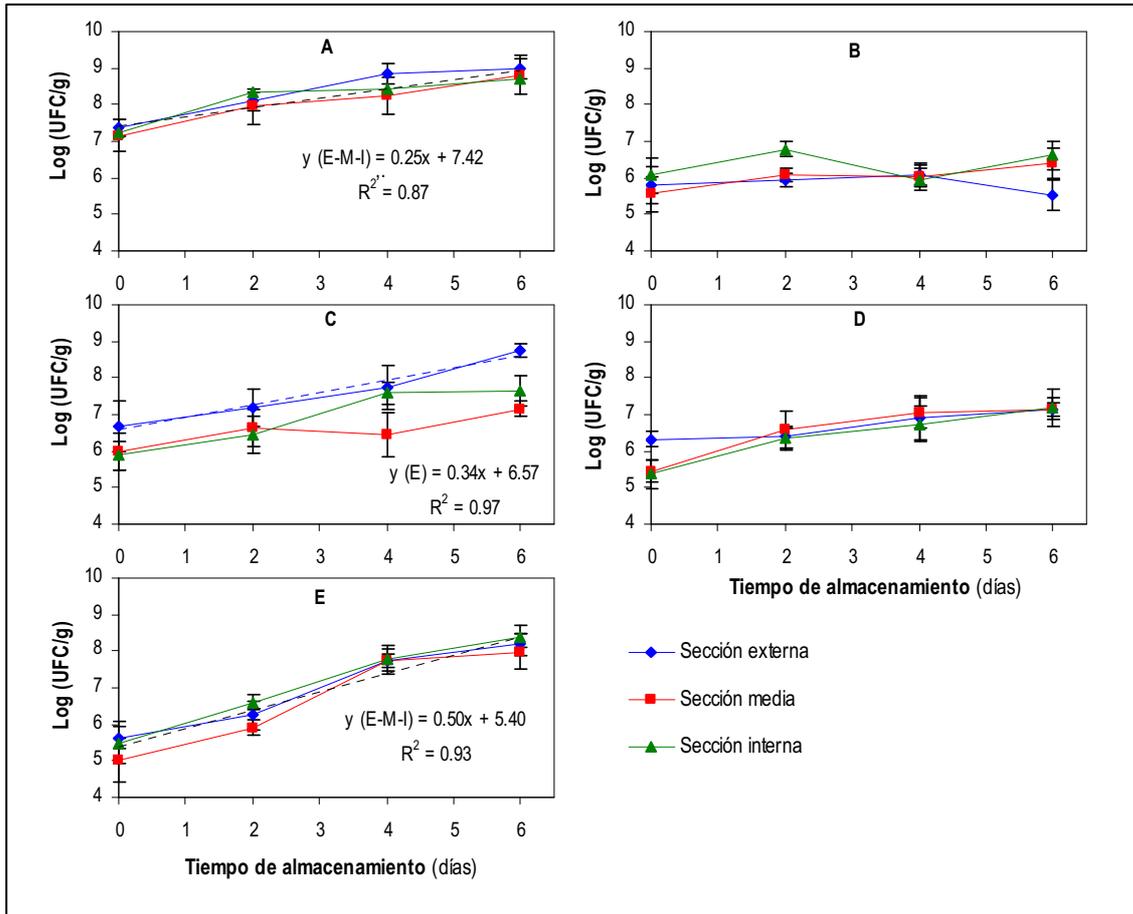


Figura 4.7. Evolución de las poblaciones microbianas en las secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima. (A): Bacterias mesófilas; (B): Bacterias ácido-lácticas; (C): Bacterias coliformes; (D): Hongos y levaduras; (E): Bacterias psicrófilas.

El comportamiento de la bacterias ácido-lácticas (LAB) durante el almacenamiento de 5 días (**Figura 4.7(B)**) no siguió un patrón definido. Más aún, se registró una interacción significativa entre los factores SECCIÓN y TIEMPO, indicando que la evolución de las bacterias LAB durante el almacenamiento presentó características particulares en cada sección de la planta. Así, en la sección interna se registraron oscilaciones en los recuentos de LAB, en la sección media hubo un leve incremento de casi 1 log y en la sección externa los valores se mantuvieron aproximadamente estables.

El análisis de la evolución de las bacterias coliformes totales (**Figura 4.7(C)**) indicó una interacción significativa entre los factores del análisis. De esta manera, mientras se observaron incrementos lineales en los recuentos de bacterias coliformes en la sección externa con una velocidad de $0.34 \text{ Log.día}^{-1}$, los recuentos en las otras dos secciones de la planta presentaron incrementos pero más moderados. Los recuentos al final del almacenamiento alcanzaron valores en el rango de 7.16 a 8.76, siendo los valores más altos registrados los correspondientes a la sección externa.

El análisis de los recuentos de hongos y levaduras (**Figura 4.7(D)**), resultó similar al caso de las bacterias mesófilas: no se detectó interacción significativa entre los factores del modelo estadístico, y el único factor que resultó significativo fue el TIEMPO indicando un comportamiento de los recuentos similar en las distintas secciones de la planta. Así, la evolución de los hongos y levaduras en lechuga almacenada a las condiciones sub-óptimas presentó un ligero incremento durante el almacenamiento sin diferencias significativas entre las secciones, alcanzando valores finales promedio de 7.16.

Finalmente, la evolución de las bacterias psicrófilas se presenta en la **Figura 4.7(E)**. El análisis estadístico presentó (de manera equivalente a lo encontrado para las bacterias mesófilas y hongos y levaduras) sólo el factor TIEMPO significativo. Es decir que la evolución de estos recuentos no difirió en función de la sección de la planta considerada. Considerando el pool de datos correspondientes a las tres secciones, se registró un incremento lineal con una velocidad de $0.50 \text{ Log.día}^{-1}$ alcanzando un valor promedio final de 8.19 Log.

3.2.4. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

Tal como se anticipó en Materiales y Métodos (inciso 2.3), como las plantas sufrieron pérdida de agua durante el almacenamiento, fue necesario expresar el contenido de AA en base seca para evitar sobreestimar este contenido. Para expresar los resultados en unidades de mg de AA / g tejido seco es necesario considerar el WC del tejido. A modo de ejemplo se presentan los valores de AA en base húmeda y en base seca para las tres secciones de la planta al momento de la cosecha: en la sección externa resultó $16.83 \pm 3.47 \text{ mg}/100 \text{ g}$ de tejido fresco (mg / 100 g TF), o bien $3.40 \pm 0.56 \text{ mg.g}^{-1}$ tejido seco (mg / g TS). Para la sección media los valores siguientes fueron encontrados: $16.75 \pm 3.39 \text{ mg} / 100 \text{ g TF}$ y $2.51 \pm 0.56 \text{ mg.g}^{-1} \text{ TS}$, respectivamente. Para la sección interna los valores obtenidos fueron $12.73 \pm 1.66 \text{ mg} / 100 \text{ g TF}$ y $2.11 \pm 0.23 \text{ mg.g}^{-1} \text{ TS}$, respectivamente.

Todas las secciones de lechuga presentaron disminuciones en el contenido de AA durante el almacenamiento en HR sub-óptima (**Figura 4.8(A)**). El análisis de varianza indicó interacción significativa entre los factores TIEMPO y SECCIÓN de modo que cada sección de la planta tuvo características particulares referidas a la evolución de AA. Las mayores pérdidas de AA fueron detectadas en la sección externa con una caída del 63 % respecto del valor registrado al momento de la cosecha. Las disminuciones en el contenido de AA fueron más moderadas en las secciones media e interna, con valores de 46 y 23 % respectivamente, aunque también fueron considerables.

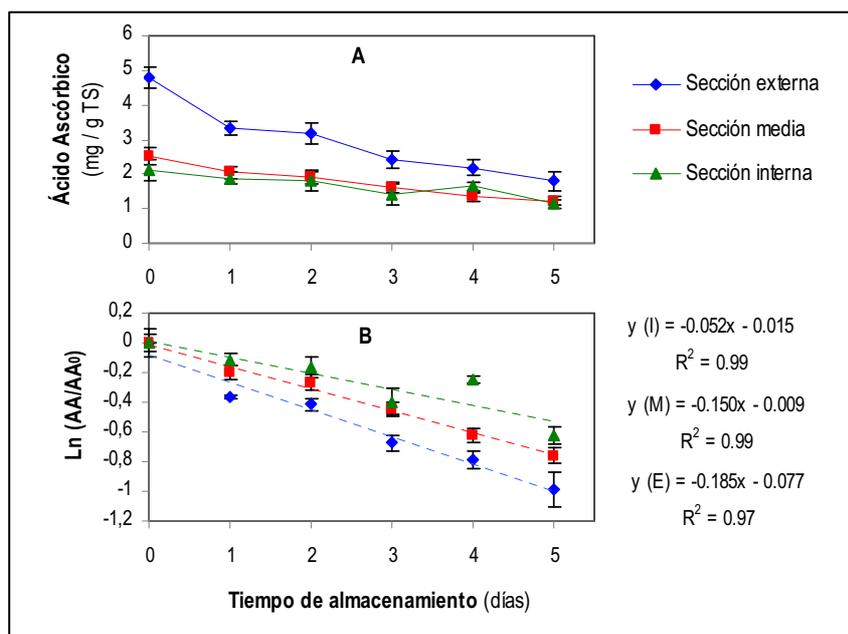


Figura 4.8. Evolución del contenido de Ácido Ascórbico en las secciones de lechuga almacenada en condiciones de HR sub-óptimas (A). Cinética de degradación de ácido ascórbico (B).

Para las tres secciones, la degradación de AA se modeló con una cinética de primer orden (**Figura 4.8(B)**). Se encontraron diferencias significativas en la velocidad de degradación de AA, en cada sección de la planta, particularmente entre las secciones externa (-0.185 día⁻¹) e interna (-0.052 día⁻¹). La sección media (-0.150 día⁻¹) presentó una velocidad de degradación de AA con características intermedias a las otras dos secciones, aunque más cercana a la sección externa. El AA en la sección externa se degrada a una velocidad 3.6 veces más rápido que en la sección interna.

Cuando la HR durante el almacenamiento de lechuga fue óptima, el contenido de ácido ascórbico no presentó diferencias en la velocidad de degradación en función de la sección de la planta considerada (ver Resultados, inciso 3.1.2). Las tres secciones presentaron una velocidad de degradación del AA de -0.038 día⁻¹. En cambio, bajo condiciones de HR sub-óptimas, este proceso

ocurrió con velocidades diferenciales en función de la sección considerada, con mayor velocidad en sección externa que en media e interna. Los valores de contenido de ácido ascórbico en cada sección de lechuga a los 5 días del almacenamiento fueron inferiores en HR sub-óptima (1.79, 1.22 y 1.14 mg.g⁻¹ TS) a los encontrados a los 20 días en secciones externa, media e interna, respectivamente, en plantas almacenadas en condiciones óptimas (expresados también en base seca: 1.97, 2.13 y 1.84, respectivamente).

Es generalmente aceptado que los vegetales de hoja pierden vitaminas, especialmente ácido ascórbico, durante la post-cosecha, pero suele dudarse si esta pérdida se debe a la temperatura o a la pérdida de agua (Paull, 1999; Kader, 2002b). Algunos autores sostienen que la pérdida de agua del tejido puede incrementar la pérdida de ácido ascórbico debido a procesos oxidativos (Shin *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 1998; Paull, 1999; van den Berg, 1987). Comparando el comportamiento del AA entre plantas almacenadas en HR óptima y plantas almacenadas en una atmósfera insaturada, siendo la temperatura utilizada en ambos casos la misma (0-2 °C), las diferencias en las pérdidas en el AA entre ambas situaciones se atribuyen principalmente a cambios en el contenido de agua de las muestras en HR baja. Así, en HR sub-óptima, la velocidad de degradación de ácido ascórbico en sección externa resultó 5 veces mayor a la registrada en HR óptima, 4 veces para la sección media y 1.4 veces para la sección interna. Este hecho comprobó que la retención del agua de las células juega un papel importante para mantener la calidad nutricional, medida a través del contenido de ácido ascórbico. Marfil *et al.* (2008), trabajando con deshidratación de tomate, también encontraron una relación entre la reducción del contenido de AA y la disminución del contenido de agua en el producto.

3.2.5. Calidad fisicoquímica: Contenido de clorofila

Del mismo modo que en el caso del AA, los resultados correspondientes al contenido de clorofila fueron expresados en base seca para independizarse del efecto de la pérdida de agua que ocurre en los tejidos. De este modo, el contenido de clorofila en la lechuga recién cosechada fue 7.28 ± 0.29 , 2.72 ± 0.32 y 0.59 ± 0.23 (mg.g⁻¹ TS) para las secciones externa, media e interna, respectivamente (**Figura 4.9(A)**). Las posibles causas de las diferencias significativas encontradas en los valores iniciales entre las secciones de la planta, se analizaron en el Capítulo I (inciso 3.4.1).

El análisis de varianza mostró interacción significativa entre los factores del modelo indicando que el comportamiento de clorofila en cada sección fue diferente a lo largo del almacenamiento. La sección externa presentó una degradación de pigmentos de clorofila siguiendo

una cinética de primer orden (**Figura 4.9(B)**), mientras que las secciones media e interna no mostraron ningún cambio en la concentración de clorofila durante tal período.

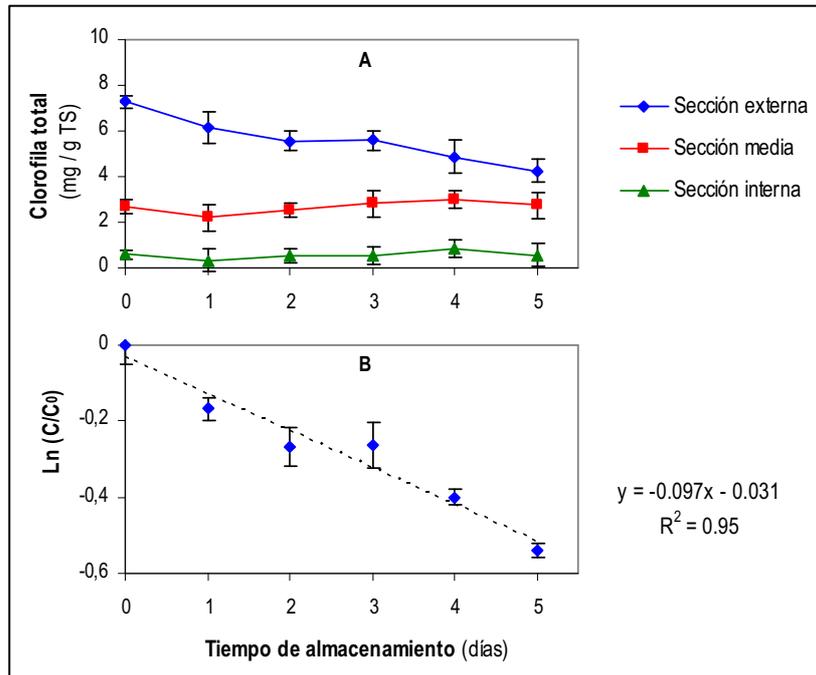


Figura 4.9. Evolución del contenido de clorofila en secciones externa, media e interna de lechuga (A); Cinética de degradación de clorofila en la sección externa de la lechuga (B).

Para lechuga almacenada en condiciones óptimas también se encontró una cinética de primer orden, pero la velocidad de degradación en HR sub-óptima resultó 2 veces más alta que en ese caso. Sin embargo, es interesante destacar que el contenido de clorofila a los 5 días de almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima en la sección externa ($4.24 \pm 0.50 \text{ mg.g}^{-1} \text{ TS}$) resultó inferior, aunque sin diferencias significativas, al registrado en el mismo período en plantas almacenadas en HR óptima ($4.59 \pm 0.38 \text{ mg.g}^{-1} \text{ TS}$). Esto se debe a que en el almacenamiento en condiciones óptimas las mayores pérdidas de clorofila ocurren durante los primeros días. Luego, las disminuciones continúan pero con menor intensidad resultando en una velocidad neta de degradación de clorofila menor que en condiciones sub-óptimas.

Las diferencias en la degradación de clorofila entre secciones, encontradas también durante el almacenamiento de plantas en condiciones óptimas, fueron atribuidas a la mayor exposición de las hojas a los factores ambientales tales como luz, oxígeno y la baja HR, que aceleran la degradación del pigmento. También la disminución significativa (44 %) de FW en esta sección durante los primeros días del almacenamiento, pudo colaborar con la pérdida de clorofila debido a los movimientos de agua.

Tal como se encontró en las plantas almacenadas en condiciones óptimas, las reducciones de AA detectadas en las secciones media e interna, no fueron concurrentes con disminuciones en el contenido de clorofila, porque nuevamente en estas dos secciones el pigmento se mantuvo estable durante los 5 días de almacenamiento. Otra vez, en la sección externa ocurrieron ambos fenómenos de manera simultánea.

3.2.6. Calidad organoléptica

La **Figura 4.10** presenta la evolución de la calidad visual general (OVQ) en cada sección de la planta durante el almacenamiento. Para las tres secciones, el tiempo de almacenamiento introdujo un detrimento importante en la apariencia del tejido con pérdida de la textura, extensión de decoloración y desarrollo de pardeamiento. El modelo estadístico resultó con una interacción significativa entre los factores del análisis, indicando que la evolución del OVQ en cada sección de la planta tuvo características particulares.

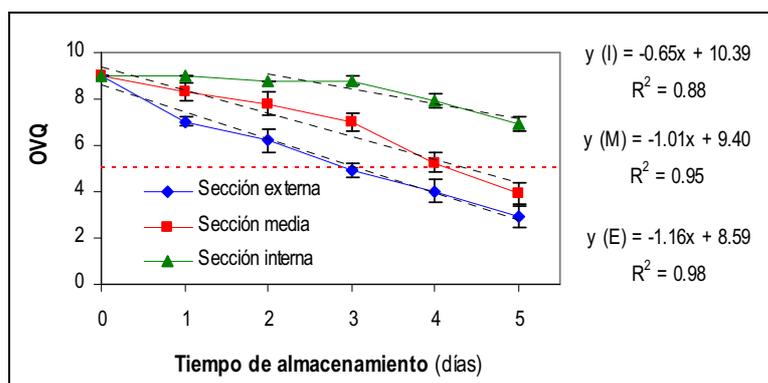


Figura 4.10. Evolución de la calidad visual general de las secciones de lechuga durante el almacenamiento.

El OVQ en las secciones externa y media se comportó de manera similar durante el almacenamiento mostrando una disminución lineal desde el principio y durante todo el período de almacenamiento. La sección externa mostró disminuciones diarias entre 2.0 y 0.8 puntos con una disminución media de 1.2 puntos por día, alcanzando el límite de aceptabilidad al día 3 de almacenamiento. Al final de almacenamiento, la caída de OVQ total en la sección externa resultó de 6.1 puntos. La sección media mostró disminuciones entre 1.7 y 0.5 con una disminución promedio de 1 punto por día. En esta sección, el límite de aceptabilidad se alcanzó pasando el día 4 y la caída total de OVQ resultó de 5.1 en el tiempo de almacenamiento completo. Finalmente, la sección interna también mostró una reducción en OVQ pero recién después del día 3 de almacenamiento. Durante los primeros 3 días, los miembros del panel sensorial no detectaron diferencias de calidad comparando con el día de cosecha. Sin embargo, después de este período, los valores de OVQ

disminuyen en el rango de 0.9 y 1.0 puntos, mostrando una caída total de 2.1 puntos hacia el final del almacenamiento. En esta sección el OVQ resultó siempre más alto que el límite de aceptabilidad. Las diferencias detectadas en el OVQ impactan sobre la vida útil de cada sección de la planta. Al final de almacenamiento (día 5), el OVQ de la sección interna resultó superior al límite de aceptabilidad (6.9), mientras que para las secciones media y externa resultó por debajo de este límite (3.9 y 2.9, respectivamente).

El primer cambio observado por los miembros del panel sensorial con respecto a la sección externa fue la disminución de la textura de las hojas, pérdida de turgencia y fragilidad mecánica en el borde (observado el día 1 en hojas de sección externa). Al día 2 del almacenamiento los panelistas detectaron una disminución en el brillo de las hojas y pérdidas del color verde típico con la apariencia más amarillenta. En este momento el panel describió la calidad visual de las hojas de la sección interna como adecuada. Al día 5, los miembros del panel observaron que las hojas externas de la planta presentaban pardeamiento extendido en nervaduras, fragilidad mecánica extrema, pérdida intensa de textura y una decoloración superficial generalizada. Aunque las pérdidas de calidad organoléptica en la sección media también fueron observadas desde el comienzo del almacenamiento, los panelistas describieron esta sección como más protegida y menos afectada en comparación con la externa.

3.2.7. Análisis de correlación

Para hacer comparables los resultados con los obtenidos para el almacenamiento en HR óptima, el análisis de correlación entre el OVQ y los recuentos microbiológicos se llevó a cabo separadamente respecto de las correlaciones con los demás índices de calidad.

La **Tabla 4.2.** presenta los coeficientes de correlación de Pearson (r) para las correlaciones entre los recuentos microbiológicos y el OVQ en cada sección de la planta.

OVQ	Mesófilas	LAB	Coliformes	HyL	Psicrófilas
Sección externa	-0.987 ^c	-0.424	-0.975 ^c	-0.927 ^b	-0.968 ^b
Sección media	-0.916 ^b	-0.797	-0.744	-0.864 ^a	-0.964 ^b
Sección interna	-0.620	0.268	-0.834 ^a	-0.769	-0.842 ^a

Tabla 4.3. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre los recuentos de las poblaciones microbianas y la calidad visual general (OVQ) en diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima. (^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$).

El OVQ en la sección externa de la planta presentó correlaciones significativas con todas las poblaciones microbianas analizadas, con excepción de las bacterias ácido-lácticas. Este

comportamiento fue diferente al encontrado en lechugas almacenadas en condiciones óptimas (Capítulo II, Resultados, inciso 3.4), donde se encontró una correlación significativa entre el OVQ y las bacterias LAB en la sección externa. En la sección media, el OVQ correlacionó con los recuentos de bacterias mesófilas y psicrófilas y con los recuentos de hongos y levaduras. Finalmente en la sección interna, las bacterias coliformes y las psicrófilas correlacionaron con el OVQ. En todos los casos las correlaciones fueron negativas, es decir, se registró un descenso en el OVQ en paralelo con un incremento en los recuentos microbianos de las poblaciones mencionadas.

La **Tabla 4.3** presenta los coeficientes de correlación de Pearson (r) para todas las correlaciones cruzadas entre los parámetros analizados para cada sección: índices de status de agua, contenido de clorofila, contenido de ácido ascórbico y la calidad visual general.

	RWC	WC	FW	BW	FW/TW	C	AA
Sección externa							
RWC	1.000						
WC	0.947 ^b	1.000					
FW	0.795	0.840 ^a	1.000				
BW	-0.804	-0.814 ^a	-0.884 ^a	1.000			
FW/TW	0.825 ^a	0.872 ^a	0.968 ^b	-0.966 ^b	1.000		
C	0.785	0.816 ^a	0.991 ^c	-0.930 ^b	0.984 ^c	1.000	
AA	0.963 ^b	0.984 ^c	0.884 ^a	-0.888 ^a	0.917 ^b	0.875 ^a	1.000
OVQ	0.953 ^b	0.997 ^c	0.830 ^a	-0.833 ^a	0.878 ^a	0.980 ^c	0.984 ^c
Sección media							
RWC	1.000						
WC	0.948 ^b	1.000					
FW	0.855 ^a	0.867 ^a	1.000				
BW	-0.430	-0.183	-0.410	1.000			
FW/TW	0.761	0.620	0.833 ^a	-0.845 ^a	1.000		
C	-0.726	-0.663	-0.402	-0.012	-0.224	1.000	
AA	0.909 ^b	0.842 ^b	0.909 ^b	-0.607	0.899 ^b	-0.479	1.000
OVQ	0.906 ^a	0.937 ^b	0.939 ^b	-0.325	0.748	-0.530	0.946 ^b
Sección interna							
RWC	1.000						
WC	0.765	1.000					
FW	0.756	0.958 ^b	1.000				
BW	0.297	-0.051	-0.153	1.000			
FW/TW	0.414	0.778	0.867 ^a	-0.615	1.000		
C	-0.933 ^b	-0.662	-0.573	-0.436	-0.181	1.000	
AA	0.643	0.853 ^a	0.936 ^b	-0.447	0.949 ^b	-0.456	1.000
OVQ	0.803	0.834 ^a	0.796	-0.215	0.703	-0.708	0.796

Tabla 4.2. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre los índices de status de agua (RWC, WC, FW, BW, FW/TW y WSD) y contenido de clorofila (C), y la calidad visual general (OVQ) en diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima. (^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$).

Tal como en el caso de las poblaciones microbianas, en cada sección de lechuga, el OVQ mostró correlaciones con diferentes índices entre los evaluados. Esto se relaciona con el hecho de que cada índice se comportó de manera particular en cada sección de la planta. En las secciones externa, media e interna de lechuga, el WC fue un parámetro fisiológico que correlacionó significativamente (con valores p de 0.00015, 0.006 y 0.037, respectivamente) con la calidad organoléptica. En la sección externa todos los índices de calidad correlacionaron bien con el OVQ, particularmente WC, AA y C presentaron los mayores coeficientes de correlación ($p= 0.00015$, $p= 0.0003$ y $p= 0.001$, respectivamente). Bajo estrés hídrico era un resultado esperable que todos los índices de agua correlacionaron con el OVQ. La mayor exposición a los factores ambientales (baja HR, oxígeno, luz) de la sección externa aceleró las pérdidas de agua y también la degradación de clorofila. El OVQ de la sección media correlacionó significativamente con WC, RWC, FW y AA ($p= 0.006$, $p= 0.013$, $p= 0.005$ y $p= 0.004$, respectivamente) mientras que en la sección interna correlacionó significativamente sólo con WC y AA ($p= 0.037$ y $p= 0.045$). Los cambios diferenciales observados en los índices de status de agua y en la degradación de clorofila de la planta, en función de la sección considerada, pudieron tener un impacto directo sobre la vida útil de cada sección de lechuga. (Nuevamente vale la pena aclarar que la correlación no implica necesariamente causalidad, pero puede sugerirla). El ácido ascórbico, por su parte que presentó degradación en las tres secciones de la planta correlacionó bien con el OVQ en todas las secciones. Las hojas externas de lechuga mostraron el deterioro más acelerado, alcanzando el límite de aceptabilidad a los 3 días del almacenamiento bajo condiciones de humedad relativa baja, mientras que la sección interna tuvo una vida útil más extendida.

4. CONCLUSIONES

El estudio de los índices de calidad en lechuga mantecosa confirmó las diferencias en los valores iniciales de cada sección así como en su evolución durante el almacenamiento en condiciones óptimas (baja temperatura y alta humedad relativa). El método del contenido relativo de agua (RWC) resultó ser más adecuado que el tradicional contenido de agua (WC) debido a que gracias a su determinación fue posible detectar cambios en la capacidad de contener agua de los tejidos. Sin embargo, no se detectó correlación significativa particularmente entre el RWC y la calidad visual de la lechuga. La medición tradicional de contenido de agua (WC) bajo condiciones óptimas no correlacionó con la calidad visual porque este índice no refleja el status de agua dentro del tejido. Estos resultados limitan el uso de estos parámetros como índices objetivos para predecir

la evolución de la calidad de lechuga. En cambio, las mediciones del contenido de agua libre y unida en las hojas de lechuga probaron ser indicadores valorables del verdadero status de agua dentro del tejido. La sección externa presentó un valor de FW/TW más alto respecto de las demás secciones de la planta (85% de su agua total estaba como libre), indicando que estas hojas externas tienen más agua disponible para ser usadas como reacciones enzimáticas y oxidativas, crecimiento microbiano, evaporación o transpiración. Como consecuencia, las hojas externas fueron las más percederas y tuvieron la menor vida útil comparada con las otras secciones de lechuga.

Bajo condiciones de almacenamiento óptimas y en todas las secciones de lechuga, se detectó un incremento en la cantidad de agua unida con un simultáneo descenso en el contenido de agua libre. Este comportamiento podría soportar la hipótesis de ajustes en el tejido forzados principalmente por el estrés abiótico (estrés de cosecha, baja temperatura y tiempo de almacenamiento). En las secciones media e interna, el parámetro OVQ correlacionó con el agua libre. Por lo tanto, el FW constituye un índice objetivo y cuantitativo que se correlaciona con la calidad visual de lechuga mantecosa.

Durante el manejo de las cabezas de lechuga, es una práctica común remover las hojas externas de la planta a medida que avanza el almacenamiento. Estas hojas son más percederas que las medias e internas debido a su exposición directa a las condiciones ambientales. La mayor velocidad de pérdida de calidad visual observada en la sección externa podría atribuirse a la pérdida de color verde y a cambios en el status del agua de la planta (intercambio de agua libre y unida dentro de la misma).

Durante el almacenamiento en condiciones de humedad inadecuadas (sub-óptima), la apariencia de las plantas de lechuga evolucionó rápidamente presentando marchitamientos, pérdida de agua y pérdida de peso. Estos hechos afectaron la calidad organoléptica suficientemente para causar el rechazo del vegetal por parte del panel sensorial. La pérdida de agua resulta en una reducción del peso fresco y usualmente está acompañado por pérdida en la frescura, apariencia y textura.

Los índices de status de agua, contenido de clorofila y OVQ presentaron una evolución durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptimas con características particulares para cada sección de lechuga. La sección externa mostró el deterioro organoléptico más acelerado, con una vida útil de 3 días, cuando en condiciones de almacenamiento óptimas (T y HR), la extensión de la misma fue de 20 días. La mayor exposición a los factores ambientales (baja HR, oxígeno, luz, entre otros) de las hojas externas aceleraron la pérdida de peso, pérdida de agua, degradación de ácido ascórbico, degradación de clorofila y pérdida de calidad organoléptica, poniendo en evidencia

el impacto de la condición de HR combinado con la T (DPV) sobre la extensión de la vida útil del producto.

Bajo las condiciones que favorecen pérdida de agua, el contenido de agua libre disminuyó un 44 % durante los primeros dos días de almacenamiento en la sección externa, mientras que en las secciones media e interna la disminución del FW fue del 42 % al final del almacenamiento. La relación FW/TW disminuyó gradualmente en las tres secciones durante el almacenamiento. Al final del almacenamiento (5 d), las pérdidas de WC observadas en lechuga almacenada en baja HR fueron 2.0, 0.7 y el 0.5 %, para las secciones externa, media e interna, respectivamente. Estos valores son menores que los máximos recomendados por la bibliografía. Sin embargo, los puntajes obtenidos para la calidad visual general fueron suficientes para causar el rechazo del producto por parte del panel sensorial, al menos en las secciones externa y media. En general, durante el almacenamiento en HR sub-óptima, las poblaciones microbianas analizadas presentaron una evolución sin diferencias entre secciones. Tampoco se observaron diferencias significativas al comparar con la evolución que se registró durante el almacenamiento de las plantas en condiciones óptimas de humedad y temperatura (presentado en el Capítulo II). Este hecho indica que la HR tuvo un bajo impacto sobre el índice microbiológico.

El período de vida útil de las hortalizas luego de la cosecha de las mismas constituye un período dinámico en el que ocurren cambios trascendentales en numerosos atributos de calidad tal como nutricionales, organolépticos, fisiológicos, físico-químicos y microbiológicos. Aún cuando la lechuga es almacenada bajo condiciones óptimas recomendadas para esta hortaliza, ocurren cambios en todos esos atributos y todos ellos son importantes de caracterizar y monitorear. Sin embargo, el gran número de determinaciones experimentales que ello implica, plantea la necesidad de introducir algún índice global, que reúna la información de los índices que impactan en mayor medida sobre la vida útil del producto, evaluándolos simultáneamente. Esta metodología será introducida en el Capítulo V de la presente tesis.

CAPÍTULO V

MODELADO DE LA EVOLUCIÓN DE INDICES DE CALIDAD

Esquema conceptual

Índices evaluados:

- Contenido de agua relativo (RWC)
- Contenido de agua (WC)
- Contenido de agua libre (FW)
- Contenido de agua unida (BW)
- Relación agua libre a agua total (FW/TW)
- Contenido de ácido ascórbico (AA)
- Contenido de clorofila (C)
- Recuentos de poblaciones microbianas (Log (UFC/g))
- Calidad visual global (OVQ)

Seguimiento

- Durante el almacenamiento en condiciones óptimas.
- Durante el almacenamiento en condiciones sub-óptimas.

Modelo

- Secciones de la planta: externa, media e interna.
- Desarrollo de modelo de Índice de Estabilidad Global (GSI) para cada sección de la planta bajo diferentes condiciones de almacenamiento.
- Modelo cinético para GSI.

CAPÍTULO V:

MODELADO DE LA EVOLUCIÓN DE INDICES DE CALIDAD

CALIDAD

1. INTRODUCCIÓN

El modelado de la evolución de la calidad de las hortalizas y la predicción de la extensión de la vida útil de las mismas, es una tarea compleja debido a la gran variedad de atributos (químicos, físicos, microbiológicos, fisiológicos, nutricionales y sensoriales) que impactan sobre la vida útil de estos productos (Osvald y Stirn, 2008; Lukasse y Polderdijk, 2003). Además, es necesario considerar que la dinámica de cada uno de estos atributos tiene características particulares que dependen de las condiciones de almacenamiento (Tijskens y Polderdijk, 1996). Por lo tanto, para realizar un seguimiento de los índices de calidad es necesario determinar la frecuencia de muestreo (que es función de la expectativa de vida útil del producto y de la severidad de las condiciones de almacenamiento) y determinar experimentalmente el valor que adquiere cada índice en cada tiempo de muestreo. Esta información experimental puede representarse matricialmente (**Tabla 5.1**).

Tiempo de almacenamiento	Criterio 1	Criterio 2	...	Criterio i	...	Criterio p
0	C_{10}	C_{20}	...	C_{i0}	...	C_{p0}
1	C_{11}	C_{21}	...	C_{i1}	...	C_{p1}
2	C_{12}	C_{22}	...	C_{i2}	...	C_{p2}
...	$C_{i.}$...	$C_{p.}$
j	C_{1j}	C_{2j}	$C_{.j}$	C_{ij}	$C_{.j}$	C_{pj}
...	$C_{i.}$...	$C_{p.}$
m	C_{1m}	C_{2m}	$C_{.j}$	C_{im}	$C_{.j}$	C_{pm}

Tabla 5.1. Matriz de datos experimentales.

Cada dato en la matriz experimental es representado por C_{ij} que es el valor medido experimentalmente para el criterio de calidad i luego de un tiempo de almacenamiento j ; siendo m el tiempo de almacenamiento total y p el número total de criterios de calidad empleados.

Luego, el análisis de los datos recolectados puede ser llevado a cabo mediante una descripción de la variación de cada criterio a lo largo del almacenamiento detectando tendencias o patrones de cambio. Adicionalmente, para aquellos criterios de calidad en los que se detectaron claros patrones de comportamiento puede aplicarse el modelado matemático que permite estudiar la cinética de degradación de calidad mediante modelos del tipo:

$$-\frac{dA}{dt} = kA^n \quad (\text{Ec. 5.1})$$

donde A es el valor medido en el tiempo t para el criterio de calidad seleccionado, n es el orden aparente de reacción y k es la constante de velocidad. Para la mayoría de los productos alimenticios el orden de reacción de los procesos de deterioro generalmente es 0 o 1 (Achour, 2006).

Con el objetivo de determinar la calidad total del alimento, es necesario cuantificar y evaluar muchos índices y estudiar la importancia relativa de cada uno de ellos para cada situación particular (producto, mercado, tendencias) (Zwietering *et al.*, 1993). Este trabajo, requiere un gran número de determinaciones experimentales que consumen no solo tiempo, sino también mano de obra y recursos. La mayoría de los enfoques se basan en que para cada producto hay una característica líder que puede ser usada en los modelos de predicción de la calidad (Rong *et al.*, 2009). Sin embargo, cuando se quieren tener en cuenta varios aspectos del producto, este enfoque de seguimiento de un único criterio por vez, resulta inadecuado.

Achour (2006) propuso un método para caracterizar la calidad de un producto a través de un único índice de estabilidad global (GSI, por sus siglas en inglés: Global Stability Index), que permite medir la estabilidad del producto mediante la determinación de la variación simultánea de todos los índices de calidad durante el almacenamiento. Aunque el trabajo de Achour (2006) representa una alternativa válida para expresar de manera sencilla la estabilidad de un producto, no es un método práctico cuando existen muchos índices de calidad, porque implica la necesidad de medir experimentalmente todos los índices.

Por lo tanto, los objetivos del presente capítulo fueron:

1. Desarrollar una modificación del método GSI propuesto por Achour (2006) para:
 - a. establecer los criterios para la determinación de los parámetros (valores umbrales y factores de peso) necesarios para el cálculo del GSI.
 - b. establecer el criterio a utilizar para seleccionar el conjunto de índices que mejor representen la pérdida de la calidad durante la vida útil de la lechuga mantecosa, reduciendo el número de determinaciones experimentales.

2. Calcular el nuevo índice de calidad (GSI) y caracterizar su evolución en plantas de lechuga almacenadas bajo las dos condiciones ensayadas en el Capítulo IV.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Compilación de datos experimentales

Para el desarrollo del nuevo método a partir del modelo propuesto por Achour (2006), se utilizaron los datos experimentales informados en el Capítulo IV correspondientes a los índices fisiológicos (índices de status de agua), nutricional (contenido de ácido ascórbico), físico-químico (contenido de clorofila), microbiológico (recuento de bacterias mesófilas totales) y organoléptico (la calidad visual general) para cada sección de plantas de lechuga almacenadas bajo condiciones óptimas (0-2 °C y 97-99 %HR) y sub-óptimas (0-2 °C y 70-72 %HR).

2.2. El modelo GSI de Achour

Achour (2006) propuso transformar los datos experimentales para formular un parámetro simple, el Índice de Estabilidad Global (GSI), el cual tiene en cuenta las variaciones de todos los criterios de calidad y sus correspondientes valores umbrales. Para este propósito, propuso calcular una nueva matriz formada por términos de variaciones V_{ij} de la forma:

$$V_{ij} = \frac{(C_{ij} - C_{i0})}{(L_i - C_{i0})} \quad (\text{Ec. 5.2})$$

donde C_{ij} es el valor medio del índice i en el tiempo j , C_{i0} es el valor inicial del índice i cuando el tiempo es igual a 0 y L_i es el valor umbral para el índice i . El valor umbral para cada índice puede establecerse por regulaciones legales, prácticas habituales, acuerdo con el consumidor, entre otros. Por lo tanto, V_{ij} describe la variación del índice i detectada en el tiempo j , en comparación con la máxima variación tolerable.

De esta manera, la matriz de datos experimentales es transformada en una matriz de variación (**Tabla 5.2**).

Tiempo de almacenamiento	Criterio 1	Criterio 2	...	Criterio i	...	Criterio n
0	V_{10}	V_{20}	...	V_{i0}	...	V_{n0}
1	V_{11}	V_{21}	...	V_{i1}	...	V_{n1}
2	V_{12}	V_{22}	...	V_{i2}	...	V_{n2}
...	V_{i}	...	V_{n}
Tiempo j	V_{1j}	V_{2j}	V_j	V_{ij}	V_j	V_{nj}
...	V_{i}	...	V_{n}
m	V_{1m}	V_{2m}	$V_{.m}$	V_{im}	$V_{.m}$	V_{nm}

Tabla 5.2. Matriz de variación.

Según Achour (2006), los valores de V_{ij} están en el rango de 0 a 1. Para el tiempo inicial, el valor de C_{ij} es el valor inicial, de modo que el numerador de la *Ec. (5.2)* se hace nulo. A medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, C_{ij} se va acercando al valor umbral (L_i), de modo que la diferencia entre C_{ij} y C_{i0} toma un valor cada vez más cercano a $(L_i - C_{i0})$, y el valor de V_{ij} se acerca a 1. En este punto, Achour sugiere que el último valor que puede asumir C_{ij} es igual a L_i , ya que si C_{ij} atraviesa el límite establecido por el umbral, el producto ha alcanzado el límite de aceptación, y la experimentación no debería continuar.

Finalmente, se calcula el índice de GSI en cada tiempo de muestreo a partir de la siguiente expresión:

$$GSI_j = 1 - \sum_{i=1}^n \alpha_i V_{ij} \quad (\text{Ec. 5.3})$$

donde α_i es un factor de peso que refleja la importancia relativa del índice i para describir la calidad global del producto. Este parámetro varía entre 0 (el índice no tiene influencia sobre la calidad del producto) y 1 (el índice tiene un alto impacto sobre la calidad del producto), cumpliéndose que la sumatoria de los factores de peso de todos los índices sea igual a 1. GSI varía entre 1 y 0. Si el índice es más cercano a la unidad, el producto mantiene su calidad inicial, y si se acerca a cero, la calidad del producto está disminuida.

Achour (2006) desarrolló una aplicación de esta metodología al estudio de la evolución de la calidad global de una gaseosa de naranja utilizando dos índices de calidad (uno relacionado con el aspecto nutricional -°Brix- y el otro con el aspecto sensorial -concentración de CO₂-) durante un almacenamiento de 60 días. Para determinar el valor del parámetro α_i ideó tres situaciones o escenarios diferentes:

- *Escenario 1:* el aspecto nutritivo es el más importante. En este caso, como el índice de °Brix es el más importante, le asoció un factor de peso más alto ($\alpha_{Brix} = 0.9$ y $\alpha_{CO2} = 0.1$).

- *Escenario 2*: el aspecto sensorial es el más importante. En este caso, como la concentración de CO₂ es más importante, le asoció un factor de peso más alto ($\alpha_{Brix} = 0.1$ y $\alpha_{CO_2} = 0.9$).
- *Escenario 3*: el aspecto nutritivo y el sensorial tienen igual importancia ($\alpha_{Brix} = 0.5$ y $\alpha_{CO_2} = 0.5$).

De esta manera, aplicando las Ec. (5.2) y (5.3) encontró la evolución del GSI en cada uno de los escenarios planteados a lo largo del almacenamiento.

Si bien el método GSI desarrollado por Achour presenta numerosas ventajas y aspectos positivos, algunas dificultades surgen de inmediato al pensar en su aplicación para el caso de descripción de la calidad de lechuga mantecosa. Algunos de ellos se presentan a continuación:

- Alto número de índices de calidad utilizados: índices de status de agua (RWC, WC, FW, BW, FW/TW), contenido de clorofila, contenido de ácido ascórbico reducido, recuentos de diferentes poblaciones microbianas (bacterias mesófilas, psicrófilas, coliformes, ácido-lácticas, hongos y levaduras).
- Diferente comportamiento de los índices en función de la sección de la planta considerada.
- Inexistencia de criterios establecidos por regulaciones legales o comerciales para la determinación de algunos límites de calidad o valores umbrales (L_i).
- Dificultad en la determinación del factor de peso (α_i) para cada índice.

Es por ello que en el presente capítulo, el método propuesto por Achour fue utilizado como metodología raíz para desarrollar una modificación o complemento del método original para hacerlo aplicable a casos más complejos con características similares a las detalladas.

2.3. Análisis de datos

Los análisis de correlación entre los índices de calidad, las regresiones lineales y no lineales y las comparaciones entre los modelos ajustados se llevaron a cabo utilizando el software SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002). Las correlaciones fueron evaluadas a través de los coeficientes de Pearson, obtenidos con PROC CORR. Los ajustes de los modelos lineales y no lineales se llevaron a cabo mediante los procedimientos *Regression* (PROC REG) y *Model* (PROC MODEL), respectivamente. La comparación de los modelos lineales se llevó a cabo mediante el uso de variables dummy que permitieron la evaluación de la probabilidad de paralelismo (pendientes iguales) y/o coincidencia (rectas iguales) entre los modelos lineales ajustados para las diferentes secciones de la planta (Kuehl, 2001). Este análisis se llevó a cabo utilizando los tests de comparaciones múltiples del PROC REG.

3. RESULTADOS

3.1. Modelado de evolución de calidad de lechuga almacenada en condiciones óptimas

En primer lugar se tomaron los datos correspondientes a la evolución de los índices de calidad durante el almacenamiento de plantas de lechuga en condiciones óptimas de temperatura y humedad relativa (Capítulo IV). Con esta información se preparó la matriz de datos experimentales (*Tabla 5.3*).

Tiempo (días)	OVQ	RWC	WC	FW	BW	FW/TW	C	AA	UFC
<i>Sección externa</i>									
0	9.0	87.6	95.1	23.1	4.1	0.85	35.6	18.5	5.1
2	8.8	89.9	95.1	18.8	8.4	0.69	32.2	17.6	7.0
5	8.2	87.6	94.7	23.0	7.4	0.75	24.4	13.9	6.8
8	7.6	89.4	94.8	17.7	7.5	0.69	26.4	15.2	7.6
13	7.2	88.8	95.1	19.1	7.9	0.70	18.9	10.2	8.4
16	6.4	87.2	95.2	19.0	8.8	0.68	13.9	8.7	8.2
20	5.0	87.9	95.1	19.3	8.7	0.69	14.3	8.0	8.0
<i>Sección media</i>									
0	9.0	85.8	94.5	15.4	4.5	0.76	15.0	17.5	5.6
2	8.9	89.7	94.7	15.4	6.7	0.70	13.5	16.4	6.4
5	8.9	88.6	94.7	16.1	9.3	0.63	13.8	13.5	6.6
8	8.8	90.8	94.4	14.4	9.7	0.57	13.4	13.4	7.7
13	8.0	87.8	94.6	14.2	9.7	0.59	12.8	9.7	7.1
16	7.8	88.6	94.6	13.1	10.5	0.55	11.9	8.0	6.9
20	6.7	86.7	94.6	12.9	10.8	0.55	9.5	7.8	6.8
<i>Sección interna</i>									
0	9.0	84.1	94.4	15.1	5.9	0.72	3.3	12.7	5.4
2	9.0	91.0	94.8	15.7	11.5	0.58	1.8	11.4	6.7
5	9.0	92.5	94.4	13.0	14.6	0.47	3.0	8.2	7.2
8	8.9	92.5	94.6	11.3	11.8	0.44	2.8	9.9	8.3
13	8.6	90.6	94.8	9.7	11.9	0.37	3.4	7.7	7.1
16	8.2	88.6	94.5	9.4	12.0	0.44	3.9	5.1	7.1
20	7.8	90.7	94.7	10.5	11.7	0.47	3.1	4.9	7.0

Tabla 5.3. Matriz de datos experimentales de lechuga almacenada en condiciones óptimas.

3.1.1. Determinación del valor umbral de cada índice (L_i)

Achour (2006) sugirió que el valor umbral para cada índice puede establecerse por regulaciones legales, prácticas habituales, acuerdo con el consumidor, entre otros. En este trabajo, un nuevo procedimiento fue desarrollado para establecer los valores umbrales para los índices de calidad debido a que para la mayoría de ellos no existen estándares oficiales, como en el caso de los índices FW, BW y FW/TW, AA o C. Para el caso particular de los índices de RWC y WC, los valores umbrales fueron tomados de bibliografía (Anónimo, 2009; Ragaert *et al.*, 2007).

La calidad visual global (OVQ) es un índice de organoléptico estrechamente asociado con la aceptabilidad del consumidor que, sobre una escala de 1 (muy pobre) a 9 (óptimo), presenta un valor límite de aceptabilidad para la venta de 5 puntos (Kader, 2002b). Debido a que los índices de calidad evolucionan de manera diferente en cada sección de la planta de lechuga, podría esperarse que el valor umbral de estos índices en cada sección adquiriera un valor diferente. Entonces, con el propósito de encontrar el valor umbral para cada índice en función de la sección de la planta, todos los índices fisiológicos, nutricionales, físico-químicos y microbiológicos, fueron correlacionados con la calidad visual general (OVQ) usando un modelo lineal. El valor umbral para cada índice se encontró entrando a la correlación con un OVQ de 5. Cabe aclarar que este procedimiento implicó la extrapolación de los resultados en las secciones media e interna que registraron valores de OVQ mayores a 5 durante los 20 días de almacenamiento. La **Tabla 5.3** presenta los valores umbrales encontrados para los índice de calidad obtenidos en las tres secciones de lechuga.

Índice	Valor umbral (L_i)		
	Sección externa	Sección media	Sección interna
RWC (%)	65.0	65.0	65.0
WC (%)	92.1	91.5	91.4
FW (g/g^{-1})	18.2	10.4	2.0
BW (g/g^{-1})	9.3	14.1	14.7
FW/TW	0.66	0.42	0.12
C (mg / 100 g TF)	10.0	6.1	5.4
AA (mg / 100 g TF)	7.1	3.7	0.6
Mesófilas (Log(UFC/g))	8.8	7.4	7.9

Tabla 5.3. Valor umbral (L_i) de cada índice de calidad en cada sección de lechuga almacenada en condiciones óptimas.

3.1.2. Determinación de los factores de peso (α_i)

Una vez determinados los valores umbrales para cada uno de los índices en cada sección de lechuga, se procedió a reducir el número de índices para considerar sólo aquellos con mayor impacto sobre la calidad visual y vida útil de la lechuga. Para llevar a cabo esta reducción, todos los índices fueron combinados en grupos de cuatro, resultando en un total de 70 tétradas para cada sección de la planta. Para estimar los factores de peso (α_i) para cada índice dentro de cada tétrada, se utilizaron nuevamente los análisis de correlación ya efectuados entre estos índices y la calidad visual general (OVQ) evaluando el coeficiente de Pearson en cada caso. Aquellas correlaciones con una significancia $p < 0.1$ fueron consideradas estadísticamente significativas y los índices se clasificaron en cuatro categorías en función del valor de p . En la **Tabla 5.4** se muestra el resultado de este análisis.

Parámetro	RWC	WC	FW	BW	FW/TW	C	AA	UFC
<i>Sección externa</i>								
r	0.319	-0.287	0.458	-0.613	0.588	0.908	0.918	-0.723
p	0.486	0.533	0.302	0.144	0.165	0.005	0.003	0.066
Categoría*	D	D	D	D	D	B	B	D
<i>Sección media</i>								
r	0.345	-0.686	0.880	-0.669	0.688	0.965	0.8741	-0.279
p	0.448	0.884	0.009	0.100	0.087	<0.001	0.010	0.545
Categoría*	D	D	B	D	D	A	B	D
<i>Sección interna</i>								
r	-0.041	-0.321	0.717	-0.165	0.427	-0.459	0.869	-0.130
p	0.93	0.482	0.070	0.723	0.340	0.300	0.011	0.781
Categoría*	D	D	D	D	D	D	C	D

Tabla 5.4. Coeficientes de Pearson y valor *p* asociado para las correlaciones entre los índices de calidad y el OVQ en cada sección de lechuga almacenada en condiciones óptimas.

* El criterio de clasificación de los índices en categorías A, B, C o D está basado en el valor de *p* según: *Categoría A*: $p \leq 0.001$; *Categoría B*: $0.001 < p \leq 0.01$; *Categoría C*: $0.01 < p \leq 0.05$; *Categoría D*: $p > 0.05$.

Para asignar los factores de peso a una tetrada de índices de calidad se siguió el siguiente procedimiento:

Cuando una tetrada está conformada por índices de categorías diferentes, se asignan los factores de peso 0.5, 0.25, 0.15 y 0.1 para los índices de las categorías A, B, C y D, respectivamente, de modo que siempre se cumpla la siguiente relación:

$$\alpha_A + \alpha_B + \alpha_C + \alpha_D = 1 \quad (\text{Ec. 5.4})$$

Si dentro de una tetrada, todos los índices pertenecen a la misma categoría, se asigna a todos los factores de peso un valor igual a 0.25 (resultando también la suma igual a 1).

Si dentro de una tetrada, dos o más índices pertenecen a la misma categoría, se recalcula el valor de los índices de la categoría más alta. Los valores de las categorías inferiores se asignan de acuerdo a lo expuesto previamente (0.1, 0.15 o 0.25). A continuación, el valor del índice con la categoría más alta se determina mediante trabajo algebraico a partir de la Ec. (5.4). Por ejemplo, para la tetrada conformada por RWC – WC – C – AA en la sección media, los índices pertenecen a las categorías D, D, A y B, respectivamente. En este caso, las categorías inferiores indican que el factor de peso para RWC y para WC es 0.1, para AA es 0.25 y por lo tanto para C el factor de peso resulta en 0.55 (de la Ec. (5.4): $1 - (0.1+0.1+0.25)$).

3.1.3. Aplicación del modelo de GSI

Una vez que todos los valores umbrales de cada índice en cada sección y todos los factores de peso de cada índice dentro de cada tetrada fueron establecidos, se procedió a preparar la matriz de variación (V_{ij}) tal como lo describe la metodología desarrollada por Achour (2006) para

cada una de las tétradas. El índice de GSI fue entonces calculado para cada tétrada en función del tiempo de almacenamiento y de la sección de la planta de lechuga utilizando la Ec. (5.3). Para cada sección de lechuga se obtuvieron 70 perfiles de evolución del GSI durante el almacenamiento, perteneciendo cada perfil a cada una de las tétradas ensayadas. Para determinar cuál es la tétrada que mejor representa la evolución de la calidad global del producto se realizó una nueva correlación entre el GSI y el OVQ mediante el análisis de correlación de Pearson. A continuación, se seleccionó la tétrada con la que se obtuvo el mayor grado de correlación entre el GSI y el OVQ.

Para la sección externa de la planta, 39 tétradas tuvieron coeficientes de correlación (r) menor a 0.850, 29 tétradas presentaron (r) entre 0.850 y 0.900 y dos tétradas presentaron coeficientes de correlación mayores a 0.900, con $p < 0.001$. Una de estas tétradas es la conformada por los índices FW, C, AA y UFC ($r = 0.910$), con factores de peso 0.1, 0.4, 0.4 y 0.1, respectivamente. Y la otra, por los índices FW, FW/TW, C y AA ($r = 0.903$), con factores de peso 0.1, 0.1, 0.4 y 0.4, respectivamente. La tétrada seleccionada fue la primera de ellas, debido a que también tiene en cuenta el índice microbiológico. De esta manera, si los recuentos microbiológicos se disparan por alguna causa, el índice GSI sería capaz de detectarlo. En la sección media ninguna tétrada presentó (r) mayor a 0.900 y nuevamente las dos tétradas que presentaron los coeficientes mayores (r) fueron las conformadas por los índices FW, C, AA y UFC ($r = 0.882$), y FW, FW/TW, C y AA ($r = 0.880$), por lo que el GSI en esta sección quedó conformado por la misma tétrada que en la sección externa, pero con factores de peso diferentes: 0.25, 0.4, 0.25 y 0.1, respectivamente. Finalmente, en la sección interna, ninguna tétrada presentó un coeficiente de regresión mayor que 0.900, siendo el más alto (0.863) el correspondiente a la tétrada formada por los índices FW, FW/TW, AA y UFC, con factores de peso 0.1, 0.1, 0.7 y 0.1, respectivamente.

En las tres secciones de lechuga, los índices agua libre (FW), ácido ascórbico (AA) y recuento de bacterias mesófilas (UFC) participaron en la tétrada que mejor representó cada sección, completando cada tétrada otro índice de agua (en la sección interna) o el contenido de clorofila (en secciones externa y media). La lechuga es un vegetal altamente perecedero cuya calidad y vida útil están limitadas por la deshidratación. Además, el contenido de agua de lechuga afecta atributos de calidad tal como la textura y la turgencia. Por lo tanto, que un parámetro de status de agua, tal como FW, afecte la estabilidad de la calidad (GSI) de las tres secciones de lechuga fue un resultado esperado. El ácido ascórbico representa un índice sensible de calidad nutricional del producto. En las tres secciones de lechuga el ácido ascórbico mostró una cinética de degradación de primer orden. Entonces, también es un resultado lógico que el contenido de ácido ascórbico fuera un factor

de calidad importante y que participe de las tétradas del GSI en las tres secciones de la planta. La calidad microbiológica de las plantas seguida a través del recuento de bacterias mesófilas totales resultó importante para las tres secciones de la planta. En las tres secciones se registraron incrementos en estos recuentos durante el almacenamiento refrigerado (Capítulo II, inciso 3.2.1), Finalmente, el índice físico-químico dado por el contenido de clorofila total (C), tuvo impacto en las secciones externa y media pero no en la sección interna. Las hojas externas se caracterizan por tener un color verde más oscuro que las hojas más internas y presentan una degradación de clorofila durante el almacenamiento refrigerado.

Una vez que la tétrada para cada sección de lechuga fue seleccionada, se graficó el GSI calculado con esa tétrada en función del tiempo de almacenamiento y se estableció un modelo cinético para evaluar la dependencia del GSI con el tiempo. La **Figura 5.1(A)** presenta la evolución de GSI en cada sección de lechuga durante el almacenamiento. En las tres secciones de lechuga, la estabilidad de la calidad del producto disminuyó durante el tiempo de almacenamiento, con una cinética de primer orden (**Figura 5.1(B)**).

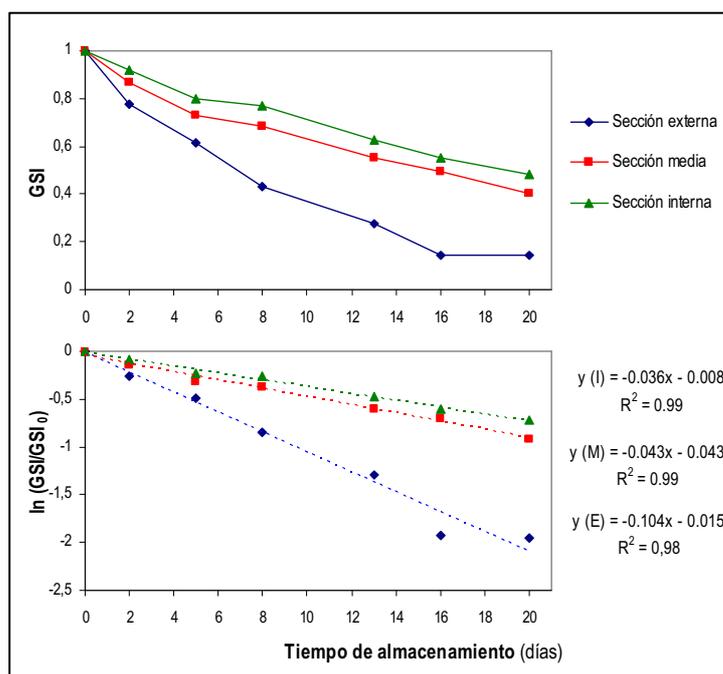


Figura 5.1. Evolución del índice de estabilidad global (GSI) en las diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones óptimas.

La velocidad de degradación de calidad global para la sección externa resultó entre 2.4 y 2.9 veces más alta que las correspondientes para las secciones media e interna, respectivamente, indicando que la calidad global de la sección externa es menos estable y se deteriora a un ritmo

superior que en las secciones más internas de la planta. No se observaron diferencias significativas en la velocidad de degradación del GSI entre las secciones media e interna.

Las diferencias en la evolución de GSI entre las secciones de lechuga podrían atribuirse a varios factores que fueron desarrollados en detalle en el análisis de la evolución de cada uno de los índices de calidad en el Capítulo IV de la presente tesis.

Adicionalmente se estableció un modelo de regresión entre los valores de GSI y de OVQ de la forma:

$$GSI = a \cdot e^{b \cdot OVQ} \quad (Ec. 5.5)$$

La **Figura 5.2** muestra los datos experimentales de GSI en función del OVQ junto con el modelo ajustado según la Ec. (5.5). Vale la pena destacar que el mismo modelo, con parámetros diferentes, ajustó el comportamiento de GSI en las tres secciones de lechuga. Estos resultados indicaron un comportamiento similar entre secciones, aún cuando el GSI en cada una de ellas está integrado por diferentes índices de calidad.

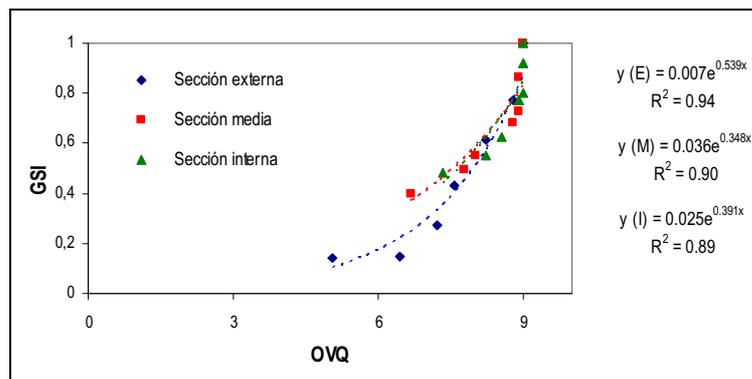


Figura 5.2. Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) para las secciones externa, media e interna de lechuga almacenada en condiciones óptimas.

Para establecer si existen diferencias entre los parámetros a y b del modelo dado por la Ec. (5.5) en las distintas secciones de la planta, se reescribió la ecuación en forma lineal (Ec. (5.6)) y se realizó un análisis de paralelismo y coincidencia comparando pendiente y ordenada al origen de las tres rectas obtenidas.

$$\ln(GSI) = \ln(a) + b \cdot OVQ \quad (Ec. 5.6)$$

A continuación se presentan los valores de $\ln(a)$ y b para cada una de las secciones de la planta:

Sección	$\ln(a)$	b
Externa	-4.991	0.539
Media	-3.321	0.348
Interna	-3.685	0.391

Tabla 5.5. Parámetros de ajuste de la Ec. (5.6) para lechuga almacenada en condiciones óptimas.

El análisis de paralelismo y coincidencia realizado sobre las tres rectas indicó que no hubo diferencias significativas entre los parámetros de ajuste en las secciones media e interna, pudiendo utilizarse un único modelo ajustado para representar la relación entre el GSI y el OVQ de estas secciones de la planta. Este modelo, ajustado para el pool de datos correspondiente a ambas secciones está dado por la siguiente expresión: $GSI = 0.0321 \cdot e^{(0.362 \cdot OVQ)}$.

De esta manera se pudo determinar que para alcanzar un OVQ de 5, el GSI en la sección externa asume un valor igual a 0.101 y en las secciones media e interna un valor de 0.196. Con esta información, se puede encontrar el tiempo de almacenamiento en el que se alcanzan tales valores límites de GSI, resultando valores iguales a 21.9, 36.9 y 42.6 días de almacenamiento, respectivamente (**Figura 5.1(B)**, ecuaciones de regresión). Estos valores deben considerarse como orientativos, especialmente para las secciones media e interna debido a la extrapolación realizada (en estas secciones el OVQ no alcanzó el límite de aceptabilidad durante todo el período de almacenamiento ensayado, y el modelo GSI fue desarrollado para este período). En el caso de la sección externa, el OVQ registrado al día 20 de almacenamiento fue de 5 puntos, con lo cual para esta sección, el modelo sobreestima en dos días el tiempo de vida útil. Posiblemente, para las secciones media e interna, el tiempo máximo de almacenamiento real sea inferior a los encontrados por este modelo. Si el almacenamiento refrigerado se extendiera más allá de los 20 días, es probable que la calidad organoléptica de estas secciones se reduzca drásticamente, mientras que en el presente modelo se llevó a cabo una extrapolación considerando que la evolución de los índices en estas secciones sigue con la misma tendencia que la manifestada hasta entonces. Más allá de esta salvedad, lo interesante del modelo es que está manifestando claramente la mayor estabilidad de las secciones media e interna.

Resumiendo, en cada sección de la planta de lechuga, los índices de calidad analizados se comportaron de manera diferente durante el almacenamiento en condiciones óptimas recomendadas para esta hortaliza. Esto dio lugar a que el índice GSI estuviera conformado por tétradas en las que participaron diferentes índices. A pesar de esta particularidad, se encontró que el descenso del GSI durante el almacenamiento en las tres secciones de la planta siguió una cinética de primer orden. La velocidad de degradación del índice de estabilidad global fue dependiente de la sección considerada, registrándose mayor velocidad en la sección externa (equivalente a menor estabilidad) respecto de las otras. En el análisis de la relación entre el GSI y el OVQ se encontró que para las tres secciones, el modelo de ajuste exponencial funcionó adecuadamente. Esto permitió calcular el GSI límite, equivalente al valor de aceptabilidad de OVQ

(5), y con este valor de GSI se pudo determinar el tiempo de almacenamiento máximo de cada sección de planta utilizando los modelos obtenidos al analizar la cinética de deterioro.

La ventaja de la aplicación del método GSI propuesto para describir la estabilidad de la calidad durante el almacenamiento de lechuga con respecto al método clásico (evaluación de los índices de manera independiente) reside en la reducción de la cantidad de determinaciones que deben llevarse a cabo para seguir la evolución de índices de calidad en el tiempo. El método clásico requiere el uso de los ocho índices diferentes para cada sección de lechuga, resultando en 24 determinaciones diarias. El método de GSI modificado propone el uso de 4 índices (tétrada) para cada sección de lechuga, resultando en 12 determinaciones por día de muestreo, reduciéndose de esta manera a la mitad el consumo de tiempo, mano de obra y recursos.

3.2. Modelado de evolución de calidad de lechuga almacenada en condiciones sub-óptimas

Siguiendo el procedimiento desarrollado para los datos de los índices de calidad de lechuga almacenada en condiciones óptimas, se aplicó la metodología del GSI para los datos de lechuga almacenada en condiciones sub-óptimas (Capítulo IV, inciso 3.2). La **Tabla 5.6** presenta los datos correspondientes.

Tiempo (días)	OVQ	RWC	WC	FW	BW	FW/TW	C	AA	UFC
<i>Sección externa</i>									
0	9.0	88.2	95.0	23.1	5.5	0.81	7.3	4.8	7.4
1	7.0	82.4	94.3	16.2	8.1	0.67	6.2	3.3	7.7
2	6.2	82.3	94.1	12.8	9.0	0.59	5.6	3.2	8.1
3	4.9	77.4	93.9	14.1	11.0	0.56	5.6	2.4	8.5
4	4.0	74.0	93.5	13.9	8.9	0.61	4.9	2.2	8.8
5	2.9	76.0	93.1	12.9	10.2	0.55	4.2	1.8	8.9
<i>Sección media</i>									
0	9.0	86.3	93.9	15.0	4.6	0.77	2.7	2.5	7.1
1	8.3	87.4	94.1	14.1	8.4	0.64	2.2	2.0	7.6
2	7.8	83.6	93.9	11.8	8.8	0.57	2.5	1.9	7.9
3	7.0	77.2	93.7	12.4	9.9	0.55	2.8	1.6	8.1
4	5.3	77.1	93.6	11.1	8.5	0.57	2.9	1.3	8.2
5	3.9	74.5	93.3	8.7	7.7	0.53	2.7	1.2	8.5
<i>Sección interna</i>									
0	9.0	84.7	93.7	13.8	7.0	0.66	0.6	2.1	7.2
1	9.0	87.8	93.9	14.7	10.6	0.59	0.3	1.9	7.8
2	8.8	82.9	93.7	12.0	7.8	0.59	0.5	1.8	8.4
3	8.8	83.6	93.6	10.4	9.1	0.53	0.6	1.4	8.4
4	7.9	79.7	93.7	12.0	7.9	0.61	0.8	1.6	8.4
5	6.9	79.8	93.3	8.1	9.7	0.46	0.6	1.1	8.6

Tabla 5.6. Matriz de datos experimentales de lechuga almacenada en condiciones sub-óptimas.

Para establecer los valores umbrales (L_i) de cada índice en cada sección de la planta, se establecieron las correlaciones de cada uno de ellos con el OVQ y se estableció el valor asociado a cada índice para cuando el OVQ toma un valor igual a 5 (**Tabla 5.7**). Para el caso particular de los índices de RWC y WC, los valores umbrales fueron tomados de bibliografía (Anónimo, 2009; Ragaert *et al.*, 2007). Bajo condiciones sub-óptimas de almacenamiento, las secciones externa y media presentaron una evolución en el OVQ tal que al día 5, los valores de este índice fueron inferiores al límite de aceptabilidad, mientras que para la sección interna, el OVQ se mantuvo siempre superior al límite. Por esta razón, el procedimiento de determinación de los valores umbrales implicó la extrapolación sólo en la sección interna.

Índice	Valor umbral (L_i)		
	Sección externa	Sección media	Sección interna
RWC (%)	65.0	65.0	65.0
WC (%)	92.1	90.9	90.7
FW (g/g tejido seco)	14.5	10.1	4.0
BW (g/g tejido seco)	9.3	8.6	6.8
FW/TW	0.61	0.54	0.37
C (mg / g tejido seco)	5.3	2.8	0.8
AA (mg / g tejido seco)	2.6	1.3	0.5
Mesófilas (log UFC/g)	8.4	8.4	9.4

Tabla 5.7. Valor umbral (L_i) de cada índice de calidad en cada sección de lechuga almacenada en condiciones sub-óptimas.

Una vez determinados los valores umbrales de los índices en cada sección de lechuga, se procedió a reducir el número de índices para considerar sólo aquellos con mayor impacto sobre la calidad y vida útil de la lechuga. De la misma manera que para los datos de condiciones óptimas, se analizaron las 70 tétradas que pueden establecerse por combinación de ocho índices de calidad, tomados de a cuatro. La **Tabla 5.8** presenta la clasificación de los índices de calidad en las categorías A, B, C y D que se utilizó para establecer los factores de peso (α_i) para cada índice dentro de cada tétrada.

Una vez que todos los valores umbrales de cada índice en cada sección y todos los factores de peso de cada índice dentro de cada tétrada fueron establecidos, se procedió a preparar la matriz de variación (V_{ij}). Vale la pena destacar que, debido a que en las secciones externa y media los valores de OVQ hacia el final del almacenamiento estuvieron por debajo del límite de aceptación, los valores de V_{ij} para algunos índices resultaron mayores a 1 (la diferencia entre C_{ij} y C_{i0} resulta mayor a la diferencia entre L_i y C_{i0} , *Ec. (5.2)*). En estos casos, se reasignó un valor de 1 a ese índice de variación en particular. De este modo sigue cumpliéndose que el GSI varía entre 1 y 0.

Parámetro	RWC	WC	FW	BW	FW/TW	C	AA	UFC
<i>Sección externa</i>								
R	0.953	0.997	0.829	-0.833	0.878	0.980	0.984	-0.987
P	0.003	<0.001	0.041	0.040	0.024	0.001	<0.001	<0.001
Categoría	B	A	C	C	C	A	A	A
<i>Sección media</i>								
r	0.906	0.938	0.939	-0.325	0.741	-0.530	0.946	-0.916
p	0.013	0.006	0.005	0.530	0.088	0.279	0.004	0.010
Categoría	C	B	B	D	D	D	B	B
<i>Sección interna</i>								
r	0.803	0.834	0.796	-0.212	0.703	-0.708	0.796	-0.620
p	0.055	0.039	0.058	0.682	0.123	0.464	0.058	0.189
Categoría	D	C	D	D	D	D	D	D

Tabla 5.8. Coeficientes de Pearson y valor *p* asociado para las correlaciones entre los índices de calidad y el OVQ en cada sección de lechuga.

El índice de GSI fue entonces calculado para cada tétrada como una función del tiempo de almacenamiento y de la sección de la planta de lechuga utilizando la *Ec. (5.3)* y, siguiendo el procedimiento propuesto, se seleccionó la tétrada con la que se obtuvo el mayor grado de correlación entre el GSI y el OVQ para cada sección de la planta.

Para la sección externa de la planta, 7 tétradas tuvieron coeficientes de correlación (*r*) menor a 0.900, 23 tétradas presentaron (*r*) entre 0.900 y 0.950, 32 tétradas presentaron un *r* en el rango de 0.950 a 0.980 y ocho tétradas tuvieron un *r* mayor a 0.980, siendo la tétrada que presentó el mayor coeficiente de correlación la formada por los índices WC, C, AA y UFC con un *r*= 0.992, con *p*< 0.001 y con factores de peso 0.25 para cada uno de ellos. En la sección media ninguna de las tétradas mostró un coeficiente mayor a 0.950, 7 tétradas presentaron *r* en el rango 0.90 a 0.950, y 63 tétradas con *r* menor a 0.900. La tétrada con el coeficiente de correlación más alto (*r*= 0.944, *p*< 0.01) fue la integrada por los índices WC, FW, AA y UFC, con factores de peso 0.283, 0.283, 0.283 y 0.15, respectivamente. Finalmente, en la sección interna sólo una tétrada presentó valor de *r* mayor que 0.900, correspondiendo también a la tétrada integrada por los índices WC, FW, AA y UFC (*r*= 0.910, *p*< 0.01), con factores de peso 0.7, 0.1, 0.1 y 0.1, respectivamente.

Nuevamente, como en las plantas almacenadas bajo condiciones óptimas, el AA y los recuentos de bacterias mesófilas participaron en todas las tétradas. Por lo tanto, estos índices constituyen indicadores pertinentes que deben ser considerados durante la post-cosecha de la lechuga, independientemente de cuales sean las condiciones de almacenamiento. Bajo un entorno no saturado (un ambiente con HR sub-óptima), el WC también resultó un índice común para las tétradas de las tres secciones de lechuga. Para completar las tétradas, el contenido de clorofila fue significativo para la sección externa, mientras que el contenido de agua libre fue el índice que

completó las tétradas de las secciones media e interna, quedando estas dos secciones caracterizadas por la misma tétrada.

Una vez que la tétrada para cada sección de lechuga fue seleccionada, se graficó el GSI calculado con esa tétrada en función del tiempo de almacenamiento y se estableció un modelo cinético para evaluar la dependencia del GSI con el tiempo. La **Figura 5.3(A)** presenta la evolución de GSI en cada sección de lechuga durante el almacenamiento. En las tres secciones de lechuga, la estabilidad de la calidad del producto disminuyó durante el tiempo de almacenamiento, con una cinética de primer orden (**Figura 5.3(B)**).

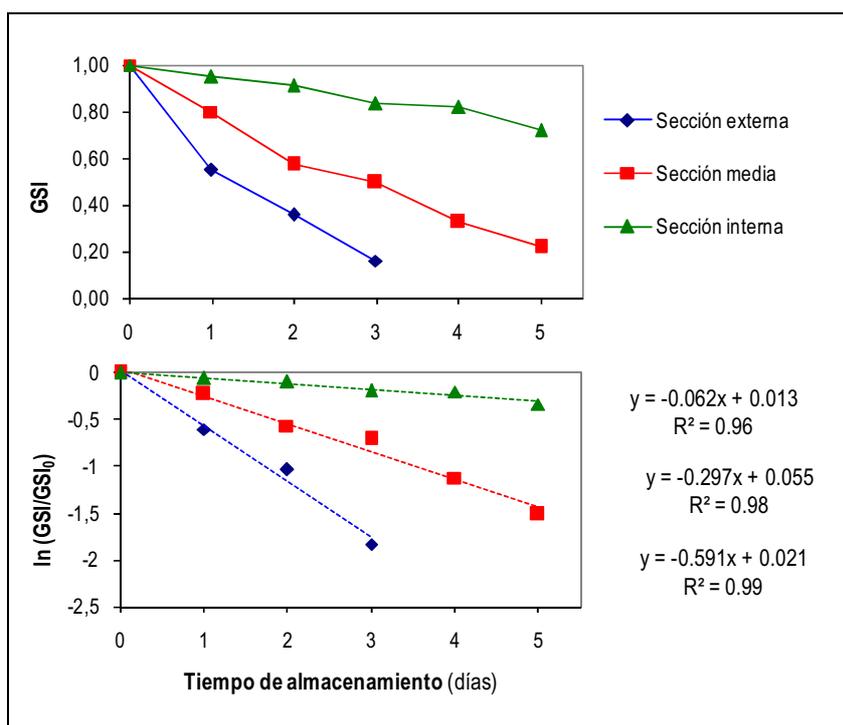


Figura 5.3. Evolución del índice de estabilidad global (GSI) en las diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento refrigerado en condiciones sub-óptimas.

Se detectaron significativas diferencias en la velocidad de degradación del índice de estabilidad en función de la sección de la planta considerada, siendo en la sección externa 1.9 y 9.5 veces más grande que en las secciones media e interna, respectivamente, indicando que la sección interna es capaz de mantener por más tiempo su calidad inicial dada su mayor estabilidad. Nuevamente, las diferencias en la evolución de GSI entre las secciones de lechuga podrían atribuirse a los factores previamente analizados.

Comparando las cinéticas de degradación del índice GSI en las diferentes secciones de las plantas almacenadas bajo dos condiciones de HR, se encontró una fuerte dependencia de la

constante de velocidad respecto de la condición de HR, especialmente en las secciones externa y media. La **Tabla 5.9** resume estos resultados:

Sección de lechuga	Condición de HR durante el almacenamiento	
	Óptima	Sub-óptima
Externa	0.104	0.591
Media	0.043	0.297
Interna	0.036	0.062

Tabla 5.9. Constante de velocidad (k) para el deterioro del índice GSI durante el almacenamiento de plantas de lechuga bajo diferentes condiciones de HR.

Las secciones externa y media fueron las más afectadas por la condición de HR sub-óptima. Esto se manifestó por el mayor incremento en la constante de velocidad de degradación del índice de estabilidad detectado en estas secciones (entre 6 y 7 veces), mientras que la sección interna también vio afectada su estabilidad pero con un incremento de la constante de velocidad de aproximadamente 2 veces respecto de la condición óptima. En el almacenamiento bajo condiciones que favorecen la pérdida de agua, las hojas externas y medias pudieron actuar como barreras naturales contra la deshidratación de las hojas más internas de la planta permitiendo una mayor estabilidad de la calidad en esta sección más protegida. Además, la mayor capacidad de las hojas internas de elevar el contenido de agua unida previno la deshidratación de las mismas.

Tal como en el caso de plantas almacenadas en condiciones óptimas, se estableció un modelo de regresión entre los valores de GSI y de OVQ (Ec. (5.5)). Sin embargo, a diferencia del caso anterior, para las plantas almacenadas en condiciones sub-óptimas, el modelo que mejor ajustó la relación entre el GSI y el OVQ para cada sección de la planta fue el lineal. La **Figura 5.4** muestra los datos experimentales de GSI en función del OVQ junto con el modelo ajustado en cada caso.

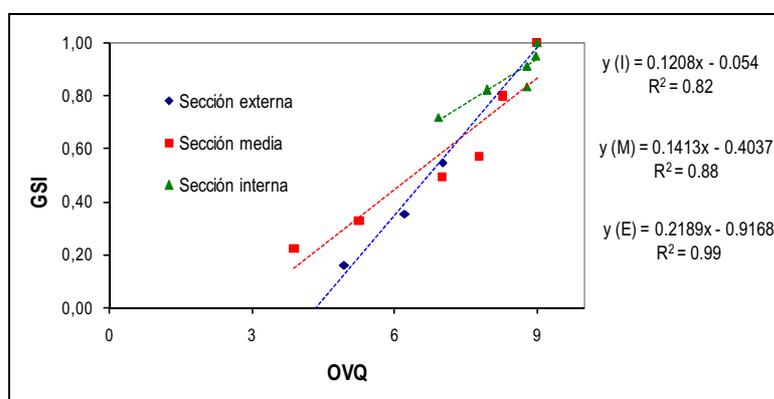


Figura 5.4. Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) para las secciones externa, media e interna de lechuga.

El análisis de paralelismo y coincidencia realizado sobre las tres rectas indicó diferencias significativas entre ellas, debiendo utilizarse el modelo ajustado para cada una de ellas para encontrar el GSI límite y el tiempo de vida útil. De esta manera se pudo determinar que para alcanzar un OVQ de 5, el GSI en las secciones externa, media e interna asume valores iguales a 0.178, 0.303 y 0.550, respectivamente. Con esta información, se puede encontrar el tiempo de almacenamiento en el que se alcanzan tal valor límite de GSI, resultando valores iguales a 2.9, 4.2, 9.8 días de almacenamiento, respectivamente (**Figura 5.3(B)**, ecuaciones de regresión).

3.3. Validación experimental del modelo de GSI

A fin de validar el modelo presentado, un segundo conjunto de experimentos fue llevado a cabo. Se utilizó lechuga mantecosa cultivada en invernadero proveniente de otro productor. Una vez cosechadas, las plantas fueron separadas en dos lotes. Uno de ellos fue almacenado bajo condiciones óptimas y el otro bajo condiciones sub-óptimas. Los muestreos durante el almacenamiento fueron realizados según la condición de HR: diariamente durante 5 días para las plantas almacenadas en condiciones sub-óptimas, y cada 2-3 días durante los 20 días del almacenamiento en condiciones óptimas. Cada día de muestreo se determinó el OVQ de cada sección de la planta y se cuantificaron solamente los índices correspondientes que integran cada tétrada en cada sección de la planta y a cada tiempo de almacenamiento. Para estos nuevos conjuntos de datos, se determinó el GSI (*GSI experimental*) en cada sección de la planta, en cada condición de almacenamiento y en cada día de muestreo utilizando los factores de peso y valores umbrales previamente establecidos para cada caso. Por otra parte, utilizando la *Ec. (5.5)* se calculó el GSI a partir de los valores de OVQ medidos, obteniéndose de esta manera los valores de *GSI predichos*. La concordancia entre los valores predichos y experimentales fue elevada.

En la **Figura 5.5** se muestra la correlación entre ellos, con un $R^2 = 0.87$, $p < 0.001$.

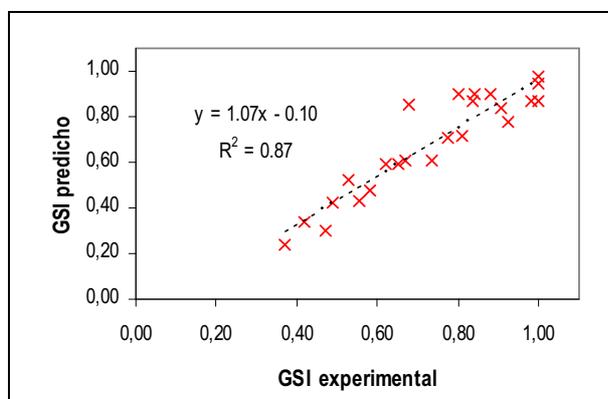


Figura 5.5. Correlación entre los valores de GSI experimentales y los valores predichos según *Ec. (5.5)*.

Más aún, el análisis de regresión indicó que el término independiente de la ecuación de regresión presentada en esa figura resultó no significativo mientras que la pendiente (muy cercana a 1) sí lo fue, indicando un buen ajuste entre los valores predichos de GSI y los experimentales.

4. CONCLUSIONES

El desarrollo de la modificación del método propuesto por Achour (2006) dio lugar a una aplicación de un modelo de estabilidad global (GSI) para la evaluación de varios índices de calidad en forma simultánea. Los resultados indicaron que este tipo de análisis permite una reducción de la cantidad de las determinaciones experimentales que se deben ejecutar, permitiendo una reducción del costo, tiempo de trabajo y recursos. La mayor dificultad reside en determinar cuáles son los parámetros que gobiernan la vida útil del producto.

Los índices de calidad que mejor representan la pérdida global de la calidad durante la vida útil en lechuga almacenada en condiciones óptimas fueron: para las secciones externa y media FW, C, AA y UFC. En la sección interna, los índices fueron FW, FW/TW, AA y UFC. En el caso de lechuga almacenada en condiciones de HR sub-óptima, las tétradas fueron: WC, C, AA y UFC, para la sección externa, mientras que para las secciones media e interna la tétrada estuvo conformada por WC, FW, AA y UFC. Vale la pena destacar que cualquiera sea la sección de la planta y bajo ambas condiciones de almacenamiento ensayadas, los índices de calidad nutricional y microbiológica participaron de las tétradas que conforman el GSI. Las tétradas se completaron en cada caso con un índice de agua (FW, WC o FW/TW). En la sección externa de plantas almacenadas bajo cualquiera de las condiciones ensayadas, el contenido de clorofila es un índice significativo que interviene en el índice global de estabilidad.

La evolución del GSI, calculado en cada sección de la planta con las tétradas correspondientes, presentó una cinética de primer orden con una constante de velocidad cuyo valor fue afectado tanto por la sección de la planta como por la condición de HR bajo consideración. Adicionalmente al modelo GSI, se desarrolló un modelo matemático entre OVQ y GSI para cada sección de lechuga, el cual resultó de mucha utilidad para determinar la vida útil del producto.

La metodología desarrollada es una herramienta útil para la predicción de la degradación de la calidad de la lechuga durante el almacenamiento mediante el seguimiento del GSI, integrado por solo 4 determinaciones, pero que representa la estabilidad global del producto.

CAPÍTULO VI

PRIMERAS HORAS POST-COSECHA DE ABUSO TÉRMICO Y DE HUMEDAD RELATIVA SOBRE PLANTAS INDIVIDUALES

Esquema conceptual

Índices evaluados:

- Contenido de agua relativo (RWC)
- Contenido de agua (WC)
- Contenido de agua libre (FW)
- Contenido de agua unida (BW)
- Relación agua libre a agua total (FW/TW)
- Contenido de ácido ascórbico (AA)
- Contenido de clorofila (C)
- Recuentos de poblaciones microbianas (Log (UFC/g))
- Calidad visual global (OVQ)

Seguimiento

- Durante 24 horas de exposición a diferentes condiciones ambientales.

Modelo

- Secciones de la planta: externa, media e interna.

CAPÍTULO VI:

PRIMERAS HORAS POST-COSECHA DE ABUSO TÉRMICO Y DE HUMEDAD RELATIVA SOBRE PLANTAS INDIVIDUALES

1. INTRODUCCIÓN

La calidad de los vegetales frescos al momento de la cosecha, su estabilidad durante la post-cosecha y su vida útil dependen de numerosos factores, muchos de los cuales han sido evaluados en los capítulos previos de la presente tesis. Sin embargo, el factor crítico que impacta en mayor medida sobre la vida útil del vegetal cosechado es la temperatura (Zanoni *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2004; Riva *et al.*, 2001; Paull, 1999). Adicionalmente, la humedad relativa (HR) del ambiente al que son expuestas las hortalizas, una vez que han sido cosechadas, constituye también un factor relevante. Una combinación inapropiada de temperatura y humedad relativa puede generar una elevada diferencia de presión de vapor (DPV) entre el producto y el ambiente dando lugar a pérdidas de agua por parte del tejido. Al ser éste un fenómeno de superficie, resulta vital su control especialmente en el caso de hortalizas de hoja dada la alta relación superficie-volumen que las caracteriza. Ya se ha mencionado que cualquier cantidad de agua que es perdida en la post-cosecha no puede ser repuesta por las raíces de la planta, resultando en pérdidas de calidad y perjuicios económicos (Jones y Tardieu, 1998).

El efecto de la temperatura sobre el deterioro de la calidad de las hortalizas durante la post-cosecha ha sido extensamente estudiado y es bien conocido: cuando la temperatura del producto se incrementa, el metabolismo se acelera aumentando la velocidad de los procesos fisiológicos tales como respiración y transpiración. A su vez, muchos de estos procesos, como la respiración, generan calor, de modo que contribuyen al aumento de la temperatura. Una vez que los vegetales

son cosechados, ya no están ligados a su sistema radical, lo que trae aparejado un rápido incremento en la respiración del producto en unos pocos minutos. En consecuencia, otras reacciones bioquímicas se aceleran provocando cambios de color, textura y en la calidad nutricional (Chandra *et al.*, 2008).

El manejo rápido y adecuado de las condiciones de temperatura y humedad relativa minimiza las pérdidas económicas y de calidad durante la post-cosecha del vegetal. Si las condiciones son inadecuadas las pérdidas pueden alcanzar el 50 % de la producción total (Nunes *et al.*, 2009; Mondino *et al.*, 2007; Suthumchai *et al.*, 2007a; Talukder *et al.*, 2003). A pesar del alto impacto económico, se han llevado a cabo pocas investigaciones para estudiar las primeras pocas horas después de la cosecha (post-cosecha temprana). Moreira *et al.* (2006) estudiaron el efecto de las temperaturas abusivas sobre hojas de lechuga y encontraron que las primeras horas después de la cosecha son cruciales para la vida útil del producto vegetal porque las pérdidas de calidad en estas fases más tempranas no pueden ser recuperadas. Jedermamm *et al.* (2007) propusieron que el efecto de una exposición limitada (de unas pocas horas) a condiciones inadecuadas de temperatura o de humedad es suficiente para favorecer las pérdidas de calidad en el producto. Brosnan y Sun (2001) sugirieron que puede tomarse como guía que el deterioro ocurrido en un producto vegetal expuesto durante 1 hora a 25 °C es equivalente al ocurrido durante 1 semana a 1°C. De esta manera queda en evidencia la importancia de controlar la temperatura desde las primeras horas posteriores a la cosecha del vegetal.

En las quintas del cinturón hortícola de Mar del Plata, la lechuga es cosechada utilizando técnicas de recolección manuales: cada planta es cortada cerca de la superficie del suelo dejando las raíces en la tierra y retirando las hojas externas que presentan síntomas de senescencia (hojas amarillentas, deshidratadas). Una vez que la planta ha sido cortada, es acomodada en jaulas de madera para transporte. La reducción de la temperatura del producto inmediatamente después de la cosecha no constituye una práctica habitual en la zona y por esta razón, a pesar de que la cosecha es rápida (Benitez, 2009), la lechuga puede ser expuesta, desde el momento inmediatamente posterior a la cosecha, a condiciones desfavorables. De hecho, las jaulas de lechuga suelen quedar directamente expuestas al ambiente hasta que se cargan en los transportes que las llevan a los centros de distribución. El producto expuesto a la luz de sol puede levantar rápidamente una temperatura 4 a 6 °C más alta que la temperatura del aire (Thompson *et al.*, 2001). Estas condiciones no controladas son recurrentes durante el transporte hacia los centros de distribución. Los productores hortícolas (Benitez, 2009; Figueroa, 2009) han relatado demoras de hasta 20 horas para que la lechuga llegue al centro de distribución, donde las plantas deberían ser almacenadas a

una temperatura de 0-2 °C. Por lo tanto, el conocimiento de los eventos que ocurren dentro de la planta cuando la temperatura y la humedad relativa no son controladas es de importancia fundamental para optimizar el manejo de lechuga.

Como objetivo del capítulo se planteó describir los efectos sobre los indicadores de calidad fisiológica, nutricional, microbiológica, físico-química y organoléptica al exponer plantas de lechuga fresca a ambientes con diferentes combinaciones de temperatura y humedad relativa durante las primeras 24 horas posteriores a la cosecha. Como la respuesta del tejido de lechuga a los factores estudiados puede ser afectada por la edad de la hoja, todos los índices se evaluaron en las tres secciones de la planta: externa, media e interna.

Las condiciones de temperatura y humedad relativa ensayadas se presentan en la siguiente tabla:

Condición	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)
A	0-2	97-99
B	10-12	97-99
C	20-22	97-99
D	10-12	70-72
E	20-22	60-62

Tabla 6.1. Condiciones de temperatura y humedad relativa utilizadas en los experimentos del presente Capítulo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico y preparación de muestras

Una vez cosechadas, las plantas de lechuga mantecosa se transportaron inmediatamente al laboratorio y ocho plantas enteras fueron analizadas en la primera hora después de la cosecha para determinar los valores de los índices de calidad correspondientes a tiempo cero.

Las otras plantas no fueron sometidas a ninguna operación de acondicionamiento previa, sólo fueron expuestas durante 24 horas a las condiciones ambientales preestablecidas (ver inciso 2.2). Para las 5 condiciones ensayadas, los muestreos se llevaron a cabo en el momento de la cosecha (tiempo 0) y a las 3, 6 y 24 horas luego de la misma. Para cada tiempo de muestreo, se separaron ocho plantas, de las cuales dos se utilizaron para evaluar el status de agua, otras dos para la calidad microbiológica y nutricional, otras dos para la calidad físico-química y finalmente dos para calidad visual general. Todos los parámetros de calidad fueron medidos en las tres secciones de la planta: externa, media e interna.

2.2. Condiciones ambientales ensayadas

Para llevar a cabo el diseño experimental presentado en la **Tabla 6.1** se realizaron tres experimentos independientes. La limitación de disponer de una única cámara ambiental para generar diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa impidió el estudio simultáneo de todas las combinaciones (A-E) propuestas.

En un primer experimento se trabajó en condiciones de HR óptima (97-99 %HR) con tres temperaturas diferentes: 0-2, 10-12 y 20-22 °C (A-C, **Tabla 6.1**). Las temperaturas fueron seleccionadas para simular: una refrigeración en condiciones óptimas (0-2 °C), una refrigeración con temperatura levemente abusiva (10-12 °C) y un mantenimiento del producto no refrigerado a temperatura ambiente (20-22 °C). Para lograr la condición de HR óptima, las plantas fueron colocadas en bolsas de polietileno (con permeabilidades de 600 cm³/m²/d al O₂, 4000 cm³/m²/d al CO₂, y 4 g/m²/d al vapor de agua), colocando dos plantas por bolsa (28 x 55 cm, el volumen útil: 4 L). Las concentraciones de oxígeno y de dióxido de carbono dentro de la bolsa estuvieron en el rango 18.5-20.5 % y 0.1-0.5 %, respectivamente, ya que el material de empaque no es una barrera a estos gases. Las bolsas fueron termoselladas y almacenadas en cámaras ambientales a 0-2 °C (Heladera GAZA, Argentina), 10-12 °C (Heladera GAZA, Argentina) y 20-22 °C (SCT, Pharma, Argentina). En cada condición de temperatura se almacenaron 12 bolsas, permitiendo el muestreo programado de 4 bolsas -8 plantas- en cada tiempo de muestreo (3, 6 y 24 horas).

En un segundo experimento se trabajó con la combinación de temperatura y humedad relativa (D, **Tabla 6.1**): 10-12 °C y 70-72 %HR. Estas condiciones fueron generadas en una cámara ambiental (SCT, Pharma, Argentina) y fueron seleccionadas porque representan condiciones levemente abusivas tanto en un factor como en el otro y constituyen condiciones usualmente registradas en gran parte del año en la región.

En un tercer experimento se trabajó con la combinación de temperatura y humedad relativa (E, **Tabla 6.1**): 20-22 °C y 60-62 %HR. Estas condiciones fueron generadas en una cámara ambiental (SCT, Pharma, Argentina) y fueron seleccionadas porque representan condiciones abusivas tanto en un factor como en el otro y constituyen condiciones más extremas que las anteriores.

Los tres experimentos fueron repetidos 3 veces (tres corridas experimentales independientes y sucesivas).

2.3. Pérdida de peso

La pérdida de peso (WL) fue determinada en todas las plantas a medida que fueron retiradas del almacenamiento, utilizando el procedimiento detallado en el Capítulo IV (Materiales y Métodos, inciso 2.2). La pérdida de peso se expresó como relación porcentual entre el peso perdido y el peso fresco inicial.

Adicionalmente, se cuantificó la pérdida de peso considerando el descarte producido al retirar hojas de la planta por deterioro excesivo. A este índice se lo identificó como WLD y fue calculado como la relación porcentual entre la pérdida de peso de la planta luego de retirar las hojas excesivamente deterioradas y el peso fresco inicial.

2.4. Índices de calidad

El status de agua en la lechuga fue determinado a través de los índices: contenido de agua (WC), contenido de agua relativo (RWC), agua libre (FW), agua unida (BW) y la relación entre agua libre y agua total (FW/TW). La calidad microbiológica fue evaluada cuantificando la concentración de bacterias mesófilas. La calidad nutricional se evaluó a través del contenido de ácido ascórbico. La calidad físico-química de las plantas se analizó mediante el contenido de clorofila. La calidad organoléptica se evaluó a través del índice OVQ.

La descripción detallada de la metodología utilizada para la determinación de cada uno de los índices fue previamente descrita en el Capítulo I, bajo Materiales y Métodos (inciso 2.2).

Como la información fue recabada en tres experimentos diferentes, los valores iniciales para cada índice no fueron exactamente iguales. Para facilitar las comparaciones del comportamiento de los índices de calidad de plantas expuestas a diferentes condiciones ambientales, los resultados (con excepción de los referidos a la calidad microbiológica y a la calidad organoléptica) fueron expresados como una relación porcentual entre el valor medido y el valor del índice en tiempo cero. De esta manera, independientemente de la condición inicial, se evalúa el comportamiento neto del índice: incrementos o reducciones porcentuales. Los resultados de los recuentos de bacterias mesófilas son informados como LOG (N/N_0) indicando este valor el incremento o la disminución neta en los recuentos observados respecto del tiempo 0. Por último, los resultados del análisis organoléptico no fueron relativizados a tiempo 0 debido a que en todos los casos, el OVQ en el momento de la cosecha fue siempre el óptimo para cada sección, es decir, en las diferentes corridas y ensayos, no se encontraron diferencias en los valores iniciales del índice de calidad organoléptica.

2.5. Análisis estadístico

Los resultados informados corresponden a los valores LSMEAN junto con sus desviaciones estándar (Kuehl, 2001).

Los datos fueron analizados usando el software estadístico SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002). Se aplicaron diferentes modelos estadísticos en función del índice evaluado y de las características del experimento:

- Para el **primer experimento** (condiciones A, B y C) se utilizó el procedimiento PROC GLM para llevar a cabo el ANOVA con un nivel de probabilidad fijado en $p < 0.05$. Para todos los índices, exceptuando calidad organoléptica y pérdida de peso, los factores empleados como fuentes de la variación fueron: TEMPERATURA (0-2, 10-12, 20-22 °C), TIEMPO (0, 3, 6, 24 horas), PLANTA DENTRO DE TIEMPO, SECCIÓN (externa, media, interna) e interacciones: TIEMPO*TEMPERATURA, SECCIÓN*TIEMPO, SECCIÓN*TEMPERATURA y TIEMPO*TEMPERATURA*SECCIÓN. Para los datos de la evaluación sensorial, pérdida de peso y pérdida de peso con descarte, el factor SECCIÓN no fue tomado en la cuenta debido a que estos índices fueron evaluados en la planta entera de lechuga. Para estos índices, los factores empleados como fuentes de la variación fueron: TEMPERATURA, TIEMPO, PLANTA DENTRO DE TIEMPO y la interacción TIEMPO*TEMPERATURA.
- Para el **segundo experimento** (condición D) se utilizó el PROC GLM para llevar a cabo el ANOVA con un nivel de probabilidad fijado en $p < 0.05$. Para todos los índices, exceptuando calidad organoléptica y pérdida de peso, los factores empleados como fuentes de la variación fueron: TIEMPO (0, 3, 6, 24 horas), PLANTA DENTRO DE TIEMPO, SECCIÓN (externa, media, interna) e interacción SECCIÓN*TIEMPO. Para los datos de la evaluación sensorial, pérdida de peso y pérdida de peso con descarte, el factor SECCIÓN no fue tomado en cuenta. Para estos índices, los factores empleados como fuentes de la variación fueron: TIEMPO y PLANTA DENTRO DE TIEMPO.
- Para el **tercer experimento** (condición E) se utilizó el mismo modelo que para el segundo experimento.

En todos los casos, las diferencias entre las secciones, las temperaturas y los tiempos, según corresponda, fueron determinadas por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). En aquellos casos en los que se detectaron diferencias con mayor nivel de significancia, el valor p fue informado junto con los resultados. PROC UNIVARIATE fue aplicado para validar las suposiciones del ANOVA (Kuehl, 2001).

3. RESULTADOS

3.1. Pérdida de peso

La pérdida de peso (WL) es generada principalmente por pérdida de agua por evaporación cuando se expone el vegetal a un ambiente con condiciones de T y HR que generan una fuerza impulsora para este proceso (DPV) elevada. Cuando las plantas son expuestas a ambientes con alta DPV, la pérdida de agua que se genera produce, a su vez, marchitamiento en el tejido con la consecuente pérdida de calidad organoléptica. Cuando el marchitamiento es excesivo, las hojas son retiradas de la planta por los mismos productores o verduleros para mejorar el aspecto de la misma. Este procedimiento genera aún mayores pérdidas de peso. Cuando se consideran estas pérdidas junto con las anteriores, se cuantifica la pérdida de peso con descarte (WLD).

En las condiciones ensayadas en el presente capítulo, la DPV fue diferente en función de la combinación de T y HR utilizada. En la **Tabla 6.2** se presentan los valores promedios de DPV en cada una de las condiciones ensayadas.

Condición	Diferencia de presión de vapor (DPV, Pa)
A	13.2 ± 7.7 ^a
B	26.3 ± 15.3 ^a
C	49.8 ± 29.0 ^a
D	315.6 ± 28.6 ^b
E	971.1 ± 74.6 ^c

Tabla 6.2. Diferencia de presión de vapor de agua resultante de las condiciones de temperatura y humedad relativa utilizadas en los experimentos del presente Capítulo.

^{a,b,c}: Letras diferentes indican diferencias significativas en la DPV entre las diferentes condiciones ensayadas

La DPV en las primeras tres condiciones, no difirieron significativamente, indicando que a pesar de trabajar con temperaturas diferentes, la fuerza impulsora para la pérdida de agua en estas tres condiciones fue semejante, con un promedio de 29.6 ± 17.3 . En la condición D, la DPV aumentó más de 10 veces respecto de las condiciones anteriores y en la condición E, la DPV triplicó la dada por la condición D.

Las plantas de lechuga mantecosa expuestas a las condiciones A, B y C (humedad relativa óptima) no presentaron pérdidas de peso (WL) significativas en las 24 horas de exposición a cualquiera de esas condiciones. No se produjeron marchitamientos y no fue necesario el descarte de material, de modo que no fue necesaria la cuantificación de la pérdida de peso por descarte. Por el contrario, las plantas expuestas a las condiciones D y E presentaron significativas pérdidas de peso. Para estas dos situaciones, el ANOVA aplicado a la variable indicó que el factor TIEMPO fue

significativo ($p= 0.0012$ y $p< 0.0001$, respectivamente), con un incremento continuo en la pérdida de peso que comenzó en las primeras horas post-cosecha (**Figura 6.1**).

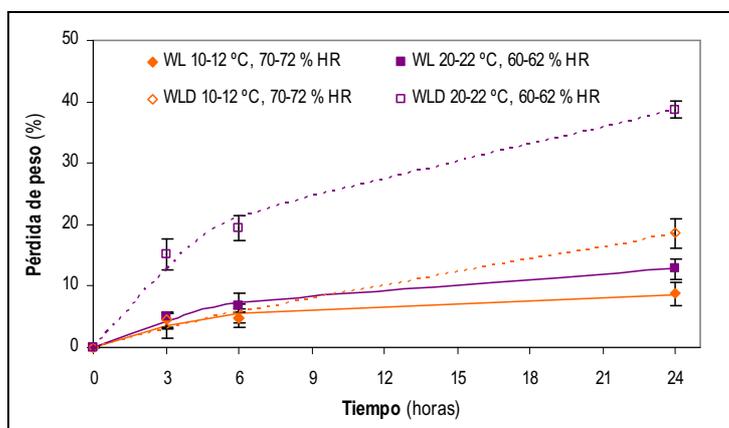


Figura 6.1. Evolución de la pérdida de peso (WL) y de la pérdida de peso con descarte (WLD) durante las 24 horas de exposición de lechuga mantecosa a diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa. Las líneas de trazo entero representan los modelos ajustados para WL, mientras que las líneas punteadas representan los modelos ajustados para WLD.

Desde el momento de la cosecha hasta las 6 horas de exposición a la condición D, no se observaron marchitamientos excesivos en las hojas de las plantas. Es por ello que los valores de WL y WLD coinciden para esta condición hasta ese tiempo. A partir de las 6 horas, la pérdida de peso continúa y provoca marchitamientos excesivos en algunas hojas externas, siendo necesaria la eliminación de las mismas como descarte. A las 24 horas, mientras que la WL fue de 8.8 %, la WLD alcanzó un valor del 18.6 % en las plantas expuestas a esta condición. En el caso de la condición más extrema ensayada (E), a las 3 horas post-cosecha ya se observaron marchitamientos y descarte de hojas resultando en valores de WL y WLD significativamente diferentes y alcanzando a las 24 horas cifras de 12.9 % y 38.8 %, respectivamente. Las pérdidas de peso registradas a las 24 horas resultaron en todos los casos superiores al valor encontrado durante el almacenamiento de lechuga a 0-2 °C y 70-72 %HR (Capítulo IV). Sin embargo en este último caso, la DPV que se desarrolló fue de 191 Pa, valor inferior al que caracterizó a las condiciones D y E. Además, el efecto del abuso térmico, presente en los casos estudiados en el presente capítulo, no debe ser descartado.

La evolución de WL y WLD de las plantas de lechuga durante las 24 horas de exposición, fue ajustada al modelo matemático utilizado en el Capítulo IV para describir la evolución de la pérdida de peso en las condiciones ensayadas en ese capítulo (Ec. (4.2)). El ajuste del modelo a los datos experimentales fue adecuado. La **Figura 6.1** muestra los modelos para cada caso y en la **Tabla 6.3** se presentan los parámetros de ajuste (A y τ) de los modelos.

		A (%)	τ (horas)	R ²
Pérdida de peso (WL)	D	8.80	5.85	0.96
	E	13.41	7.63	0.99
Pérdida de peso con descarte (WLD)	D	40.73	39.53	0.98
	E	40.57	8.04	0.99

Tabla 6.3. Parámetros de ajuste del modelo $WL = A \cdot [1 - \exp(-t/\tau)]$.

Teniendo en cuenta los modelos encontrados para caracterizar la evolución de WL, resulta interesante analizar que el valor de A, que indica la pérdida de peso cuando el tiempo se incrementa indefinidamente, resultó un 50 % más alto cuando la condición a la que se expusieron las plantas fue la E respecto a D. Estas diferencias, pueden deberse a la DPV que caracterizó cada condición (**Tabla 6.2**, 3 veces mayor en E que en D) que constituye la fuerza impulsora para la evaporación y pérdida de agua y también a la temperatura que fue 10 °C mayor en E que en D. Un aumento en la temperatura provoca incrementos en la velocidad de respiración y en la actividad metabólica en sí, generando un mayor consumo de nutrientes propios del tejido. Aparentemente, cuando la humedad relativa es alta (97-99 %HR, condiciones A-C), los incrementos en la actividad metabólica generados por los incrementos de temperatura serían enmascarados por la alta HR ya que en esos casos no se detectaron pérdidas de peso significativas. Por su parte, el valor de τ , que indica el tiempo que debe transcurrir para que la pérdida de peso alcance el 63 % del valor A, resultó de aproximadamente 6 horas para la condición D y 8 horas para la E.

Adicionalmente, al considerar el modelo para WLD, los valores de A encontrados fueron similares para las condiciones D y E. Es decir, que si el tiempo de exposición se incrementara indefinidamente, las pérdidas de peso de las plantas, incluyendo los descartes por marchitamientos, serían similares (aproximadamente 40 %) para ambas condiciones. Sin embargo, el valor de τ para este índice resultó de 40 y 8 horas para las condiciones D y E, respectivamente. Estos resultados estarían indicando que en las primeras 8 horas de exposición, las plantas expuestas a las condiciones más extremas ensayadas, sufren (a través de pérdidas de agua, respiración y marchitamientos) una pérdida de peso correspondiente al 63 % del valor de A, mientras que las plantas expuestas a la condición D sufrirían aproximadamente la misma pérdida en un tiempo mucho mayor (40 horas).

Estos resultados estarían indicando que la pérdida de agua y el consumo de nutrientes por respiración son menores en las condiciones del ensayo D (por menor temperatura y menor DPV) sin embargo, tendrían el potencial de generar iguales pérdidas de calidad en el tejido a largo plazo.

3.2. Calidad fisiológica: Índices de status de agua

La **Figura 6.2** muestra la evolución de RWC en cada sección de la planta de lechuga durante la exposición a las diferentes condiciones ensayadas. Tal como se explicó en Materiales y Métodos, los valores mostrados corresponden a los resultados relativizados respecto del tiempo cero (momento de la cosecha). Mediante esta transformación se pierde la información de los valores absolutos de cada sección en cada situación ensayada. Sin embargo, no es objetivo del presente capítulo analizar los valores iniciales ya que este análisis fue llevado a cabo en los capítulos I y IV. Esta relativización de los resultados se llevó a cabo sobre todos los índices de calidad analizados.

Una primera diferencia en el comportamiento del índice RWC en plantas de lechuga expuestas a diferentes condiciones se manifiesta entre las condiciones A, B y C (condiciones cercanas a la saturación) en comparación con las condiciones D y E (ambientes insaturados). En el primer caso se registraron incrementos en el RWC de las tres secciones de la planta, mientras que para las condiciones insaturadas se registraron descensos en estos valores.

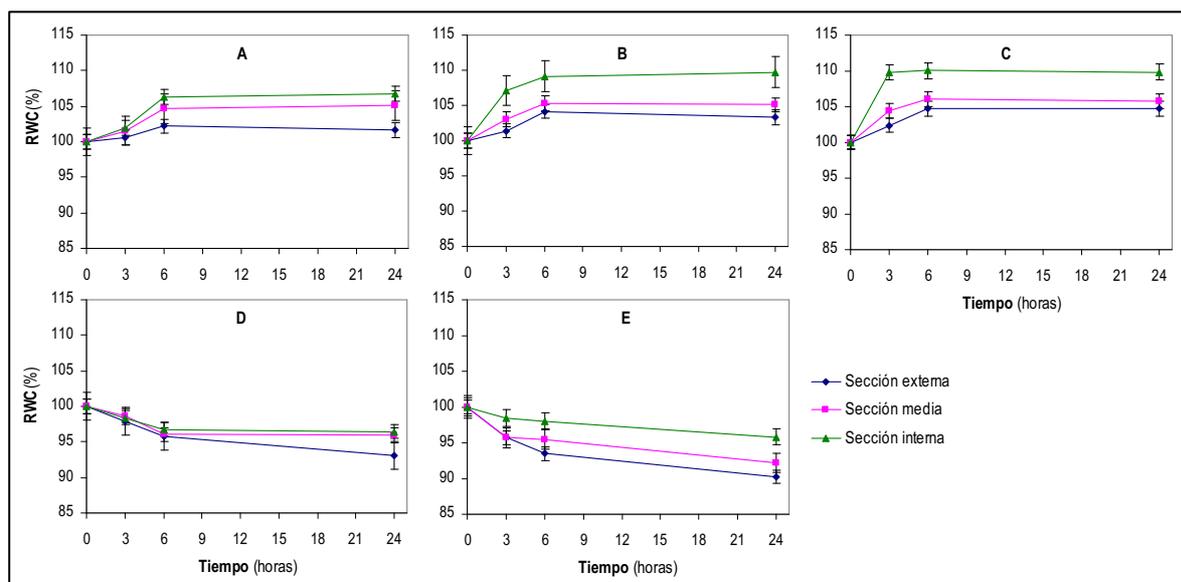


Figura 6.2. Evolución de RWC en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Para las condiciones A, B y C, el análisis estadístico indicó que las interacciones TIEMPO*SECCIÓN*TEMPERATURA, TIEMPO*TEMPERATURA y SECCIÓN*TIEMPO resultaron no significativas, mientras que sí se detectó interacción SECCIÓN*TEMPERATURA, que se manifestó principalmente en la sección externa de las plantas: mientras que a 0-2 °C no hubo cambios significativos en el RWC durante las 24 horas de exposición, sí hubo cambios a las otras dos temperaturas ensayadas. En términos generales, los incrementos en los valores de RWC

resultaron mayores en las hojas internas que en las medias y externas. La temperatura influyó este comportamiento: a mayor temperatura de exposición, más altos fueron los incrementos en RWC.

Para las condiciones D y E, se encontraron resultados equivalentes, aunque el análisis estadístico fue llevado a cabo de manera independiente para cada situación. No se detectó interacción SECCIÓN*TIEMPO indicando un comportamiento semejante del RWC en las diferentes secciones en función del tiempo de exposición. En las tres secciones y en las dos situaciones el RWC disminuyó desde el comienzo del período de exposición, con mayor intensidad en la sección externa que en media e interna. En la situación D, los valores de RWC alcanzados en las secciones media e interna a las 24 horas resultaron del orden del 96 % respecto de los valores iniciales, mientras que en la sección externa fue del 93 %. En la situación E, las reducciones en los valores de RWC fueron más intensas alcanzando valores de 95, 92 y 90 % respecto de los valores iniciales de las secciones interna, media y externa, respectivamente.

Ciertos autores que han evaluado condiciones de almacenamiento que favorecen la pérdida de agua de frutas y vegetales (humedad relativa baja y temperatura ambiente), han informado disminuciones continuas en los valores de RWC durante tal almacenamiento (Burdon y Clark 2001; Landrigan *et al.*, 1996). En nuestro diseño experimental, evaluando el comportamiento aún en un corto período (24 horas) luego de la cosecha, también se detectaron disminuciones en el RWC cuando las condiciones ambientales fueron las de instauración (D y E). La lechuga expuesta a condiciones óptimas de humedad (97-99 %HR), presentó incrementos en los valores de RWC en la mayor parte de las situaciones evaluadas (secciones y temperaturas). Tal comportamiento podría ser una respuesta de adaptación de los tejidos de lechuga al entorno saturado de agua (con mínima diferencia en la presión de vapor de agua entre el vegetal y el entorno que lo rodea). Bajo esta condición, las células estuvieron saturadas de agua aumentando los valores de RWC. El factor temperatura influyó en esta respuesta fisiológica posiblemente a través de un incremento en los mecanismos metabólicos tales como respiración y/o fluidez de membrana entre otros, teniendo un efecto en la masa seca de la célula. Yamasaki *et al.* (1999), analizando el efecto de la temperatura durante el proceso de imbibición del tejido de hojas de *Araucaria angustifolia*, informaron que estos efectos fueron más pequeños en las hojas más maduras que en los tejidos más jóvenes y en expansión, debido al potencial limitado para expansión de las células ya desarrolladas y/o a las bajas velocidades de metabolismo de estas células. En el presente capítulo, las hojas interiores (más jóvenes y en expansión) presentaron los mayores incrementos en RWC con respecto a otras secciones, siendo el aumento más alto a 20-22 °C (**Figura 6.2 (A)-(C)**).

La **Figura 6.3** presenta el progreso de WC en cada sección de lechuga durante las 24 horas de exposición a las condiciones ensayadas. Para las condiciones de HR óptima, el ANOVA aplicado a los datos de WC no mostró interacciones significativas entre los factores considerados en el análisis. El factor de TIEMPO del modelo estadístico tampoco resultó significativo, indicando que no se detectaron cambios en los valores de WC en función del tiempo en las distintas secciones de la planta en las tres temperaturas ensayadas con humedad relativa óptima (A, B y C). Estos resultados eran predecibles ya que las cabezas de lechuga estaban expuestas a una atmósfera prácticamente saturada.

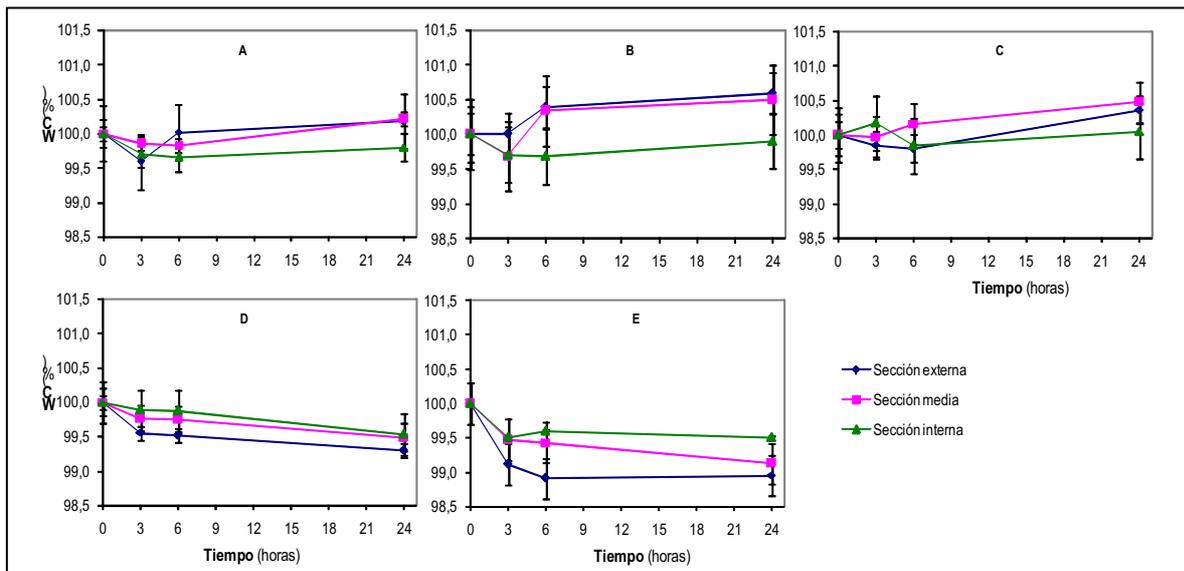


Figura 6.3. Evolución de WC en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Por el contrario, para las situaciones D y E, se registraron descensos significativos en los valores de WC alcanzando valores 1 % menores a los del momento de la cosecha. Estas reducciones, que parecen menores se correlacionan con altas pérdidas de peso. Por ejemplo, las plantas expuestas a la condición E presentaron un descenso en el WC de 0.76 % (promediando las tres secciones, de 94.43 a 93.67 %). Si se considera que las pérdidas de materia seca son despreciables en tan corto período de tiempo, se puede calcular que el descenso en el WC implica un descenso de peso del 12 % (coincidente con el valor hallado de WL, con lo cual la suposición de descenso despreciable de materia seca es correcta).

Aún cuando no hubo cambios detectables en el contenido de agua a lo largo de tiempo en las condiciones A, B y C, los perfiles de RWC denotaron importantes ajustes a lo largo de 24 horas después de la cosecha. En la expresión matemática de RWC (Capítulo I, Ec. 1.1), los incrementos en los valores de RWC pudieron originarse a partir de aumentos en la masa fresca (PF) vegetal y/o

disminuciones en su masa (PT) turgente. Como no se detectaron cambios en los valores de WC, se asumió que los valores de PF permanecieron inalterados. Entonces, los incrementos en los valores de RWC podrían deberse principalmente a disminuciones en la masa turgente, es decir, una reducción en la capacidad de mantenimiento de agua del tejido de lechuga, confirmando que el RWC es un índice más sensible que el WC. Mientras que los valores de WC indican las variaciones en el contenido de agua de los tejidos vegetales debidos a cambios en la presión de vapor de agua en la atmósfera circundante, el índice de RWC puede expresar los cambios estructurales en el tejido vegetal como una respuesta a la saturación de agua de la atmósfera. Bajo condiciones de temperaturas abusivas y de humedad óptima (10-12 y 20-22 °C, ambas a 97-99 %HR), los incrementos en la temperatura cambiaron la respuesta de tejido a la retención de agua, disminuyendo la masa (TM) turgente y aumentando los valores de RWC, estando las hojas internas más afectadas por este fenómeno.

La **Figura 6.4** muestra la evolución de FW en cada sección de lechuga durante las 24 horas de exposición a diferentes condiciones. Si bien cada situación presentó características particulares, en términos generales ocurrió un descenso en el FW en las tres secciones de la planta expuesta a cualquiera de las condiciones ensayadas, siendo los mayores descensos observados en la sección externa en comparación con la media y la interna, de cada situación.

Para las tres situaciones de humedad relativa óptima, el ANOVA aplicado a los datos de FW indicó una interacción significativa entre los factores TIEMPO, TEMPERATURA y SECCIÓN, es decir, cada sección de la planta evolucionó de una manera particular a cada temperatura. A una temperatura de 0-2 °C, no se registraron cambios significativos en el contenido de FW en las secciones media e interna durante las 24 horas, mientras que en la sección externa ocurrió una disminución significativa del 20 % respecto del valor inicial. En el Capítulo IV, se informaron disminuciones en el FW en la sección externa de lechuga a los 2 días de almacenamiento en condiciones óptimas (idénticas a las de la situación A del presente capítulo), sin cambios significativos en la sección media e interna. En el capítulo presente, las disminuciones fueron detectadas más temprano, durante las primeras 24 horas después de la cosecha. Cuando las plantas de lechuga fueron expuestas a la condición B, el comportamiento de FW en la sección externa fue similar al observado a 0-2 °C. Sin embargo, en las secciones media e interna se detectaron disminuciones significativas de FW, que a las 24 horas fueron del 16 %. Cuando la temperatura fue de 20-22 °C (situación C), las disminuciones de FW se detectaron nuevamente en las tres secciones de la planta alcanzando a las 24 horas, reducciones del 39 % para la sección

externa y del 44% para las secciones media e interna, sin diferencias significativas entre ellas. Es interesante observar que en estas condiciones de atmósfera cercana a la saturación, con bajas DPV, a pesar de que no se registraron disminuciones en el WC de las secciones, hubo descensos significativos en el contenido de agua libre. Estos descensos pueden ser causados por una respuesta del tejido a la cosecha ligando parte de su agua libre. Este comportamiento se vio significativamente afectado por la temperatura a la que se expuso el vegetal.

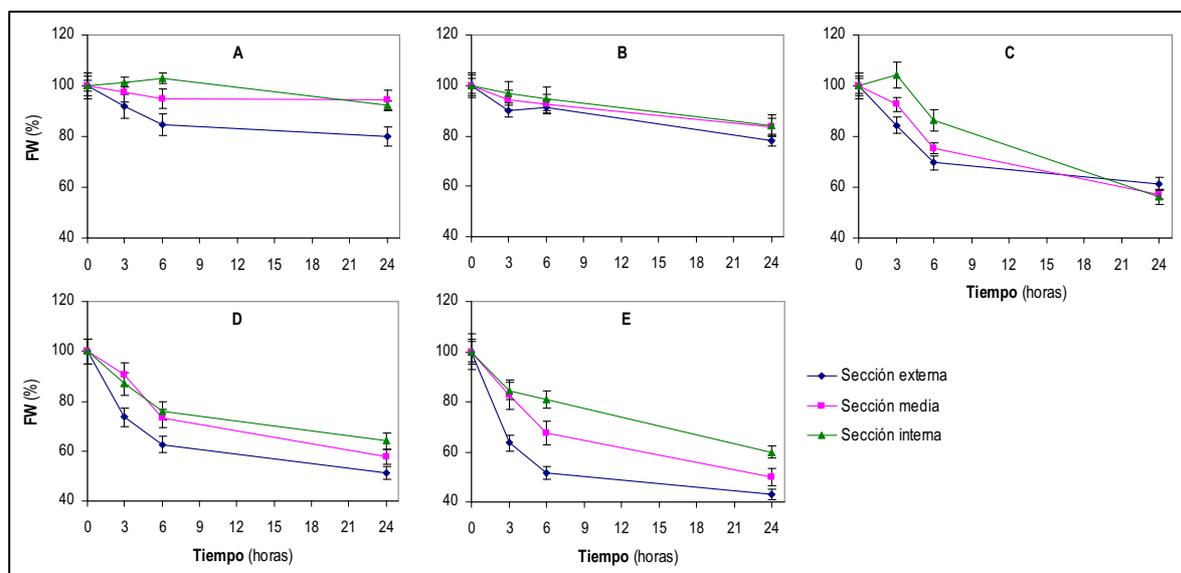


Figura 6.4. Evolución de FW en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Por otra parte, cuando las condiciones ambientales impuestas a las plantas de lechuga se caracterizaron por elevadas diferencias de presión de vapor (situaciones D y E), la disminución en el FW fue más acentuada en las tres secciones de la planta: 49, 42 y 36 % en secciones externa, media e interna de plantas expuestas a la condición D, y 57, 50 y 40 %, respectivamente, en plantas expuestas a la condición E. En estos casos, los descensos detectados en el FW son generados por dos fenómenos. El primero de ellos es la pérdida de agua por evaporación. El agua que se evapora cuando el producto es expuesto a una atmósfera insaturada es el agua libre. Una disminución del 1 % de WC por evaporación (por ejemplo de 94.4 a 93.4 %) indica que el vegetal ha perdido el 16 % de la cantidad de agua que contenía. Los valores de reducción de FW, en las últimas dos condiciones ensayadas son aún mayores y esto puede deberse al segundo fenómeno que estaría ocurriendo en el tejido que se corresponde con una respuesta del vegetal a la cosecha y a las condiciones ambientales adversas y que consiste en ligar parte de su agua libre para disminuir esas pérdidas. Esta disminución del agua libre en el tejido ocurre aún en condiciones de atmósfera

saturada y es afectada muy significativamente por la temperatura. El análisis de la evolución del agua unida permite corroborar esta hipótesis.

Por otra parte, resulta interesante comparar las situaciones C y D ya que en ambos casos se detectaron pérdidas de FW del mismo orden (alrededor del 40 %). Sin embargo, en la situación C no se detectó significativa pérdida de agua ni de peso, mientras que en la situación D, sí se observaron estos hechos.

La **Figura 6.5** presenta los cambios en los valores de BW en cada sección de lechuga durante las 24 horas de exposición a las diferentes condiciones ensayadas.

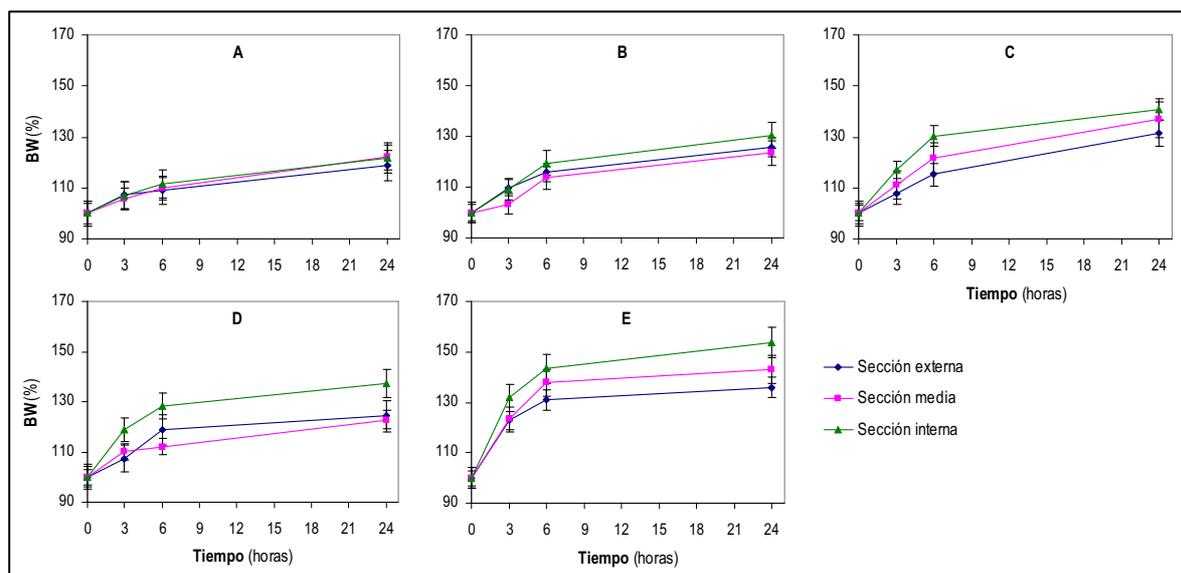


Figura 6.5. Evolución de BW en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Nuevamente en términos generales, se puede observar que en todas las situaciones evaluadas se detectó un incremento en el BW que fue mayor en la sección interna de la planta. Para el caso de condiciones ambientales saturadas, la evolución de los valores de BW durante las 24 horas ensayadas resultó similar para las tres secciones y a las tres temperaturas (no se detectaron interacciones dobles ni triple entre los factores del análisis estadístico). Los efectos principales de tales factores (SECCIÓN, TEMPERATURA y TIEMPO) resultaron significativos indicando que hubo una evolución de BW a lo largo del período evaluado, y hubo diferencias entre secciones y entre temperaturas pero las tendencias de cambio fueron las mismas en todos los casos. El factor SECCIÓN ($p < 0.0001$) indicó que las hojas internas tuvieron los mayores incrementos de BW a cada temperatura con respecto a los detectados para las otras secciones de la planta (sin

diferencias significativas entre ellas). El factor TEMPERATURA ($p= 0.0089$) indicó que los mayores incrementos de BW ocurrieron cuando la temperatura fue 20-22 °C. Finalmente, el factor TIEMPO ($p< 0.0001$) mostró que hubo incrementos en los valores de BW a medida que transcurrieron las horas de exposición a las condiciones ensayadas. Entonces, el BW aumentó durante las 24 horas posteriores a la cosecha y estos incrementos fueron función de la temperatura y la sección de la planta.

En el caso de las plantas expuestas a las condiciones D y E, el comportamiento fue similar al encontrado previamente. Los análisis estadísticos aplicados para estas dos situaciones arrojaron resultados similares: ausencia de interacción TIEMPO*SECCIÓN, pero factores individuales significativos indicando que hubo una evolución (incremento) en el BW de las plantas y que este incremento fue dependiente de la sección considerada, registrándose los mayores aumentos en la sección interna seguidos por la media y luego la externa. Comparando las situaciones B y D (ambas a 10-12 °C pero con una DPV 11 veces superior en D que en B) se puede observar que las secciones media y externa prácticamente no presentan diferencias: en las dos situaciones se observaron incrementos del orden del 22 %. Sin embargo, la sección interna presenta un mayor incremento (37 %) cuando la condición ambiental es insaturada (D) en comparación con el incremento del 30 % en la situación B. De manera similar, las situaciones C y E (ambas con una temperatura de 20-22 °C pero con una DPV 33 veces mayor en E respecto de C), se encontró que en las secciones externa y media, los incrementos en el BW fueron apenas 4 y 7 % mayores en E que en C, mientras que la sección interna el incremento en el BW fue 13 % superior en E que en C.

Los incrementos detectados en el BW en todas las situaciones refuerzan la hipótesis planteada previamente sobre cambios en el estado del agua. De lo expuesto también se deduce que el principal factor que actúa como modulante del fenómeno de ligar agua es la temperatura. El incremento en los valores de DPV de 11 y 33 veces generó aumentos en la respuesta pero no tan intensos como lo esperable. Pues al deshidratarse, los solutos de las células se concentran y tendrían mayor capacidad de ligar agua, de modo que los leves incrementos registrados al trabajar con atmósferas insaturadas podrían deberse a un fenómeno físico, mientras que los incrementos registrados al aumentar la temperatura podrían ser explicados como una respuesta fisiológica del tejido.

La **Figura 6.6** presenta los cambios en el índice FW/TW en cada sección de lechuga durante las 24 horas de exposición a diferentes condiciones.

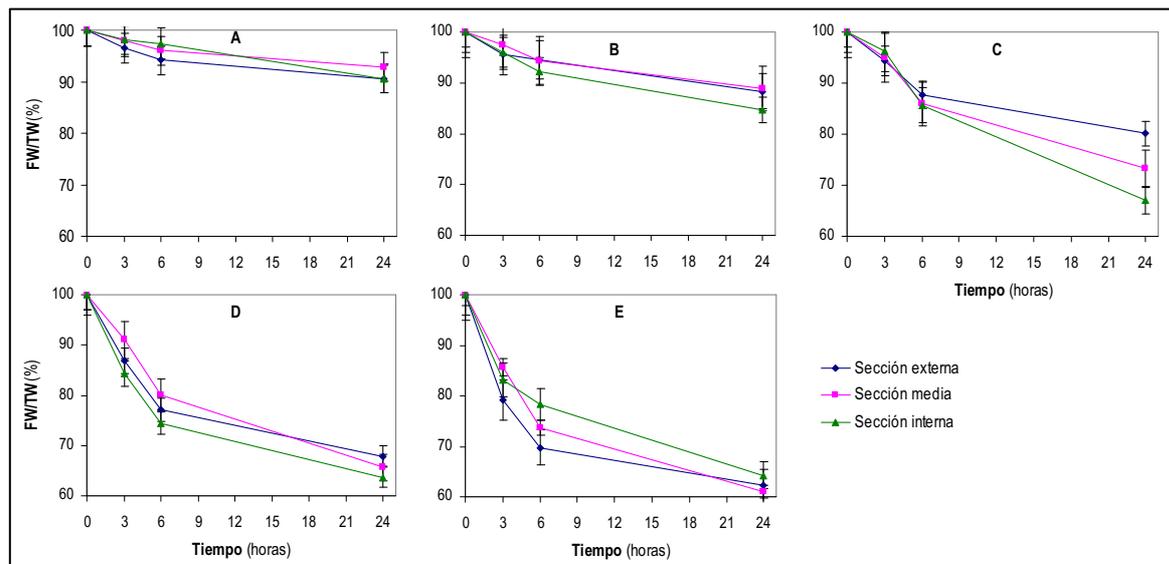


Figura 6.6. Evolución de FW/TW en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Puede observarse que en todas las situaciones evaluadas se detectó un descenso en los valores de FW/TW que fue afectado por la temperatura, la humedad relativa y la sección de la planta bajo consideración. Para el caso de condiciones ambientales saturadas (A, B y C) el ANOVA presentó una interacción significativa SECCIÓN*TEMPERATURA*TIEMPO, indicando que el comportamiento del índice en cada sección fue afectado de manera diferencial y en función de la temperatura. Así, mientras que en las situaciones A y B, no se detectaron diferencias significativas por sección (en las tres secciones de la planta se detectaron reducciones porcentuales similares: alrededor del 10 % de reducción a 0-2 °C y del 14 % para 10-12 °C), en la condición C las reducciones observadas fueron dependientes de la sección considerada: 20, 27 y 33 % para las secciones externa, media e interna, respectivamente. En el caso de las plantas expuestas a las condiciones D y E, el comportamiento del índice FW/TW nuevamente no fue afectado por la sección de la planta bajo consideración (ausencia de interacción TIEMPO*SECCIÓN, y factor SECCIÓN no significativo). En ambas situaciones se detectó una reducción significativa en el índice a lo largo del tiempo de exposición: 35 y 38 % respecto de los valores iniciales correspondientes a las situaciones D y E, respectivamente.

Las disminuciones en los valores de FW/TW están dadas por la reducción observada en el contenido de agua libre. Para las situaciones en las que se ensayó la exposición a atmósfera saturada, la disminución del FW está acompañada por un incremento en el BW, dando un contenido total de agua igual (las plantas expuestas a estas condiciones no sufren pérdida significativa en las

24 horas de tratamiento). En cambio, las plantas expuestas a las condiciones de atmósfera insaturada, sufrieron pérdida de agua, de modo que el agua total de la planta disminuye pero al haber un intercambio entre agua libre y agua unida, el índice FW/TW también disminuye.

3.3. Calidad microbiológica: Recuentos de bacterias mesófilas totales

La población más abundante en las hortalizas de hoja es la microflora mesófila (Watada *et al.*, 1996). Numerosos estudios se han llevado a cabo analizando el efecto de la temperatura en la carga y evolución microbiana en diferentes productos vegetales (Moreira *et al.* 2006, Thompson *et al.*, 2001). En el presente capítulo, además de la temperatura, se analizaron los factores edad de la hoja y la humedad relativa del ambiente como posibles moduladores de la evolución de la carga microbiana inicial durante las primeras horas post-cosecha.

La **Figura 6.7** presenta la evolución de los recuentos de bacterias mesófilas para cada sección de lechuga en cada una de las condiciones ensayadas.

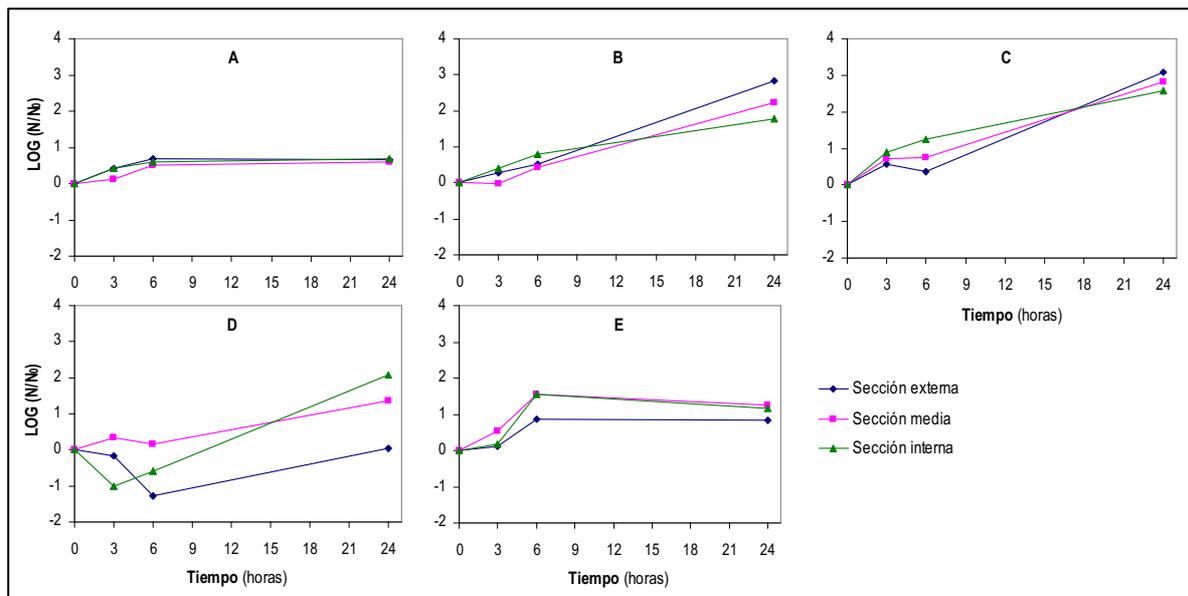


Figura 6.7. Evolución de los recuentos de bacterias mesófilas en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El ANOVA de los resultados correspondiente a los ensayos en humedad relativa óptima (A-C) indicó interacciones significativas entre los factores SECCIÓN*TIEMPO y TEMPERATURA*TIEMPO ($p = 0.0012$ y $p < 0.0001$, respectivamente), indicando que la evolución de los recuentos durante 24 h difiere en función de la sección y la temperatura considerada. En las tres secciones y en las tres condiciones (A-C) se detectaron incrementos en los recuentos microbianos durante las 24 h de exposición pero con características diferentes en función de la temperatura. En condiciones

óptimas (0-2 °C), se observó un aumento menor de 1 Log (a las 24 horas) en las tres secciones de lechuga sin diferencias significativas entre las mismas. Las plantas expuestas a 10-12 °C, presentaron recuentos microbianos más altos, con diferencias entre secciones: los recuentos microbianos en la sección externa aumentaron casi 3 Log, mientras que en la sección interna los incrementos fueron menores a 2 Log. La sección media mostró un comportamiento intermedio con un incremento de 2.3 Log. Finalmente, cuando la temperatura fue de 20-22 °C, el comportamiento de los recuentos microbianos fue similar al observado a la temperatura intermedia. Cuando la temperatura a la que se expuso el producto fue más cercana a la óptima para el crecimiento de bacterias mesófilas, la microflora nativa encontró condiciones más favorables para su desarrollo en las hojas externas que en las otras secciones de la planta de lechuga. Este resultado se puede atribuir al hecho que la sección externa está formada por tejido más senescente que está más susceptible al crecimiento bacteriano que el tejido joven sin daños mecánicos (King *et al.*, 1991).

Por otra parte, el comportamiento de las bacterias mesófilas en plantas expuestas a condiciones ambientales caracterizadas por mayor DPV, fue diferente al descrito previamente. El ANOVA aplicado a los resultados del ensayo D indicó una interacción significativa entre los factores TIEMPO y SECCIÓN, indicando un comportamiento particular de las bacterias mesófilas en función de la sección de lechuga considerada. Así, los recuentos encontrados en las primeras 6 horas posteriores a la cosecha disminuyeron aproximadamente 1 Log en las secciones externa e interna, mientras que se mantuvieron aproximadamente constantes en las hojas de la sección media de la planta. Luego, se detectaron incrementos en las tres secciones siendo mayores los detectados en la sección interna que en media y en externa alcanzando incrementos netos de 2 y 1.5 Log, en las secciones interna y media, respectivamente. En la sección externa, los recuentos finales estuvieron en el orden de los iniciales. Finalmente, el ANOVA aplicado a los resultados del ensayo E indicó que la interacción y el factor SECCIÓN fueron no significativos, mientras que sí lo fue el factor TIEMPO. Este resultado indica que los recuentos de bacterias mesófilas en plantas expuestas a las condiciones del ensayo E durante 24 horas, evolucionaron de igual manera en las tres secciones de la planta con un incremento de aproximadamente 1 Log. Nuevamente, es interesante comparar las situaciones C y D ya que en estos casos se registraron pérdida de agua libre y aumentos de agua unida de similares magnitudes, sin embargo, las condiciones de alta humedad y alta temperatura (C), favorecieron el crecimiento de microorganismos.

Estos resultados demuestran que tanto la temperatura como la humedad relativa del ambiente al que son expuestas las plantas de lechuga juegan un papel trascendental para la calidad microbiológica del producto. Así, las condiciones más favorables para el crecimiento de bacterias

mesófilas fueron encontradas en el ensayo C (alta temperatura y alta humedad relativa). En el ensayo D, las disminuciones en los recuentos detectadas durante las primeras horas post-cosecha pueden estar relacionadas con un efecto bactericida de la combinación de baja temperatura (10-12 °C, temperatura menor a la óptima para el crecimiento de bacterias mesófilas) y baja HR del ambiente (70-72 %HR). La ausencia de este efecto en el ensayo B, a igual temperatura que el D, puede relacionarse con la humedad relativa óptima utilizada en aquel ensayo. Por último, comparando los resultados de los ensayos C y E (a igual temperatura, pero diferente HR), nuevamente, el efecto de la HR sobre el crecimiento de bacterias mesófilas resultó en mayores recuentos a mayor HR.

El efecto combinado de estos dos factores ambientales sobre la calidad microbiológica de hortalizas y frutas ha sido estudiado por varios autores encontrándose, en general, resultados equivalentes a los informados en la presente tesis. Fonseca (2006), estudiando el efecto de la humedad del ambiente al momento de la cosecha sobre las poblaciones microbianas, encontró que las altas humedades relativas favorecían el crecimiento de microorganismos. Shin *et al.* (2007), estudiando el efecto de la HR y T sobre la calidad de frutillas, encontraron mayor deterioro en la calidad microbiológica del producto cuando las condiciones ambientales se caracterizaron por alta humedad relativa y alta temperatura.

3.4. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

La **Figura 6.8** presenta los cambios en el contenido de ácido ascórbico (AA) en cada sección de lechuga durante las 24 horas de exposición a diferentes condiciones.

En términos generales, se observaron disminuciones en el contenido de ácido ascórbico en las tres secciones de las plantas expuestas a todas las condiciones ensayadas. El efecto de la temperatura sobre el indicador de calidad nutricional puede analizarse en los ensayos A-C. El ANOVA aplicado a los datos de AA para estos ensayos no mostró interacción triple significativa. Sin embargo, sí se detectó interacción SECCIÓN*TEMPERATURA, indicando que el comportamiento del AA en las distintas secciones fue particular en función de la temperatura. A 0-2 °C, las secciones externa y media presentaron disminuciones significativas en el contenido de AA desde las primeras horas post-cosecha. Las reducciones de AA en la sección interna comenzaron luego de las 6 horas de la cosecha. A esta temperatura, las tres secciones presentaron retenciones de AA superiores al 80 %, sin diferencias significativas entre ellas. El comportamiento del AA en las plantas expuestas a las condiciones del ensayo B, fue diferente ya que las disminuciones en el AA comenzaron en las tres secciones en las primeras horas luego de la cosecha. Hacia el final del período ensayado, la

sección externa presentó las mayores disminuciones de AA (superiores al 20 %), mientras que en la sección interna, tales disminuciones fueron del orden de 15 %. Finalmente, cuando la temperatura fue de 20-22 °C, en condiciones óptimas de HR (ensayo C), las disminuciones en el contenido de AA fueron más pronunciadas en las tres secciones, sin detectarse diferencias significativas entre la sección externa y la media. En estas secciones, la retención de AA a las 24 horas de exposición resultó en un valor de 50 %, mientras que la sección interna presentó una retención del 70 %.

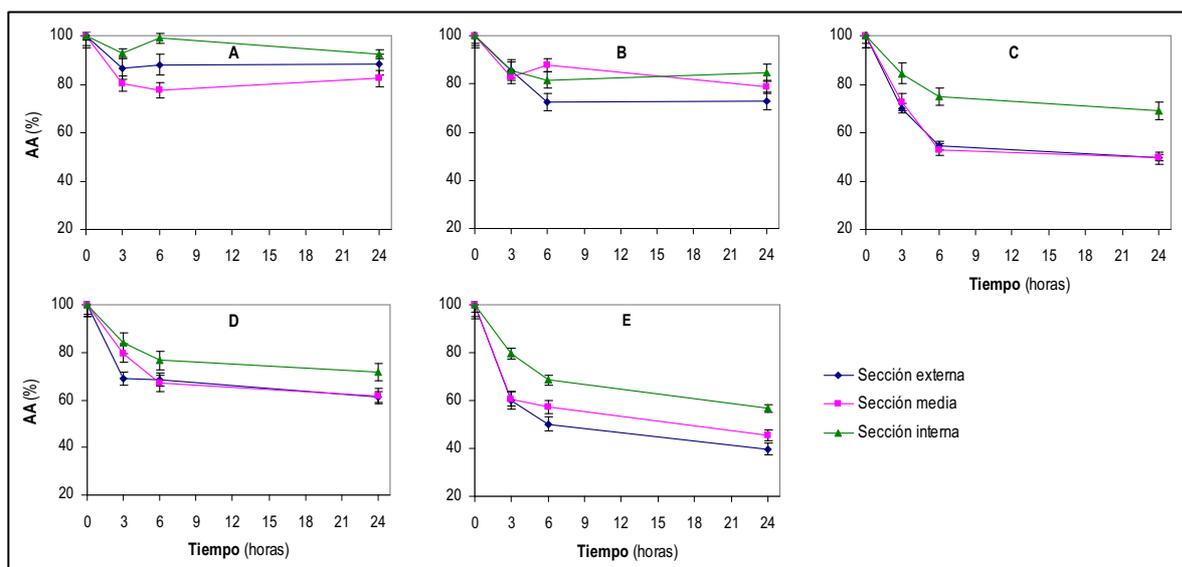


Figura 6.8. Evolución de los recuentos del contenido de ácido ascórbico en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El ácido ascórbico es una de las vitaminas más sensible de los alimentos. Numerosos factores afectan su degradación, principalmente la temperatura, las concentraciones de sal y azúcar (Davey *et al.*, 2000), pH (Huelin *et al.*, 1971), el oxígeno (Lee *et al.*, 2000), enzimas (Fennema, 1993), entre otros. Aún a temperatura óptima, se producen importantes pérdidas de AA en cortos períodos inmediatamente después de la cosecha. Estas reducciones podrían estar asociadas al estrés producido por la cosecha (Davey *et al.*, 2000). Resultados similares fueron encontrados en otros productos: Lee *et al.* (1982) informaron pérdidas de AA de más del 20 % en arvejas en el período de 1 hora inmediatamente después de la cosecha. Moreira *et al.* (2006), analizando los cambios en el contenido de ácido ascórbico en la lechuga romana, encontraron que las pérdidas de AA eran cercanas al 30 % y 18 % para muestras frescas almacenadas durante 24 horas a 8 y 0 °C, respectivamente. Tulio *et al.* (2002), analizando los efectos de las temperaturas de almacenamiento en la calidad post-cosecha de hojas de yute, informaron que las disminuciones de AA eran poco significativas a una temperatura de alrededor de 1 °C pero considerablemente más altas a

temperaturas entre 20 y 30 °C. Estos hechos están en acuerdo con los resultados encontrados en el presente capítulo.

El análisis de los resultados correspondientes a los ensayos D y E, caracterizados ambos por altas DPV, indicaron para ambos casos interacción SECCIÓN*TIEMPO significativa. En ambos ensayos, no se detectaron diferencias significativas en el comportamiento del AA entre las secciones externa y media, presentando disminuciones promedio cercanas al 40 y al 60 % en los ensayos D y E, respectivamente. La sección interna, por su parte presentó disminuciones más graduales en el contenido de AA, alcanzando porcentajes de reducción de 28 y 43 % en tales condiciones, respectivamente. Comparando las situaciones B y D (ambas a 10-12 °C pero con diferente %HR) o bien las situaciones C y E (ambas a 20-22 °C pero con diferente %HR) es evidente que la HR constituye un factor que impacta significativamente la retención de AA. Cuando el ambiente al que se exponen las plantas presenta elevadas DPV, las pérdidas nutricionales se incrementan, posiblemente por efecto de la pérdida de agua que está sucediendo en el tejido. Tal como se analizó en el Capítulo IV al estudiar el efecto del almacenamiento de plantas de lechuga en diferentes condiciones de HR, tanto la edad del tejido como la HR afectan significativamente este indicador nutricional. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que las pérdidas de agua pueden incrementar la degradación de ácido ascórbico debido principalmente a procesos oxidativos (Shin *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 1998).

3.5. Calidad físico-química: Contenido de clorofila

La **Figura 6.9** presenta las variaciones de clorofila en las secciones de lechuga durante la exposición de las plantas a las diferentes condiciones ensayadas.

En términos generales, se observó un descenso en la concentración de este pigmento en las 24 horas posteriores a la cosecha de lechuga. Este resultado era esperable ya que es ampliamente conocido que la exposición de casi todos los vegetales a temperaturas inadecuadas (más altas que la óptima recomendada para cada caso) ocasiona cierta degradación en los pigmentos de clorofila (Zhang *et al.*, 2008; Yin *et al.*, 2007; King *et al.*, 2001).

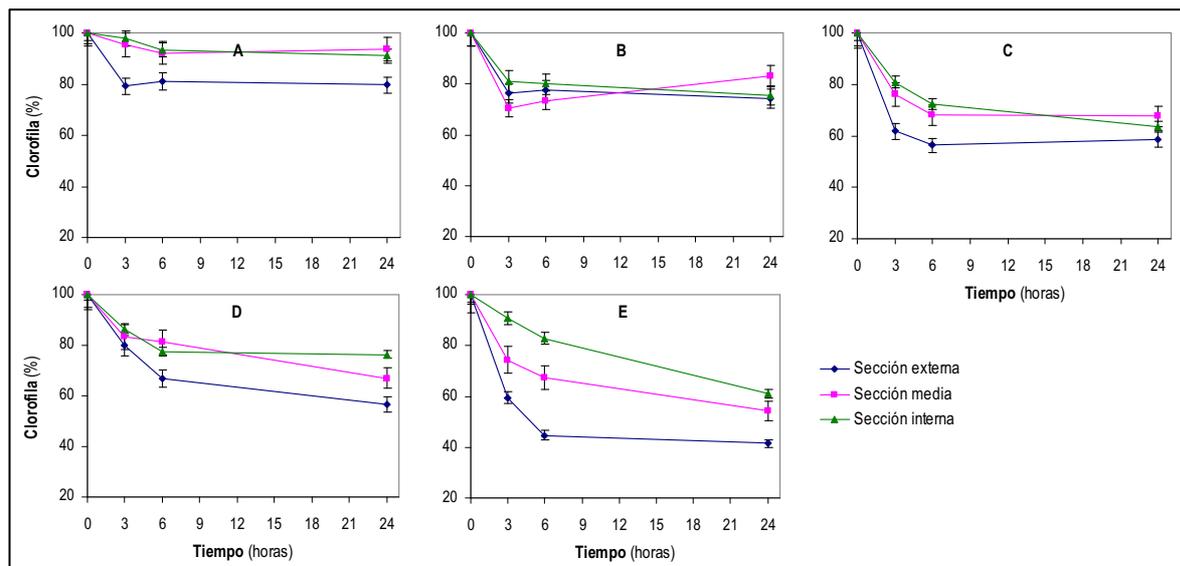


Figura 6.9. Evolución de los recuentos del contenido de ácido ascórbico en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El análisis estadístico de los resultados correspondientes a los ensayos llevados a cabo a HR óptima (A-C), indicó, a través del ANOVA aplicado, una interacción significativa entre los factores SECCIÓN, TIEMPO y TEMPERATURA. Este hecho implica que el comportamiento del pigmento clorofila en las distintas secciones de la planta fue particular dependiendo de la temperatura a la que fueron expuestas las plantas. De este modo, a 0-2 °C sólo la sección externa presentó degradación del pigmento mientras que en las otras secciones de la planta no se detectaron cambios en la concentración de clorofila durante las 24 horas de exposición. Por su parte, cuando la temperatura fue de 10-12 °C, se detectaron descensos en la concentración del pigmento en las tres secciones de la planta, sin diferencias significativas entre ellas. Finalmente, a 20-22 °C, también se detectó una degradación significativa de clorofila siendo la sección externa la más afectada por presentar las mayores disminuciones en la concentración del pigmento.

Estos resultados indican que tanto la edad del tejido (como factor intrínseco) como la temperatura (como factor extrínseco) afectaron significativamente la degradación de clorofila. El efecto de la temperatura es ampliamente conocido: cuando ésta se incrementa, también lo hace la actividad metabólica del tejido, de modo que los aumentos de temperatura generan mayor velocidad de deterioro. Ferrante *et al.* (2007), trabajando con hojas de *Valeriana*, encontraron que el contenido de clorofila empieza a declinar unos cuantos días después de la cosecha y este fenómeno ha sido también observado para otros vegetales de hoja (Conte *et al.*, 2004). En la investigación presente, la degradación de clorofila fue detectada tempranamente, 3 h después de la cosecha. Después de

este período, la velocidad de pérdida de este pigmento fue significativamente inferior. Como una respuesta al estrés de la cosecha, cuando se corta el suministro de agua y nutrientes, en las hojas externas (las más maduras de la planta, posiblemente cercanas a su senescencia fisiológica) pudieron desencadenarse respuestas fisiológicas diferentes. Cran *et al.* (1974) encontraron comportamientos diferenciales en el contenido de clorofila entre espinaca madura y espinaca joven cuando las plantas fueron expuestas a luz u oscuridad durante 7 días. Asimismo, Koukounaras *et al.* (2007), trabajando con hojas de rúcula de diferentes edades fisiológicas, encontraron una respuesta diferencial del tejido en cuanto a la evolución de la clorofila durante el almacenamiento del vegetal. Durante la senescencia natural foliar, los nutrientes son normalmente movilizados de la hoja senescente para ser usados en otras partes de la planta. Al momento de la cosecha, el proceso de senescencia es inducido artificialmente a causa del detenimiento en la provisión de nutrientes (Page *et al.*, 2001). Como una respuesta rápida, la degradación de C fue evidente en hojas externas.

El análisis de los resultados de los ensayos con HR sub-óptimas (D y E), indicó una interacción significativa TIEMPO*SECCIÓN: la evolución del pigmento clorofila en cada sección tuvo características particulares. Para las condiciones del ensayo D, se observaron las mayores disminuciones del pigmento en la sección externa respecto de las otras dos secciones, sin diferencias significativas entre ellas. Comparando estos resultados con el ensayo B (igual temperatura pero diferentes HR), la degradación de clorofila detectada en las secciones media e interna fue similar en ambos casos (alrededor del 28 % respecto de los valores iniciales), mientras que para la sección externa las disminuciones fueron mayores cuando las plantas se expusieron a un ambiente con mayor DPV (condición D). En las condiciones del ensayo E, la degradación de clorofila ocurrió en las tres secciones de la planta y con diferencias significativas entre ellas. Los mayores descensos nuevamente estuvieron asociados a la sección externa, mientras que las mayores retenciones del pigmento fueron detectados en la sección interna. En este caso, al comparar con la situación C, (a igual temperatura (20-22 °C) pero diferente HR), se encontraron resultados similares a los que surgieron de la comparación entre B y D: la pérdida de clorofila en la sección externa fue afectada por la HR del ambiente detectándose mayores disminuciones en la situación insaturada (E, casi el 60 %), mientras que en las secciones media e interna, los valores de retención del pigmento a las 24 horas no difirieron significativamente en función de la HR. El hecho de que la HR impacte en mayor medida a la sección externa, podría estar relacionado con (además de la edad fisiológica del tejido que constituye cada sección) la mayor exposición de las hojas externas a los factores ambientales tales como la luz, la baja HR y el oxígeno, que pudieron acelerar el deterioro del pigmento. La propia morfología de la planta genera una protección de las hojas más

jóvenes que están cubiertas por las capas de hojas más externas, previniendo de esta manera la exposición directa a este factor ambiental.

3.6. Calidad organoléptica

La calidad de la lechuga está dada por diferentes componentes, tales como una apariencia fresca, color verde brillante, textura crujiente, ausencia de pardeamiento y otros defectos. Es generalmente aceptado que el tiempo de almacenamiento introduce cierta degradación en la apariencia de las cabezas de lechuga, caracterizado principalmente por la pérdida de textura, la extensión de la decoloración y el desarrollo de pardeamiento. Sin embargo, el impacto de condiciones de temperatura abusivas y de HR sub-óptima durante las primeras horas después de la cosecha sobre la calidad sensorial de la lechuga no ha sido estudiado previamente por otros autores.

La **Figura 6.10** presenta los cambios en la calidad visual general (OVQ) en las diferentes secciones de plantas de lechuga expuestas a las diferentes condiciones ensayadas.

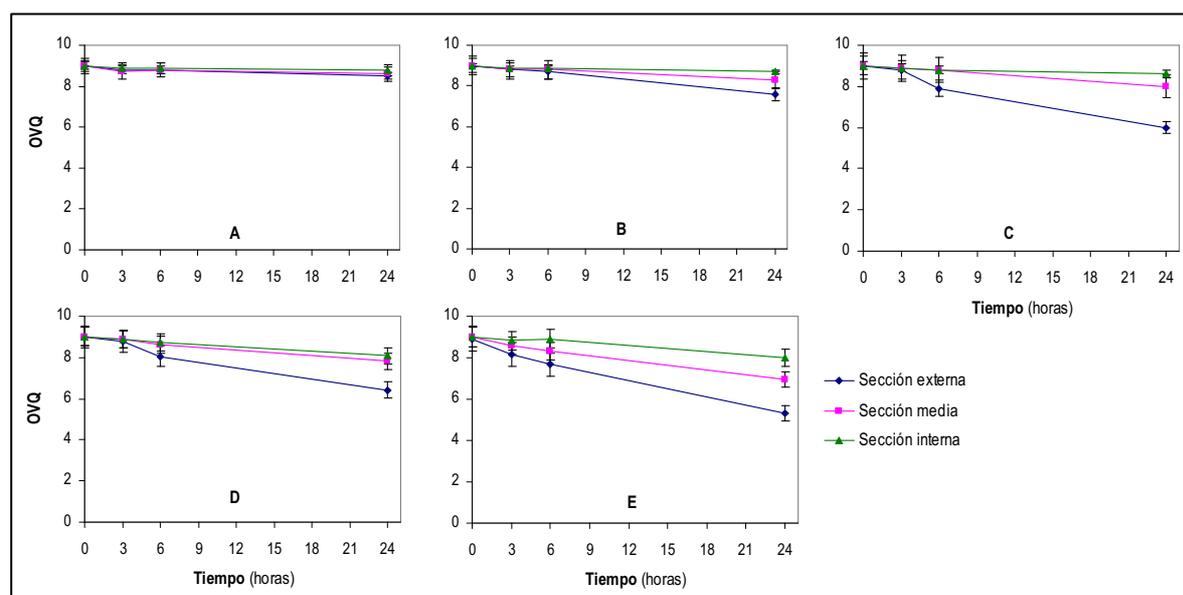


Figura 6.10. Evolución del OVQ en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El análisis de los datos de OVQ correspondientes a las plantas expuestas a un ambiente con HR alta (A-C), indicó que hubo una interacción significativa entre los factores TEMPERATURA, SECCIÓN y TIEMPO ($p < 0.01$). De este modo, el comportamiento del OVQ en las secciones fue particular en cada temperatura ensayada. Así, cuando la temperatura fue la óptima recomendada para lechuga (A), los miembros del panel sensorial no detectaron cambios significativos en el OVQ a

lo largo de las 24 horas de exposición en ninguna de las tres secciones de la planta, manteniéndose los puntajes de la evaluación por encima de 8.5. En el ensayo a temperatura intermedia (10-12 °C, ensayo B) no se detectó un deterioro en la calidad visual durante las primeras 6 horas posteriores a la cosecha en ninguna de las tres secciones de la planta. Pero luego de este tiempo, los panelistas comenzaron a detectar un deterioro en las cualidades organolépticas evaluadas principalmente en las secciones más exteriores de la planta, resultando en valores finales (a las 24 horas) de OVQ de 7.6, 8.3 y 8.8 en las secciones externa, media e interna, respectivamente. Por último, en el ensayo a la temperatura más alta, el OVQ en las secciones media e interna presentó una evolución similar a la observada a 10-12 °C, mientras que en la sección externa hubo un descenso significativo desde las primeras horas post-cosecha alcanzando un valor final de 6 puntos. Los principales cambios que los panelistas detectaron en las muestras analizadas estuvieron asociados a la textura del tejido: una pérdida moderada fue percibida en las hojas externas de plantas expuestas a 10-12 °C mientras que a mayor temperatura el deterioro de este atributo de calidad resultó mayor, dando valores de OVQ cercanos al límite de aceptabilidad (5). Esta pérdida de textura puede estar relacionada con los cambios más importantes en los ajustes de agua de las células que se dan en esta temperatura. Las disminuciones significativas en la relación FW/TW en todas las secciones de lechuga expuesta a alta temperatura y detectadas desde las primeras horas post-cosecha probablemente causen un detrimento en la textura. Por su parte, los panelistas no detectaron cambios apreciables en el color de las diferentes secciones a medida que transcurrió el tiempo de exposición.

Los análisis de los datos de OVQ correspondientes a las plantas expuestas a un ambiente con HR sub-óptima (D y E), indicaron en ambos casos una interacción significativa entre los factores SECCIÓN y TIEMPO ($p < 0.01$). La evolución del OVQ en las condiciones del ensayo D fue similar al encontrado en la situación B: una leve disminución en el OVQ en secciones interna y media, sin diferencias significativas entre ellas y una mayor disminución en el OVQ de la sección externa, alcanzando valores finales de 8.1, 7.8 y 6.4, respectivamente (valores menores a los encontrados en la situación B). En las plantas expuestas a las condiciones del ensayo E, se encontró una disminución significativa en los valores de OVQ en las tres secciones. Las hojas más internas de la planta tuvieron los puntajes más altos de OVQ y los descensos se detectaron recién luego de las 6 horas de exposición, alcanzando un valor final de 8 puntos. Los descensos en las secciones media y externa se detectaron a partir del momento de la cosecha, siendo más intensos en la sección externa que en la media y alcanzando valores de OVQ de 5.3 y 6.9, respectivamente. Estos valores fueron inferiores a los encontrados en la situación C, en la que las plantas se expusieron también a

20-22 °C pero con mayor HR. Los principales cambios que los panelistas detectaron en las muestras expuestas a condiciones de baja HR (D y E) también estuvieron asociados a la textura del tejido, siendo más afectada la sección externa de la planta. En estos casos, la pérdida de textura puede estar relacionada con la disminución detectada en el contenido de agua en los tejidos. Numerosos estudios han probado la alta correlación existente entre el contenido de agua, la turgencia de las células y la textura del tejido (Taniwaki et al., 2009; Toivonen y Brummell, 2008; Newman et al., 2005; Sams, 1999). En estos casos, los panelistas también detectaron cambios apreciables en el color de las diferentes secciones (principalmente en sección externa) a medida que transcurrió el tiempo de exposición presentando las hojas una mayor opacidad.

Finalmente, los panelistas evaluaron un parámetro adicional que fue el pardeamiento detectado en la zona de corte de la planta (Goñi, 2011). La **Figura 6.11** presenta los resultados encontrados para las plantas expuestas a las condiciones A-E.

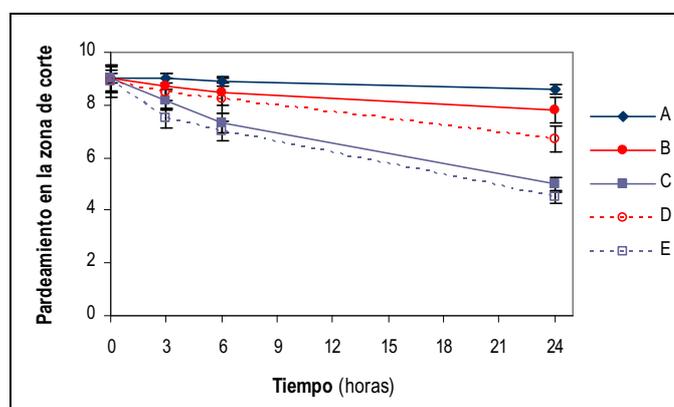


Figura 6.11. Evolución del pardeamiento en la zona de corte en plantas de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El pardeamiento se desarrolló en la base de la lechuga debido al corte realizado en la cosecha. Las plantas expuestas durante 24 horas a las condiciones óptimas (A) prácticamente no desarrollaron pardeamiento en la zona de corte, manteniendo los puntajes de evaluación de este parámetro en valores superiores a 8. En cualquiera de las otras condiciones, se produjeron cambios significativos con oscurecimientos muy acentuados. La temperatura tuvo un alto impacto sobre el proceso de pardeamiento desarrollado en la zona, encontrándose puntajes de 8.6, 7.8 y 5 a las 24 horas de exposición a las condiciones A, B y C, respectivamente. La humedad relativa también afectó la incidencia del fenómeno provocando mayores disminuciones en el puntaje otorgado a las plantas que las detectadas a igual temperatura pero mayor HR. Así, para la condición D, el valor obtenido a las 24 horas fue de 6.7 y para la condición E resultó en 4.5. En la **Figura A.5**, del

ANEXO II, se muestran imágenes correspondientes a plantas de lechuga luego de 24 horas de exposición a las condiciones ensayadas en las que se puede observar el pardeamiento desarrollado en la zona de corte de la planta.

Se han propuesto varias rutas metabólicas para explicar el pardeamiento de los tejidos vegetales. Sin embargo, el mecanismo generalmente aceptado es la oxidación de los compuestos fenólicos propios del tejido (que contienen grupos *o*-dihidroxilo) por medio de la acción de enzimas oxidantes, especialmente la polifenoloxidasas, generándose polímeros coloreados (Wills *et al.*, 2008; Castañer *et al.*, 1996). El corte realizado en el momento de la cosecha produce una ruptura de las células ubicadas en la zona de corte generando una descompartimentalización de sustratos (polifenoles) y enzimas (polifenoloxidasas) permitiendo el desarrollo del pardeamiento enzimático (Atunkaya y Gökmen, 2008).

4. CONCLUSIONES

El detrimento de la calidad de lechuga comienza en las primeras horas después de la cosecha y es un proceso afectado por la temperatura, la humedad relativa del ambiente, la edad del tejido y la posición de las hojas. Cuando las plantas de lechuga se exponen a condiciones abusivas durante las primeras horas después de la cosecha, se producen cambios significativos en los índices de calidad fisiológica, nutricional, microbiológica, físico-química y organoléptica.

Bajo todas las condiciones ensayadas de HR óptima y diferente temperatura, ocurren movimientos (disminuciones en FW, aumentos en BW) y cambios en la capacidad de retención de agua del tejido (RWC). Estos cambios en el status de agua son más evidentes a temperaturas de exposición más altas. Los cambios detectados en condiciones óptimas (0-2 °C, 97-99 %HR) se pueden interpretar como respuestas fisiológicas del vegetal a la cosecha (corte de suministro de nutrientes), que pueden inducir la senescencia del tejido. El aumento en la cantidad del agua unida sucede con una disminución simultánea en el contenido de agua libre. Este comportamiento puede soportar la hipótesis que los ajustes son forzados principalmente por el estrés de la cosecha. Con el aumento de la temperatura de exposición, se intensifican los hechos observados. Además del efecto de la temperatura, se observó en algunos índices un importante efecto de la sección de la planta bajo consideración, encontrándose los cambios más severos en la sección externa. Las bacterias mesófilas presentaron incrementos significativos (3 Log) especialmente en las situaciones de mediana y alta temperatura en HR óptima. Finalmente, la calidad nutricional y físico-química también se vio afectada en las tres situaciones de HR óptima ensayadas con diferencias en función

de la sección y de la temperatura. Todos estos cambios en los índices de calidad detectados en las secciones de la planta repercutieron en la calidad visual general, especialmente a las temperaturas más altas de ensayo.

Bajo las condiciones de HR sub-óptima ocurren, además de movimientos de agua (disminuciones en FW, aumentos en BW) y cambios en la capacidad de retención de agua del tejido (RWC), pérdidas de agua por evaporación y, en consecuencia, pérdidas de peso. Las bacterias mesófilas presentaron incrementos más moderados (entre 1 y 2 Log, dependiendo de la sección y condición) que en las situaciones de HR óptima. La calidad nutricional y físico-química disminuyó considerablemente bajo estas condiciones de atmósfera insaturada. También se encontró que los cambios más severos tuvieron lugar en la sección externa de la planta que es la más expuesta al ambiente con alta deficiencia de presión de vapor de agua. Todos estos cambios en los índices de calidad detectados en las secciones de la planta repercutieron en la calidad visual general.

En el presente capítulo, se presentó evidencia de cómo las temperaturas y HR no controladas durante las primeras horas después de la cosecha afectan las respuestas fisiológicas de la lechuga. Mantener las condiciones de temperatura y HR adecuadas desde las primeras horas post-cosecha es importante para minimizar las pérdidas de calidad. Estos resultados, confirman la importancia de realizar un adecuado acondicionamiento del producto inmediatamente después de la cosecha, que implicaría la reducción de la temperatura junto con el mantenimiento de una humedad relativa alta. Ambos factores ambientales son determinantes de la calidad y controlar sólo uno de ellos puede ser contraproducente. Así por ejemplo, cubrir las plantas con algún material plástico impermeable al agua, permitiría el desarrollo de una atmósfera saturada. Sin embargo, si en esta situación no se controla la temperatura, la calidad microbiológica del producto se vería seriamente comprometida. Por el contrario, si sólo se desciende la temperatura, sin control de la humedad relativa, las pérdidas de agua (por elevada DPV), también impactarían negativamente sobre el producto que presentaría, además, pérdidas de peso.

Por otra parte, el conocimiento del efecto de la edad del tejido sobre la evolución de los índices de calidad es de importancia fundamental para productores porque pueden tomar decisiones basadas en este comportamiento diferencial relacionado con el grado del desarrollo del tejido. A modo de ejemplo, para la elaboración de una lechuga mínimamente procesada se suelen utilizar hojas de la sección interna de la planta debido a la mayor estabilidad que presentan los índices de calidad. De este modo ellos pueden usar las hojas de lechuga diferentes para los usos alternativos como consumo fresco, productos como mínimamente procesados, entre otros.

Por último, es necesario considerar que el sistema modelo utilizado para el análisis del impacto de los factores ambientales sobre la calidad de lechuga, consistió en plantas expuestas individualmente al ambiente generado. Sin embargo, en la práctica real, la lechuga a medida que es cosechada va siendo empacada en jaulas de madera para su distribución. Es probable que este sistema de manejo en jaulas genere una respuesta diferente en el tejido vegetal y este tema será abordado en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO VII

EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LECHUGA EMPACADA EN JAULAS

Esquema conceptual

Índices evaluados:

- Contenido de agua relativo (RWC)
- Contenido de agua (WC)
- Contenido de agua libre (FW)
- Contenido de agua unida (BW)
- Relación agua libre a agua total (FW/TW)
- Contenido de ácido ascórbico (AA)
- Contenido de clorofila (C)
- Recuentos de poblaciones microbianas (Log (UFC/g))
- Calidad visual global (OVQ)

Seguimiento

- A las 24 horas de exposición a diferentes condiciones ambientales (empacada en jaulas).
- Durante el almacenamiento en condiciones óptimas.

Modelo

- Estratos de la jaula.
- Planta entera.
- Modelo de GSI para el almacenamiento.

CAPÍTULO VII:

EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LECHUGA EMPACADA EN JAULAS

1. INTRODUCCIÓN

Hasta el momento se han descrito a lo largo del presente trabajo de tesis los atributos de calidad de lechuga mantecosa al momento de la cosecha (Capítulo I); el impacto de factores pre-cosecha: método de cultivo (Capítulo II) y grado de desarrollo al momento de la cosecha (Capítulo III), sobre la calidad inicial de lechuga y su evolución durante el almacenamiento refrigerado; la evolución de los índices de calidad de plantas almacenadas en condiciones óptimas y sub-óptimas (Capítulo IV); se ha desarrollado un modelo matemático (GSI) que permite el seguimiento de la calidad a través de un único indicador denominado Índice de Estabilidad Global (Capítulo V) y finalmente se ha evaluado el efecto de la exposición de plantas de lechuga a condiciones abusivas de temperatura y humedad relativa durante las primeras 24 horas luego de la cosecha sobre indicadores de calidad (Capítulo VI). En todos los casos la planta de lechuga individual constituyó la unidad experimental a evaluar. Sin embargo, tal como se anticipó en el Capítulo VI, en la práctica real, la lechuga a medida que es cosechada va siendo empacada en jaulas de madera para su distribución. De modo que la jaula de lechuga constituye una nueva unidad experimental a evaluar.

En las quintas del cinturón hortícola de Mar del Plata, la lechuga es cosechada utilizando técnicas de recolección manuales (Anexo II, **Figura A.7**): cada planta es cortada cerca de la superficie del suelo dejando las raíces en la tierra y retirando las hojas externas que presentan síntomas de senescencia (hojas amarillentas, deshidratadas). Una vez que la planta ha sido cortada y prolijada, es acomodada en jaulas de madera para transporte. En muchos países de Europa y en Estados Unidos, luego de la cosecha y empaque de lechuga se lleva a cabo el enfriamiento por vacío como procedimiento comercial estándar (Mc Donald y Sun, 2000). Esta práctica permite la

remoción rápida del calor de campo reduciendo la temperatura del producto de 25 a 1 °C en 30 minutos. Los efectos beneficiosos del enfriamiento por vacío en la extensión de la vida útil de lechuga Iceberg ha sido ampliamente estudiado (Ozturk y Ozturk, 2009; He y Li, 2008; Sun y Zheng, 2006; He *et al.*, 2004; Martínez y Artes, 1999). Sin embargo, este procedimiento no constituye una práctica habitual en la zona del cinturón hortícola de Mar del Plata, así como tampoco en el resto del país.

Si bien el sistema de manejo en jaulas sin preenfriamiento está ampliamente difundido y constituye una práctica general entre productores y distribuidores de la zona, existen pocos estudios a nivel nacional que aborden el impacto de este manejo sobre la calidad de la lechuga y sobre la extensión de la vida útil de la misma. Teniendo en cuenta, además, que existe una tendencia a nivel mundial de revisar las prácticas de manejo durante la rutina de comercialización de los productos agroalimentarios (Ahumada *et al.*, 2009), el conocimiento de los eventos que ocurren durante la distribución y comercialización de lechuga se vuelve un área de conocimiento de vacancia (Nunes *et al.*, 2009).

Como objetivos del capítulo se plantearon los siguientes puntos:

- 1) Determinar los efectos de la exposición (24 horas posteriores a la cosecha: post-cosecha temprana) de plantas de lechuga empacadas en jaulas a ambientes con diferentes combinaciones de temperatura y humedad relativa, sobre los indicadores de calidad fisiológica, nutricional, microbiológica, físico-química y organoléptica. En este punto, se consideró la posición de la lechuga dentro de la jaula como un factor que puede introducir variabilidad en los resultados (Nunes *et al.*, 2009). Por ello se analizaron las plantas de diferentes estratos dentro de la jaula: superior, medio, inferior. Las condiciones de temperatura y humedad relativa ensayadas fueron las dos condiciones extremas utilizadas en el Capítulo VI (Condición A: 0-2 °C, 97-99 %HR; Condición E: 20-22 °C, 60-62 %HR).
- 2) Establecer el impacto de las condiciones A y E aplicadas durante 24 horas a las jaulas, sobre la extensión de la vida útil de las plantas de lechuga al ser almacenadas en condiciones óptimas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico y preparación de muestras

Una vez cosechadas, las plantas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* var. L) se transportaron inmediatamente al laboratorio y ocho plantas enteras fueron analizadas en la primera

hora después de la cosecha para determinar los valores de los índices de calidad correspondientes a tiempo cero.

Las otras plantas no fueron sometidas a ninguna operación de acondicionamiento previa, sólo fueron pesadas individualmente y colocadas en jaulas. El armado de la jaula siguió el protocolo utilizado en la práctica habitual que consiste en ubicar un primer estrato de 6 plantas de lechuga orientadas hacia abajo (la roseta de hojas en contacto con el fondo de la jaula y la base de la planta hacia arriba). Este es el estrato inferior. A continuación, se colocan otras 6 plantas (estrato medio) con igual orientación sobre las plantas anteriores. Y finalmente la jaula termina de armarse colocando 9 plantas con igual orientación que las anteriores, conformando el estrato superior. Las jaulas fueron expuestas a las condiciones preestablecidas (ver inciso 2.2), destinando dos jaulas a cada condición.

Una vez transcurridas las 24 horas, se desarmaron las jaulas y, luego del pesado de las plantas, se procedió al muestreo correspondiente a las 24 horas luego de la cosecha. En ese momento, se tomaron dos plantas de cada estrato de la jaula y se llevó a cabo el análisis de los índices de calidad. Las demás plantas de la jaula fueron almacenadas en condiciones óptimas siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo IV, inciso 2.1. Se realizaron muestreos semanales (a los 7, 14 y 21 días de almacenamiento) para evaluar la evolución de los índices de calidad durante el mismo.

Se realizaron 3 corridas experimentales independientes y sucesivas.

2.2. Condiciones ambientales en la post-cosecha temprana y durante el almacenamiento

Para el primer ensayo (primeras 24 horas en jaula), se utilizaron dos cámaras de almacenamiento: en una de ellas se trabajó a 20-22 °C y 60-62 %HR (SCT, Pharma, Argentina) y en la otra a 0-2 °C (GAZA, Argentina). En este último caso, para lograr la condición de HR óptima, la jaula fue envuelta en un film de polietileno (con permeabilidades de 600 cm³/m²/d al O₂, 4000 cm³/m²/d al CO₂, y 4 g/m²/d al vapor de agua). Las concentraciones de oxígeno y de dióxido de carbono dentro de la jaula estuvieron en el rango 18.5-20.5 % y 0.1-0.5 %, respectivamente, ya que el material de empaque no es una barrera a estos gases. El material fue cerrado y la jaula fue colocada en la cámara. En estas condiciones, las jaulas permanecieron 24 horas.

Para el segundo ensayo (almacenamiento en condiciones óptimas), una vez retiradas las plantas de las jaulas, se almacenaron en la cámara de frío (GAZA, Argentina) a 0-2 °C, siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo IV, inciso 2.1.

2.3. Registro de las condiciones de temperatura y humedad relativa dentro de la jaula

Durante el primer ensayo (24 horas de exposición de plantas empacadas en jaula a condiciones ambientales particulares) se registró la temperatura y la humedad relativa en diferentes posiciones dentro de la jaula para tener registro del ambiente generado en las proximidades de las plantas. Para ello se utilizaron dos sistemas de adquisición de datos Testostor 175-H1 (TESTO, Argentina) y EASYLOG (Lasca Electronics, Argentina).

2.4. Pérdida de peso

La pérdida de peso (WL) fue determinada en todas las plantas una vez transcurridas las 24 horas, utilizando el procedimiento detallado en el Capítulo IV, inciso 2.2. La pérdida de peso se expresó como relación porcentual entre el peso perdido y el peso fresco inicial.

Adicionalmente se cuantificó la pérdida de peso considerando el descarte producido al retirar hojas de la planta que presenten deterioro excesivo (WLD), utilizando el procedimiento detallado en el Capítulo VI, inciso 2.3. La pérdida de peso con descartes se expresó como la relación porcentual entre la pérdida de peso de la planta luego de retirar las hojas deterioradas y el peso fresco inicial.

2.5. Índices de calidad

El status de agua en la lechuga fue determinado a través de los índices: contenido de agua (WC), contenido de agua relativo (RWC), agua libre (FW), agua unida (BW) y la relación entre agua libre y agua total (FW/TW). La calidad microbiológica fue evaluada cuantificando el contenido de bacterias mesófilas. La calidad nutricional se evaluó a través del contenido de ácido ascórbico reducido. La calidad físico-química de las plantas se analizó mediante el contenido de clorofila total. La calidad organoléptica se evaluó a través del índice OVQ.

La metodología utilizada para la determinación de cada uno de los índices fue descripta detalladamente en el Capítulo I, bajo Materiales y Métodos (inciso 2.2). Sin embargo, a diferencia de los capítulos previos, los índices de calidad fueron evaluados en la planta entera, sin utilizar la sección de la planta como un factor adicional del modelo. Para ello, al momento del muestreo, se retiraron 6 hojas de la planta: 2 de la sección externa, 3 de la media y 1 de la interna para cuantificar los índices de agua. Una vez cortadas y retiradas las porciones rectangulares para la determinación de RWC, WC, FW, BW y FW/TW, el material restante de esas hojas junto con las demás hojas de la planta fueron cortadas transversalmente en porciones de aproximadamente 2 cm de espesor y a continuación se colocó el material cortado en un recipiente para realizar un mezclado de las

porciones, permitiendo que al momento de tomar la muestra para la cuantificación de los índices, las tres secciones participen de la muestra.

Adicionalmente se reprocesaron los datos obtenidos en capítulos previos para calcular los valores de los índices correspondientes a la planta entera (haciendo un promedio ponderado considerando los valores correspondientes a las tres secciones de la planta):

$$X_{planta} = 0.3X_{Externa} + 0.5X_{Media} + 0.2X_{Interna} \quad (\text{Ec. 7.1})$$

donde X es el índice de calidad bajo consideración: RWC, WC, FW, BW, FW/TW, AA, C o OVQ.

De esta manera fue posible la comparación de los resultados del presente capítulo con los informados en los capítulos previos.

2.6. Análisis estadístico

Los resultados informados corresponden a los valores LSMEAN junto con sus desviaciones estándar (Kuehl, 2001). Los datos fueron analizados usando el software estadístico SAS, versión 9.0 de software (SAS Institute, 2002). Se aplicaron diferentes modelos estadísticos en función de las características del experimento:

- Para el **primer objetivo** (impacto de las condiciones ambientales sobre la calidad de la planta empacada en jaulas durante 24 horas) se utilizó el PROC GLM para llevar a cabo el ANOVA con un nivel de probabilidad fijado en $p < 0.05$. Para todos los índices evaluados, los factores empleados como fuentes de variación fueron: CONDICIÓN AMBIENTAL (A o E), UBICACIÓN DE LA PLANTA EN LA JAULA (estrato superior, medio o inferior) e interacción CONDICION*UBICACIÓN.
- Para el **segundo objetivo** (impacto de las condiciones ambientales a las que se expuso la jaula durante las primeras 24 horas post-cosecha, sobre la extensión de la vida útil de las plantas en un almacenamiento en condiciones óptimas) se utilizó el procedimiento PROC GLM para llevar a cabo el ANOVA con un nivel de probabilidad fijado en $p < 0.05$. Para todos los índices, los factores empleados como fuentes de la variación fueron: TIEMPO (0, 7, 14, 21 días), CONDICION AMBIENTAL (A o E) e interacción CONDICION*TIEMPO.

En todos los casos, las diferencias entre las ubicaciones dentro de la jaula, condiciones ambientales y tiempos, según corresponda, fueron determinadas por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). En aquellos casos en los que se detectaron diferencias con mayor nivel de significancia, el valor p fue informado junto con los resultados. PROC UNIVARIATE fue aplicado para validar las suposiciones del ANOVA (Kuehl, 2001).

3. RESULTADOS

3.1. Impacto de la condición ambiental en la post-cosecha temprana

3.1.1 Pérdida de peso

Para las dos situaciones ensayadas, el ANOVA aplicado tanto a la variable WL como a la variable WLD, indicó que hubo interacción significativa CONDICIÓN*UBICACIÓN. Este resultado implica que se detectaron diferencias en ambas variables tanto en función de la ubicación de la planta dentro de la jaula como de la condición ambiental a la que se expuso la misma. Y que las relaciones de pérdida de peso entre plantas de diferentes estratos fueron diferentes para ambas condiciones.

La **Tabla 7.1** presenta los resultados de WL y WLD encontrados en cada caso.

	Condición A	Condición E
<i>Pérdida de peso (WL, %)</i>		
Superior	2.43 ± 0.41 ^a	7.09 ± 0.73 ^a
Media	2.11 ± 0.58 ^{ab}	4.37 ± 0.98 ^b
Inferior	1.47 ± 0.29 ^b	6.83 ± 0.67 ^a
<i>Pérdida de peso con descartes (WLD, %)</i>		
Superior	9.20 ± 3.57 ^b	36.35 ± 1.87 ^a
Media	7.56 ± 4.19 ^b	32.28 ± 3.65 ^b
Inferior	12.23 ± 3.88 ^a	35.45 ± 3.14 ^a

Tabla 7.1. Pérdida de peso (WL) y pérdida de peso con descarte (WLD) detectada a las 24 horas de exposición de lechuga mantecosa empacada en jaulas a diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa.

^{ab}: Comparaciones dentro de la misma columna y variable. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los valores informados.

En general todas las plantas presentaron significativas pérdidas de peso y pérdidas por descartes, cualquiera haya sido su ubicación en la jaula y cualquiera haya sido la condición a la que se expuso la jaula. Para ambas variables (WL y WLD), los valores encontrados resultaron mayores en el caso de las plantas de las jaulas expuestas a la Condición E. Este resultado se atribuye a que la DPV (fuerza impulsora para la evaporación de agua) en cada una de las condiciones ensayadas fue significativamente diferente en función de la combinación de T y HR utilizada, siendo la utilizada en la condición E 73 veces mayor (971.1 Pa) a la de la condición A (13.2 Pa).

Las plantas de las jaulas expuestas a condiciones de 0-2 °C y 97-99% HR (Condición A), presentaron significativas pérdidas de peso, a pesar de estar expuestas a un ambiente con una DPV muy baja. Estos resultados difieren del comportamiento de las plantas expuestas individualmente a condiciones óptimas, que no presentaron ningún descenso de peso durante 24 horas de exposición a estas condiciones (Capítulo VI, inciso 3.1). Esta diferencia se atribuye a que, a pesar de que en

ambos casos se trabajó con idénticas condiciones ambientales, la temperatura y humedad relativa en el entorno cercano de las plantas empacadas en jaulas no fue exactamente la generada en la cámara. La **Figura 7.1** presenta la evolución de las variables ambientales en diferentes estratos de las jaulas durante las 24 horas del ensayo.

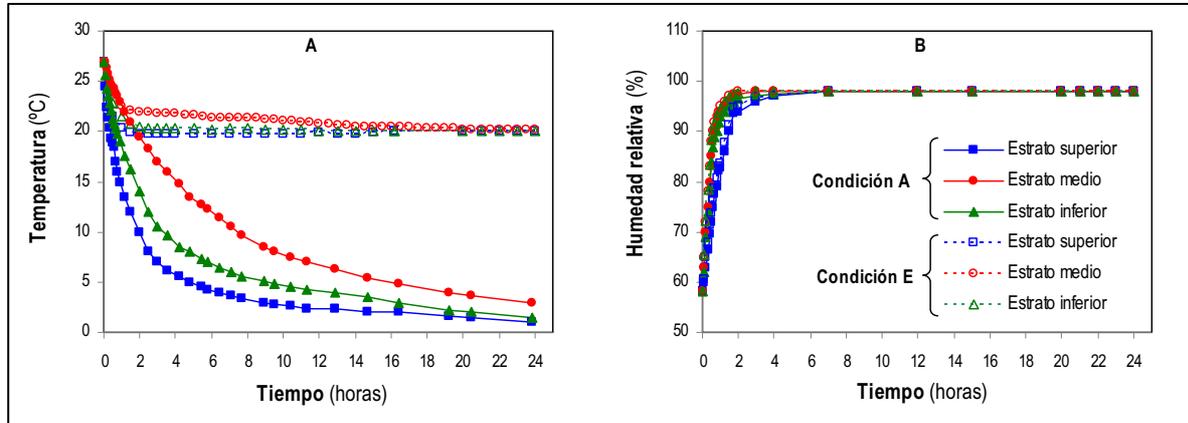


Figura 7.1. Evolución de la temperatura (A) y humedad relativa (B) dentro de jaulas de lechuga expuestas a diferentes condiciones ambientales: 0-2 °C y 97-99 %HR (líneas enteras) o 20-22 °C y 60-62 %HR (líneas punteadas).

Es evidente que dentro de la jaula se desarrollan perfiles de temperatura en los diferentes estratos, siendo las plantas del estrato superior aquellas que alcanzan más rápidamente la temperatura de cámara y las plantas del estrato medio aquellas que presentan mayor retraso en alcanzar tal temperatura. Las plantas del estrato inferior presentaron una situación intermedia. Las plantas del estrato superior alcanzaron una temperatura 2 °C a las 15 horas, mientras que las plantas del estrato medio alcanzaron esta temperatura a las 20 horas. Estos retrasos en alcanzar la temperatura de cámara (comparando con la situación de plantas individuales) pueden ser la causa de la pérdida de peso detectada al colocar la jaula en condiciones óptimas.

Por otra parte, el uso de la jaula como sistema de traslado desde el campo, provoca daño mecánico en las plantas. La cantidad de tejido dañado depende del tamaño de la planta y del cuidado que tiene el huertero en el momento del armado de la jaula. En la práctica comercial utilizada en el cinturón hortícola de Mar del Plata, las jaulas de lechuga se preparan colocando 21 plantas (dos estratos de 6 plantas y uno de 9). Si las plantas son más grandes, el huertero deberá presionarlas en mayor medida para lograr tal empaque, de modo que el daño mecánico provocado es mayor. Mondino *et al.* (2007), en un estudio realizado sobre pérdidas post-cosecha de lechuga en el cinturón hortícola de la ciudad de Rosario, informaron que el 100 % de los productores utiliza jaulas de madera con una estructura que resulta agresiva para el producto (bordes puntiagudos) y con un armado de la jaula caracterizado por el “copete” (Anexo II, **Figura A.8**), es decir que las

plantas del último estrato colocado (estrato superior) sobrepasan el límite físico de la jaula, de modo que al apilar una jaula sobre otra, se pueden generar mayores daños en las plantas (Anexo II, **Figura A.9**). El tipo de daño físico se caracteriza principalmente por la rotura de hojas y en algunos casos desprendimiento de hojas. Esto genera un aumento en las pérdidas de peso debido al descarte que se produce al momento de desarmar la jaula y retirar las hojas dañadas. En la jaula expuesta a las condiciones óptimas las pérdidas de peso incluyendo los descartes se incrementan aproximadamente entre 4 y 8 veces, dependiendo de la ubicación de la planta en la jaula. Las plantas que presentaron mayores pérdidas de peso con descartes (WLD) fueron las del estrato inferior. Esto puede atribuirse al peso de las demás plantas así como a la presión ejercida por el huertero en el momento del armado de la jaula. Por lo tanto, la exposición a condiciones ambientales óptimas de lechuga empacada en jaulas genera pérdida de peso y descartes mayores que en el caso de las plantas expuestas individualmente a estas condiciones. Las mayores pérdidas de peso se detectaron en las plantas del estrato superior y las mayores pérdidas de peso con descarte se detectaron en el estrato inferior.

Las plantas de las jaulas expuestas a condiciones de 20-22 °C y 60-62 %HR (Condición E), presentaron mayores pérdidas de peso que aquellas expuestas a condiciones óptimas. También en este caso se detectaron diferencias significativas entre los estratos de la jaula. Así, las plantas ubicadas en el estrato medio fueron las que tuvieron menores pérdidas de peso y menores descartes. Considerando los descartes, las pérdidas de peso se incrementan entre 5 y 7 veces, y esto se atribuye, como en el caso anterior, a roturas de hojas como consecuencia de la manipulación del huertero durante el armado de la jaula. Por otra parte, las diferencias detectadas en la pérdida de peso entre plantas de distintos estratos pueden estar relacionadas con la atmósfera que se genera dentro de la jaula (**Figura 7.1(B)**). A pesar de que el ambiente que rodea a la jaula se caracteriza por una elevada DPV, la proximidad de las plantas genera un aumento en la HR del ambiente. De este modo, la jaula y, especialmente, la capa superior de plantas de lechuga constituyen una barrera a la baja humedad del ambiente exterior a la jaula. La respiración de las plantas genera humedad que queda retenida en ese microambiente. En este sentido, las plantas ubicadas en el estrato medio son las que mejor preservaron su peso. Las plantas del estrato superior tuvieron una pérdida de peso un 62 % mayor que las del medio. Al considerar los descartes, los valores encontrados en cada estrato de la jaula se equiparan en gran medida siendo las pérdidas detectadas en el estrato superior 13 % mayores a las del medio. Las mayores pérdidas de peso y pérdidas de peso con descarte se detectaron en las plantas del estrato superior. La comparación de las pérdidas de peso obtenidas para plantas individuales (Capítulo VI, inciso 3.1) y

en jaulas, expuestas en ambos casos a 20-22 °C y 60-62 %HR, demostró que los valores encontrados en las plantas empacadas en jaulas son significativamente menores y esto se atribuye nuevamente al efecto protector del empaque que genera una atmósfera saturada dentro de la jaula. Al considerar los descartes, mientras que en las plantas empacadas en jaulas las pérdidas alcanzan un promedio de 34.69 % y son debidas principalmente a deterioro por hojas rotas y deshidratación incipiente sobre todo en las plantas del estrato superior, las pérdidas de plantas expuestas individualmente al ambiente fue de 38.8 % y fueron debidas principalmente a marchitamientos por deshidratación.

3.1.2. Calidad fisiológica: Índices de status de agua

La **Figura 7.2** muestra los cambios producidos en el RWC en las plantas de lechuga empacadas en jaulas expuestas durante 24 horas a diferentes condiciones ambientales (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**) (datos obtenidos a utilizando la *Ec. (7.1)* aplicada sobre los resultados del Capítulo VI, inciso 3.1). En general se observaron descensos en el RWC en plantas provenientes de cualquiera de las condiciones ensayadas en el presente capítulo.

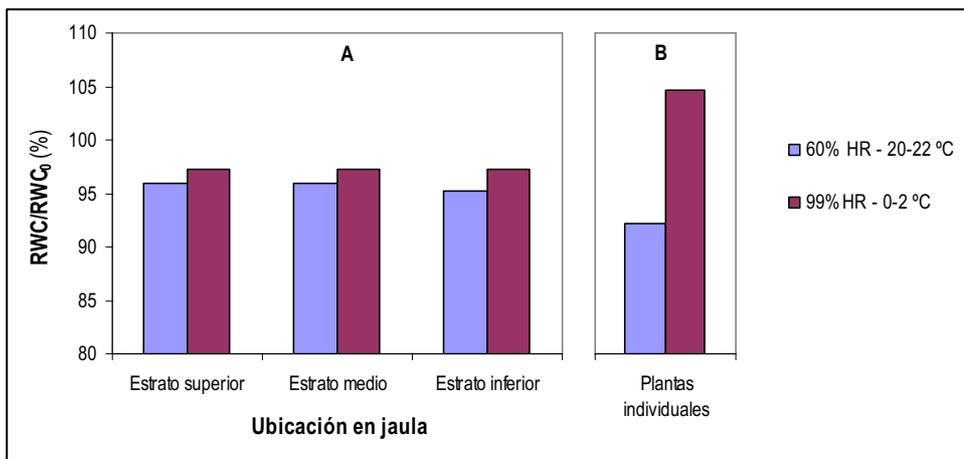


Figura 7.2. Cambio en el RWC en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El ANOVA aplicado a estos datos indicó que no hubo interacción significativa UBICACIÓN*CONDICIÓN y que el factor UBICACIÓN tampoco resultó significativo. Por lo tanto, la ubicación de la planta dentro de la jaula no introduce diferencias en el comportamiento de este índice a las 24 horas luego de la cosecha. Por su parte, el factor CONDICIÓN resultó significativo y esto se manifestó principalmente en el valor de descenso de RWC detectado en cada caso: mientras que las plantas de jaulas expuestas a condiciones óptimas tuvieron una disminución en el RWC de 2.75

% respecto del valor detectado en el momento de la cosecha, las plantas de jaulas expuestas a la condición E presentaron una disminución de 4.35 %.

Es interesante observar además que el RWC de las plantas empacadas en las jaulas tuvo un comportamiento diferente respecto del detectado en plantas expuestas individualmente a las mismas condiciones (**Figura 7.2(B)**). Para las plantas expuestas individualmente a las condiciones óptimas (condición A) no se detectaron cambios significativos en el RWC a las 24 horas, mientras que en las plantas de las jaulas expuestas a tales condiciones se registró un leve descenso en tal índice. En el caso de condiciones sub-óptimas (condición E), las plantas expuestas individualmente presentaron mayores descensos en el RWC (7.88 %) que las plantas empacadas en jaulas. Estas diferencias significativas en el caso de los ensayos bajo la condición E, podrían atribuirse al desarrollo de una atmósfera más saturada dentro de la jaula (**Figura 7.1(B)**) respecto de la atmósfera en el exterior de la misma, dada por las condiciones de temperatura y humedad relativa impuestas en el ensayo (20-22 °C y 60-62 %HR). De esta manera, es probable que el desarrollo de una atmósfera saturada entre las plantas en el interior de la jaula ejerza un efecto protector a causa del sistema de empaque en jaulas.

La **Figura 7.3** presenta los cambios en el WC en las plantas de lechuga empacadas en jaulas y expuestas durante 24 horas a las condiciones ensayadas (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**).

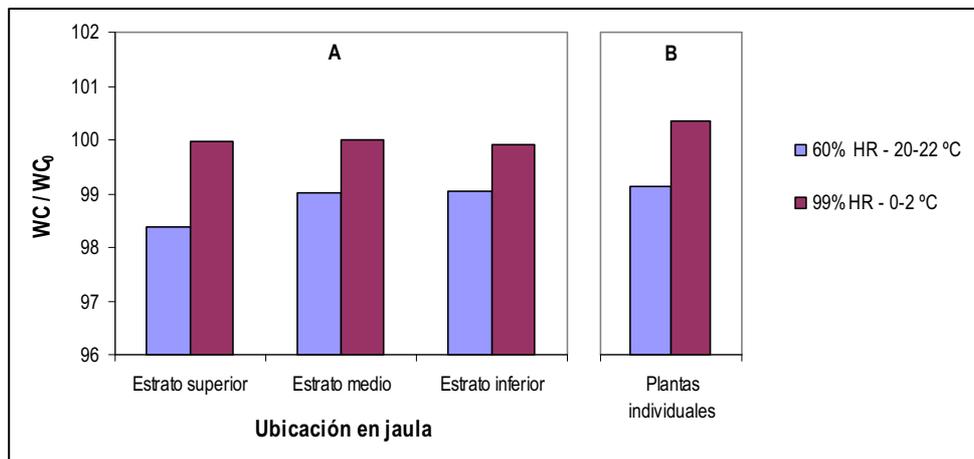


Figura 7.3. Cambio en el WC en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El ANOVA aplicado a los datos de WC mostró una interacción significativa entre los factores UBICACIÓN y CONDICIÓN: mientras que en las jaulas expuestas a condiciones óptimas, no se detectaron cambios significativos en el WC de las plantas en ninguno de los estratos, en las plantas

provenientes de jaulas expuestas a la condición E se detectaron disminuciones en el WC. Estas disminuciones resultaron mayores en las plantas del estrato superior en comparación con las de los estratos medio e inferior de la jaula, sin diferencias significativas entre estas últimas.

El comportamiento del índice WC en las plantas de lechuga empacadas en jaulas no difirió respecto del detectado en las plantas individuales (**Figura 7.3(B)**), con excepción de las plantas ubicadas en el estrato superior de las jaulas expuestas a la condición E, que sufrieron un descenso mayor en el WC respecto de las demás plantas. Esto se atribuye a la mayor exposición de las plantas ubicadas en este estrato a la condición ambiental desfavorable y al daño mecánico sufrido por el tejido debido al empaque ajustado dentro de la jaula.

La **Figura 7.4** muestra los cambios producidos en el FW en lechugas empacadas en jaulas y expuestas durante 24 horas a diferentes condiciones ambientales (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**).

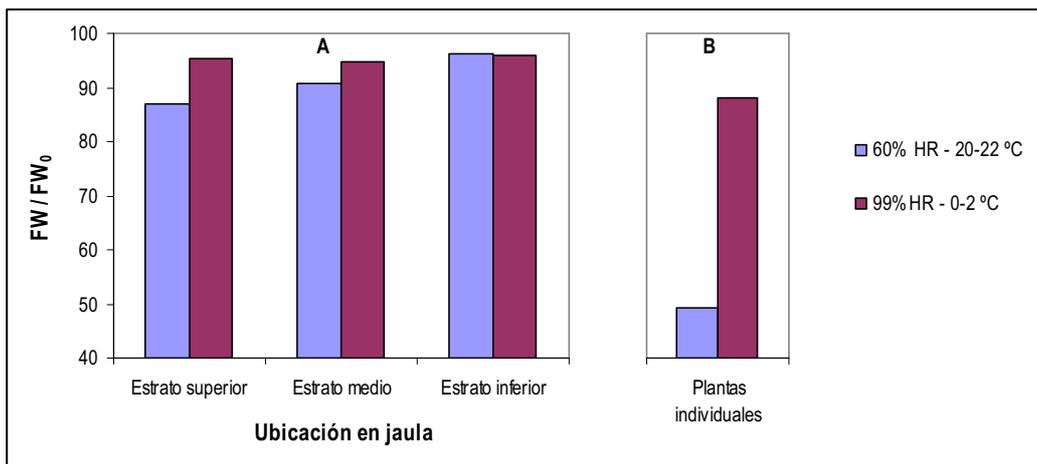


Figura 7.4. Cambio en el FW en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El análisis de varianza indicó una interacción significativa entre los factores del análisis. En todos los casos se detectó un descenso significativo en el FW a las 24 horas de exposición a las condiciones ensayadas. Sin embargo, el comportamiento del índice FW en función del estrato en el que está ubicada la planta dependió de la condición de almacenamiento: mientras que el descenso en el FW en plantas de jaulas expuestas a condiciones óptimas no dependió de la ubicación de la planta en la jaula (descenso del 4.58 %), para las plantas de las jaulas expuestas a las condición E, el descenso registrado fue mayor en las plantas del estrato superior (12.92 %), seguido por el estrato medio (9.26 %) y finalmente por el estrato inferior (3.68 %).

Es interesante observar además que las plantas empacadas en las jaulas presentaron una mayor retención del contenido de agua libre en comparación con las plantas expuestas individualmente a las mismas condiciones (**Figura 7.4(B)**). Este efecto es especialmente notable en el caso de exponer la jaula a condiciones abusivas. De esta manera, mientras que las plantas expuestas individualmente a la condición E, presentaron un descenso del 50.8 % en el contenido de agua libre, las plantas empacadas en jaulas expuestas a las mismas condiciones sufrieron un descenso del 8.62 % promediando las plantas de los tres estratos de la jaula. Para el caso de plantas expuestas individualmente o en jaulas a condiciones óptimas, las diferencias en los descensos registrados de FW no fueron tan marcadas, registrándose descensos de 11.79 y 4.58 %, respectivamente. Esto se atribuye, como en los índices ya analizados al efecto protector ejercido por el sistema de empaque en jaulas, que permite el desarrollo de una atmósfera saturada entre las plantas en el interior de la jaula (**Figura 7.1(B)**).

La **Figura 7.5** presenta los cambios en los valores de BW en las plantas de lechuga a las 24 horas de exposición a las condiciones ensayadas (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**).

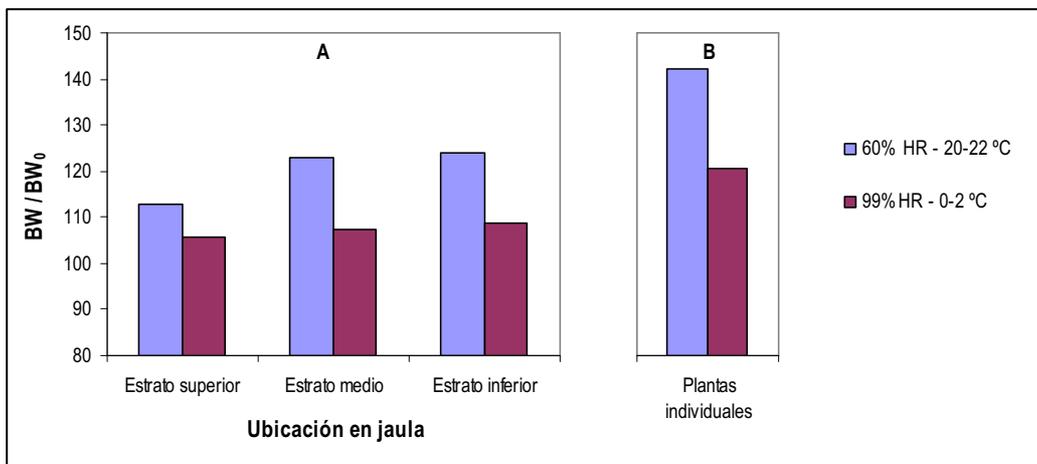


Figura 7.5. Cambio en el BW en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Nuevamente en términos generales se puede observar que en todas las situaciones evaluadas se detectó un incremento en el BW que fue mayor en las plantas de las jaulas expuestas a la condición E. El ANOVA aplicado a los resultados también indicó una interacción significativa entre los factores UBICACIÓN y CONDICION: mientras que no hubo diferencias significativas en el aumento registrado en el BW (7.36 %) para plantas de lechuga de diferentes estratos de la jaula expuesta a condiciones óptimas, sí hubo diferencias entre plantas dentro de la jaula expuesta a la

condición E, registrándose los mayores incrementos (23.4 %, en promedio) en las plantas de los estratos medio e inferior sin diferencias significativas entre ellas, respecto de las plantas del estrato superior con un aumento en el BW del 12.78 %.

Comparando con el comportamiento registrado en las plantas expuestas individualmente a las mismas condiciones que las ensayadas en el presente capítulo (**Figura 7.5(B)**), se puede observar que en aquel caso, se registraron mayores incrementos en el contenido de agua unida en ambas condiciones. De esta manera, las plantas expuestas individualmente a condiciones como la E o como la A presentaron incrementos del 42.3 y 20.7 %, respectivamente. El hecho de haber detectado incrementos más moderados en el caso de las plantas empacadas en jaulas se atribuye en el caso de la condición E, al efecto protector ejercido por el sistema de empaque que permite el desarrollo de una atmósfera saturada entre las plantas en el interior de la jaula (**Figura 7.1(B)**) y en el caso de la condición A, al desarrollo del perfil térmico dentro de la jaula que provoca una disminución gradual de la temperatura evitando la reducción rápida de la misma (shock térmico) que podría incrementar la retención de agua del tejido en el caso de las plantas expuestas individualmente a la condición A.

La **Figura 7.6** presenta los cambios producidos en el índice FW/TW en plantas de lechuga empacadas en jaulas y expuestas a diferentes condiciones ambientales durante 24 horas (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**).

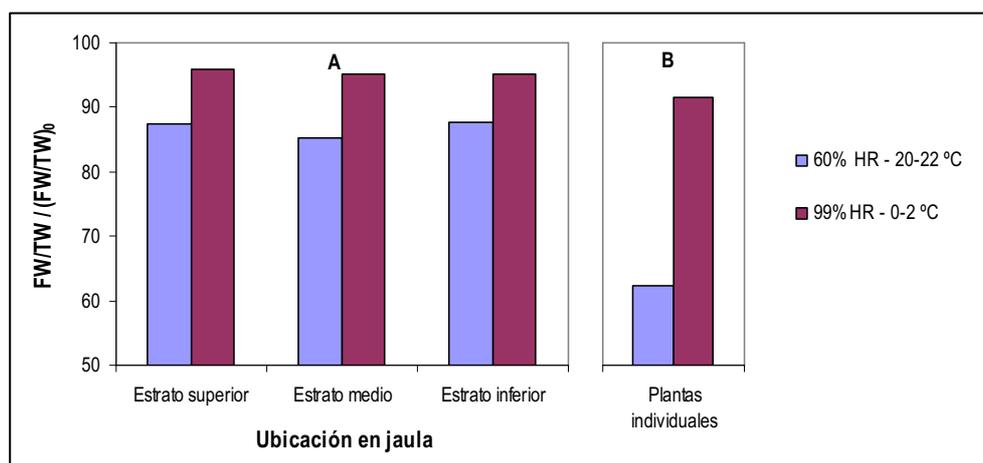


Figura 7.6. Cambio en el FW/TW en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

En términos generales, se detectaron descensos significativos en los valores de FW/TW en todas las plantas, independientemente de la ubicación en la jaula y de las condiciones de exposición a las que se sometió la jaula durante las 24 horas luego de la cosecha. El análisis estadístico para

este índice indicó ausencia de interacción entre los factores del análisis. Por su parte, el análisis de los factores individuales, indicó sólo al factor CONDICIÓN como significativo: las plantas de las jaulas expuestas a condiciones óptimas sufrieron una disminución del 4.61 % en el FW/TW, mientras que las plantas de las jaulas expuestas a la condición E presentaron un descenso del 13.26 %. En ambos casos no se detectaron diferencias significativas entre las plantas de diferentes estratos dentro de la misma jaula (factor UBICACIÓN no significativo).

Comparando con el comportamiento registrado en plantas expuestas de manera individual a las mismas condiciones (**Figura 7.6(B)**), nuevamente se observaron descensos menos pronunciados en las plantas empacadas en jaulas, siendo este efecto más importante en el caso de la exposición a condiciones sub-óptimas: las plantas expuestas de manera individual a estas condiciones presentaron una caída en el FW/TW del 38.8 %.

3.1.3. Calidad microbiológica: Recuentos de bacterias mesófilas totales

La **Figura 7.7** presenta la evolución de los recuentos de bacteria mesófilas totales en plantas de lechuga empacadas en jaula expuestas a diferentes condiciones ambientales (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**).

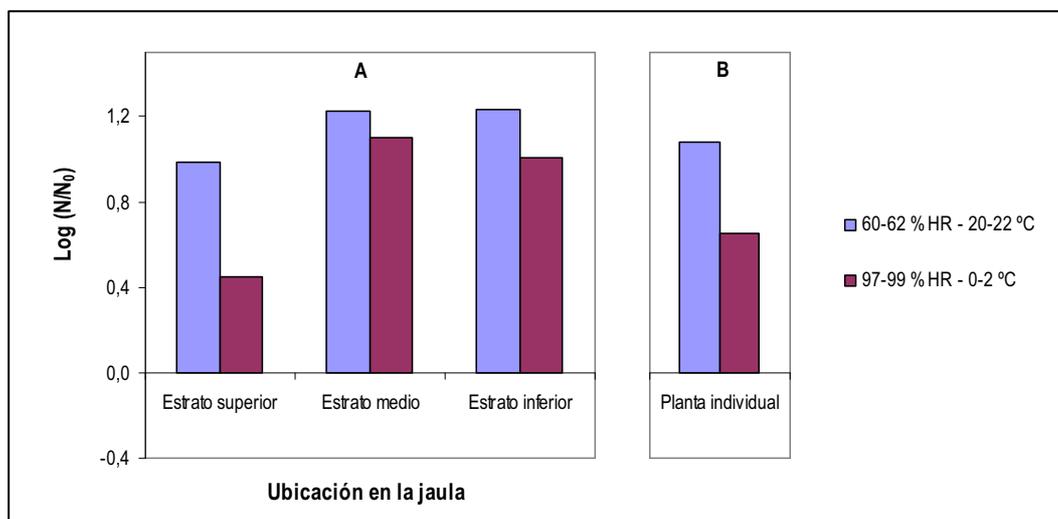


Figura 7.7. Cambio en el recuento de bacterias mesófilas en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El ANOVA para estos datos presentó una significativa interacción entre los factores del análisis: los recuentos de bacterias mesófilas tuvieron comportamientos particulares en función tanto de la CONDICIÓN como de la UBICACIÓN de la planta dentro de la jaula. Así, para las plantas de las jaulas de lechuga expuestas a condiciones óptimas, se registró un incremento de

0.45 Log en los recuentos de las plantas ubicadas en el estrato superior, mientras que para las plantas de los estratos medio e inferior los incrementos registrados fueron de 1.10 y 1.05 Log, sin diferencias significativas entre ellos. Estos resultados pueden atribuirse al efecto del perfil de temperatura dentro de la jaula de lechuga: mientras las plantas del estrato superior presentaron un descenso más rápido de temperatura: en 5 horas la temperatura entre las plantas del estrato superior fue de 5 °C, las plantas del estrato medio alcanzaron esa temperatura a las 15 horas de permanencia en esas condiciones (**Figura 7.1(A)**). Por otra parte, el daño mecánico producido en las plantas, genera en la superficie de las hojas dañadas mayor disponibilidad de nutrientes para los microorganismos generando un ambiente más propicio para el desarrollo de los mismos. Por su parte, para las plantas de las jaulas expuestas a condiciones sub-óptimas también se registraron incrementos en todos los estratos de la jaula, siendo mayores los registrados en los estratos medio e inferior (1.24 Log), sin diferencias significativas entre ellos, mientras que el aumento en los recuentos de bacterias mesófilas para las plantas del estrato superior fue de 0.98 Log.

Comparando con las plantas expuestas individualmente a las mismas condiciones que las ensayadas en el presente capítulo, en general se encontraron mayores incrementos en los recuentos en las plantas empacadas en jaulas que en el caso de las plantas expuestas individualmente a las mismas condiciones. Para el caso de la jaula expuesta a las condiciones óptimas, el perfil de temperatura generado dentro de la jaula (**Figura 7.1(A)**) generó mejores condiciones para el crecimiento de bacterias mesófilas que en el caso de las plantas expuestas individualmente a las condiciones óptimas. Para la jaula expuesta a condiciones sub-óptimas, el ambiente interno de la jaula, con mayor humedad relativa que en el exterior (**Figura 7.1(B)**) pudo ser un ambiente más propicio (alta temperatura y alta humedad relativa) para el desarrollo de microorganismos mesófilos que en el caso de las plantas expuestas individualmente a las condiciones sub-óptimas.

Un factor adicional a tener en cuenta para este indicador de calidad es la falta de higiene del material de empaque utilizado. Tal como se ha descrito, las jaulas utilizadas por la gran mayoría de los productores hortícolas están constituidas de madera y son reutilizadas en todo el circuito de comercialización, sin aplicarse procedimientos de higiene particulares. Esto podría introducir contaminación en las plantas que entran en contacto con la jaula y de esta manera, los recuentos microbiológicos se incrementarían.

3.1.4. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

La **Figura 7.8** presenta los cambios en el contenido de ácido ascórbico (AA) en plantas de lechuga de diferentes estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones ensayadas **(A)**, junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones **(B)**.

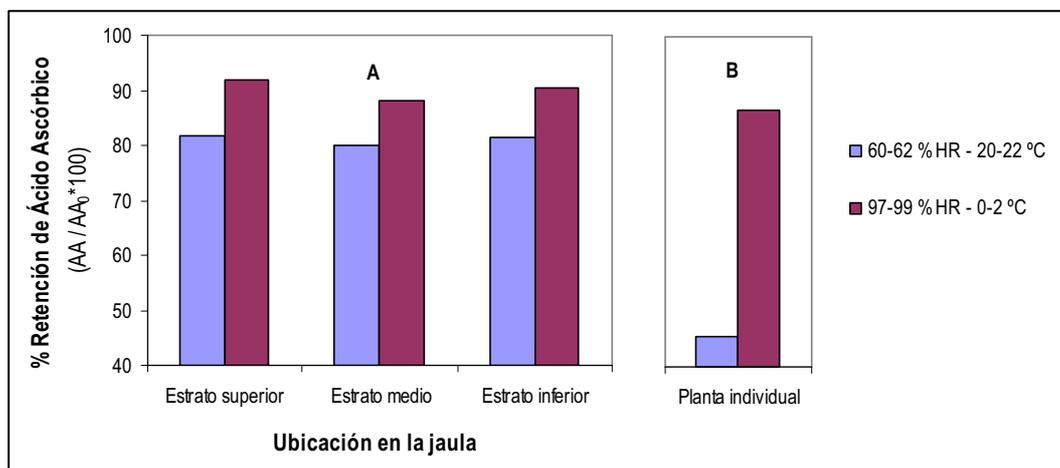


Figura 7.8. Cambio en el contenido de ácido ascórbico en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

En términos generales, se observaron disminuciones en el contenido de ácido ascórbico en todas las situaciones analizadas. El ANOVA aplicado a los resultados obtenidos en estos ensayos no mostró interacción significativa, ni factor UBICACIÓN significativa. Sin embargo, el factor CONDICIÓN sí resultó significativo, indicando que se detectaron diferencias en la reducción de AA en función de la condición ambiental a la que se expuso la jaula de lechuga. Así, para las plantas de las jaulas expuestas a condiciones óptimas, se observó una disminución promedio de 9.93 %, mientras que para las plantas de las jaulas expuestas a las condiciones del ensayo E la disminución promedio detectada fue del 18.99 %. En ambos casos, no se detectaron diferencias significativas entre las plantas de diferentes estratos dentro de la misma jaula.

Comparando estos resultados con las plantas expuestas de manera individual a las mismas condiciones, el comportamiento del índice AA en las plantas empacadas en jaulas fue más satisfactorio ya que presentaron menores pérdidas de este indicador de calidad nutricional. Este efecto es más notorio cuando la condición a la que se exponen las plantas es sub-óptima. En este caso, mientras las plantas individuales sufrieron una reducción de AA del 54.52 %, las plantas empacadas en jaulas expuestas a tal condición presentaron una reducción de AA de casi la tercera parte respecto de ese valor. En estos casos, a pesar de que las condiciones ambientales a las que se expuso el sistema bajo estudio (plantas individuales o jaulas) eran las mismas (20-22 °C, 60-62

% HR), dentro de la jaula se genera una atmósfera diferente con mayor humedad relativa (**Figura 7.1(B)**) que permite una mayor retención de AA. En el Capítulo VI, al analizar el efecto de la humedad relativa sobre plantas individuales también se encontró que la HR constituye un factor que impacta significativamente la retención de AA: cuando el ambiente al que se exponen las plantas presenta elevadas DPV, las pérdidas nutricionales se incrementan, posiblemente por efecto de la pérdida de agua que está sucediendo en el tejido. Por otra parte, las plantas expuestas a las condiciones óptimas de manera individual tuvieron una pérdida de AA del 13.29 %, valor que se reduce a las tres cuartas partes en el caso de estar las plantas empacadas en jaulas que presentaron una mayor retención de AA. Es probable que los movimientos de agua (intercambio entre agua unida y agua libre), que fueron mayores en las plantas expuestas individualmente a las condiciones óptimas que en las plantas empacadas en jaulas expuestas a estas condiciones, tengan incidencia en la retención de ácido ascórbico, que al ser una vitamina hidrosoluble (Shin *et al.*, 2007) se vea afectada en mayor medida en las plantas individuales.

3.1.5. Calidad fisicoquímica: Contenido de clorofila

La **Figura 7.9** presenta las variaciones de clorofila en las plantas de lechuga empacadas en jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones ensayadas (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**).

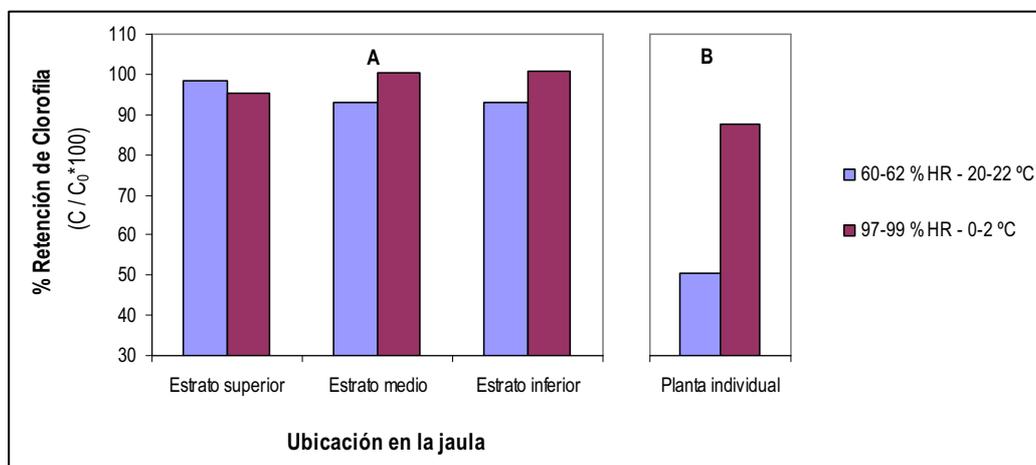


Figura 7.9. Cambio en el contenido de clorofila en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El análisis estadístico de los resultados indicó una interacción significativa entre los factores del análisis. Este hecho implica que el comportamiento del pigmento clorofila en los distintos estratos de la jaula fue diferente dependiendo de las condiciones a las que se expuso la misma. De este modo, cuando la jaula se expuso a las condiciones óptimas, sólo observó una leve disminución (4.71 %) en el contenido de clorofila en las plantas ubicadas en el estrato superior de la jaula,

mientras que en las plantas de los estratos medio e inferior no se detectaron cambios en la concentración del pigmento. Por su parte, cuando las condiciones a las que se expuso la jaula fueron las sub-óptimas, se detectaron descensos en la concentración de clorofila en las plantas de los estratos medio e inferior, sin diferencias significativas entre ellos (con un valor promedio de disminución de clorofila del 6.85 %).

Para ambas condiciones ensayadas, se observó una mayor retención del pigmento en las plantas empacadas en jaulas, respecto de las plantas expuestas de manera individual a las mismas condiciones (**Figura 7.9(B)**). Nuevamente el efecto es más significativo cuando las condiciones son las sub-óptimas, posiblemente por efecto de la alta humedad relativa a la que efectivamente están expuestas las plantas dentro de la jaula. La pérdida de clorofila en plantas expuestas individualmente durante 24 horas a las condiciones sub-óptimas alcanzó un 50 %, mientras que las plantas empacadas en jaulas, la retención de clorofila que mayor al 90 % en todos los estratos de la jaula. Para las plantas expuestas individualmente a las condiciones óptimas tuvieron una retención del pigmento del 87.5 %, valor que se incrementó hasta casi el 100 % en las plantas empacadas en jaulas. Nuevamente, es probable que los movimientos de agua (mayores en plantas individuales que en jaulas) estén relacionados con las menores pérdidas del pigmento para las plantas empacadas en jaulas.

3.1.6. Calidad organoléptica

La **Figura 7.10** presenta los cambios en la calidad visual general (OVQ) en las plantas de lechuga en diferentes estratos de jaulas expuestas a las diferentes condiciones ensayadas (**A**), junto con los valores correspondientes a la planta entera expuesta individualmente a las mismas condiciones (**B**).

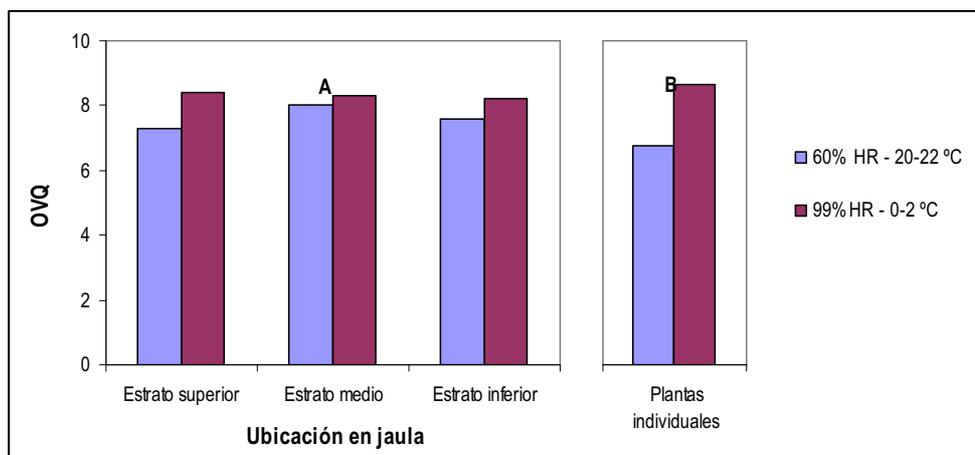


Figura 7.10. Cambio en el OVQ en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El análisis de los datos de OVQ indicó que hubo una interacción significativa entre los factores UBICACIÓN y CONDICIÓN. De este modo, el comportamiento del OVQ en plantas de diferentes estratos fue particular en cada condición ensayada. Así, cuando las condiciones fueron las óptimas recomendadas para el manejo de lechuga, los miembros del panel sensorial detectaron una disminución significativa en el OVQ de 0.7 puntos sin diferencias significativas entre las plantas de diferentes estratos dentro de la jaula. En cambio, para la jaula de lechuga expuesta a las condiciones sub-óptimas, se detectaron diferencias en el OVQ en función del estrato en el que estaba ubicada la planta. Así, las mayores reducciones en este indicador estuvieron asociadas a las plantas del estrato superior de la jaula (1.7), seguidas por las plantas del estrato inferior (1.4). Las plantas ubicadas en el estrato medio de la jaula presentaron las menores disminuciones en el OVQ (1.0). Estos resultados podrían estar asociados a dos factores. Uno de ellos es el daño mecánico que se genera en las plantas a causa del empaque en la jaula. Este daño es mayor en las plantas del estrato inferior (por la compresión ejercida por el peso de las plantas de los estratos superiores y la compresión dada por el empaque ajustado de las seis plantas ubicadas en este estrato) y del estrato superior (por la compresión dada por el empaque ajustado de las nueve plantas que se ubican en este estrato). El otro factor a considerar es la humedad relativa a la que están expuestas las plantas. Sólo las plantas del estrato superior están expuestas a la atmósfera insaturada durante más tiempo (**Figura 7.1(B)**). Las plantas de los estratos medio e inferior están expuestas a un ambiente, generado dentro de la jaula, más saturado. Estos dos factores combinados pueden hacer que las plantas del estrato superior sean las que presentan las mayores disminuciones en el OVQ, seguidas por las de los estratos inferior y medio.

Comparando los cambios producidos en el OVQ a las 24 horas entre plantas empacadas en jaulas y plantas expuestas de manera individual (**Figura 7.10(B)**), se encontró que en el caso de la exposición a condiciones óptimas, las plantas empacadas en jaulas presentaron disminuciones levemente superiores en el OVQ que en el caso de plantas individuales. Esto se atribuye al daño mecánico que se genera en las plantas al empacarlas dentro de la jaula así como al hecho de que la temperatura óptima no es alcanzada por todas las plantas de la jaula de manera inmediata, por el contrario, dentro de la jaula se desarrolla un perfil térmico (**Figura 7.1(A)**). De esta manera, mientras las plantas expuestas individualmente a las condiciones óptimas presentaron una disminución en el OVQ de 0.3 puntos, las plantas empacadas en jaulas tuvieron una pérdida de 0.7 puntos en el OVQ. Para el caso de la exposición a condiciones sub-óptimas, las plantas expuestas individualmente a tales condiciones presentaron una mayor disminución en el OVQ (2.2 puntos) en comparación con las detectadas en las plantas empacadas en jaulas y esto se atribuye a la atmósfera más saturada

que se genera en el interior de la jaula (**Figura 7.1(B)**) que previene la pérdida de agua en el tejido dando mayor valor en el OVQ. Además de la comparación numérica de estos resultados, es interesante destacar que tales valores se alcanzaron por diferentes causas que provocaron que los panelistas otorgaran esos puntajes. En el caso de las plantas expuestas individualmente a las condiciones sub-óptimas, la disminución en el OVQ estuvo principalmente asociada a marchitamientos en el tejido provocados por la deshidratación a causa de la alta DPV del ambiente (Capítulo VI, inciso 3.6), mientras que en el caso de las plantas empacadas en jaulas expuestas a las mismas condiciones, el descenso en el OVQ estuvo asociado las roturas del tejido debidas al empaque ajustado dentro de la jaula.

Resumiendo, el estudio del comportamiento de los índices de calidad en plantas de lechuga empacadas en jaulas luego de 24 horas de exposición a diferentes condiciones ambientales permitió determinar que este sistema de empaque genera una respuesta diferente en las plantas en comparación con el sistema modelo estudiado en el capítulo anterior (plantas individuales). Cuando las condiciones ambientales son las óptimas recomendadas para lechuga mantecosa (0-2 °C, 97-99 %HR) se desarrolla dentro de la jaula un perfil de temperatura que retarda la eliminación del calor de campo. La práctica recomendada para esta hortaliza y utilizada en muchos países europeos es la reducción de la temperatura mediante enfriamiento por vacío, para luego almacenar el producto en condiciones óptimas. El uso de las cámaras de mantenimiento para lograr la reducción de la temperatura es ineficiente comparado con procedimientos como el enfriamiento por vacío. Este retraso en la eliminación del calor de campo provoca mayores descensos en algunos índices de calidad en comparación con el modelo bajo estudio utilizado en el capítulo anterior (plantas individuales). Además del efecto de la temperatura, el empaque en jaulas provoca daños mecánicos en el tejido debido a la presión ejercida sobre las plantas al ir ubicándolas dentro de la jaula. Es decir, cuando las condiciones son las óptimas recomendadas para el manejo de esta hortaliza, el empaque en jaula genera cambios en la respuesta del tejido provocando en muchos casos (RWC, WC, OVQ) mayores pérdidas en los atributos de calidad del tejido. Cuando las condiciones ambientales son sub-óptimas como las ensayadas en el presente capítulo (20-22 °C, 60-62 %HR), la propia respiración y transpiración de las plantas dentro de la jaula permite el desarrollo de una atmósfera saturada. Este ambiente generado dentro de la jaula ejerce un efecto protector ya que en tales condiciones desfavorables, se registraron menores descensos en los atributos de calidad que los registrados en las plantas expuestas individualmente a esas condiciones.

3.2. Impacto de la condición ambiental en las primeras 24 horas sobre la vida útil

3.2.1 Pérdida de peso

El almacenamiento de plantas de lechuga en condiciones óptimas no introdujo cambios de peso significativos a medida que transcurrió el tiempo. A su vez, no se detectaron diferencias entre plantas provenientes de jaulas expuestas a diferentes condiciones durante la post-cosecha temprana (primeras 24 horas luego de la cosecha). La atmósfera cercana a la saturación (dada por el almacenamiento en condiciones óptimas) previno la pérdida de agua de las plantas, causa principal de la pérdida de peso en hortalizas de hoja (Nguyen *et al.*, 2007). Un resultado similar fue encontrado en el Capítulo IV (inciso 3.1.1) en el almacenamiento en condiciones óptimas de plantas de lechuga inmediatamente después de la cosecha, sin tiempos de demora en jaulas.

3.2.2. Calidad fisiológica: Índices de status de agua

La **Figura 7.11** muestra la evolución de los valores de RWC durante el almacenamiento en condiciones óptimas de plantas de lechuga provenientes de jaulas (previamente expuestas, en la post-cosecha temprana a condiciones óptimas o sub-óptimas). La diferencia en los valores iniciales del RWC para cada situación se debe al cambio producido en el índice durante ese período inicial post-cosecha (inciso 3.1.2).

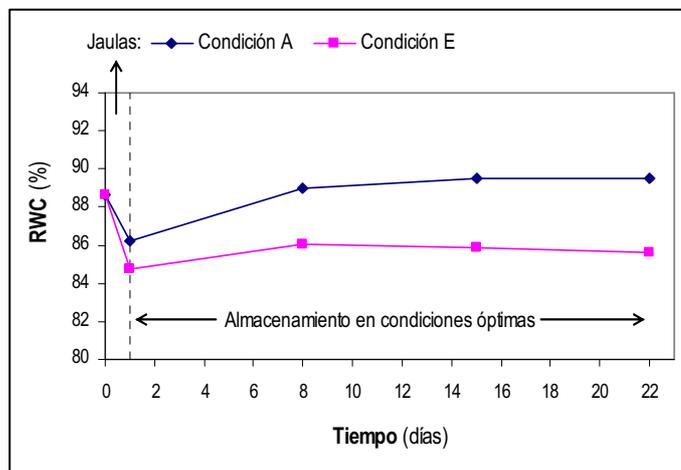


Figura 7.11. Evolución de RWC en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento refrigerado luego de 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El análisis estadístico indicó una interacción significativa entre los factores TIEMPO y CONDICIÓN: mientras las plantas provenientes de las jaulas que habían sido expuestas a condiciones óptimas presentaron un aumento significativo en el RWC durante los primeros días de almacenamiento (hasta el día 14) para luego mantenerse en valores estables hasta el final del

almacenamiento, las plantas provenientes de jaulas expuestas a condiciones sub-óptimas no presentaron cambios significativos en el RWC a medida que transcurrió el almacenamiento. Dado que las plantas durante el almacenamiento estuvieron expuestas a idénticas condiciones (óptimas), la diferencia observada en el comportamiento del RWC puede atribuirse a los acontecimientos ocurridos en el tejido en la post-cosecha temprana. En ambas situaciones el RWC presentó una disminución en ese primer período de mayor valor en las plantas de las jaulas expuestas a las condiciones sub-óptimas. A pesar de esto, cuando las plantas fueron retiradas de las jaulas y almacenadas en condiciones óptimas, el tejido tiene la capacidad de responder a este cambio en la condición ambiental aumentando el RWC, tal como ocurre en el almacenamiento directo en condiciones óptimas, sin el período de empaque en jaula (Capítulo IV, inciso 3.1.2).

Tal como se viene analizando a lo largo de la presente tesis, el tejido de lechuga expuesto a condiciones de humedad óptimas (97-99 %HR), como las del almacenamiento refrigerado de este capítulo, presenta incrementos en los valores de RWC posiblemente como una respuesta de adaptación al entorno saturado de agua, sin diferencias (o con mínima diferencia) en la presión de vapor de agua entre el vegetal y el entorno que lo rodea. Bajo esta condición, las células están con mayor turgencia, resultando un valor para el índice RWC cercado al 100 %. Es muy probable que la exposición temprana en condiciones sub-óptimas aún por un tiempo limitado, haya generado cambios a nivel estructura de membrana que limitaron la respuesta de los tejidos a un ambiente saturado.

La **Figura 7.12** presenta la evolución del WC en las plantas de lechuga durante el almacenamiento refrigerado.

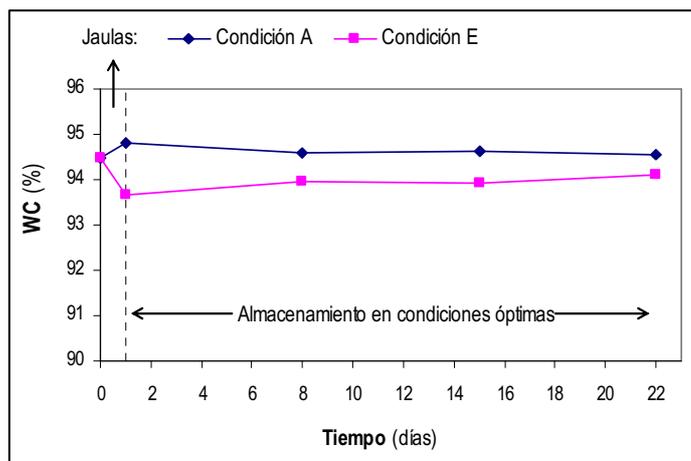


Figura 7.12. Evolución de WC en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El contenido de agua de las plantas durante el almacenamiento refrigerado no sufrió cambios significativos cualquiera haya sido la condición a la que se expusieron las jaulas durante la post-cosecha temprana. El modelo estadístico aplicado rindió una interacción no significativa. El factor CONDICIÓN resultó significativo indicando que las diferencias iniciales detectadas entre plantas provenientes de jaulas expuestas a diferentes condiciones se mantuvieron durante el almacenamiento en condiciones óptimas, sin cambios a lo largo del mismo (factor TIEMPO no significativo).

Tal como se encontró en otros ensayos de almacenamiento de plantas de lechuga en condiciones óptimas (Capítulo IV, inciso 3.1.1), el mantenimiento de los valores de WC es un resultado predecible ya que las cabezas de lechuga están expuestas, en estos casos, a una atmósfera prácticamente saturada.

Nuevamente, aún cuando no hay cambios detectables en el contenido de agua a lo largo del almacenamiento, el perfil de RWC denotó ajustes en el mismo período. Por lo tanto, RWC es un índice más sensible que el WC. Mientras que los valores de WC indican las variaciones en el contenido de agua de los tejidos vegetales debido a cambios en la presión de vapor de agua en la atmósfera circundante, el índice de RWC puede expresar los cambios estructurales en el tejido vegetal como una respuesta a la saturación de agua de la atmósfera.

La **Figura 7.13** muestra la evolución de FW en las plantas de lechuga durante el almacenamiento refrigerado.

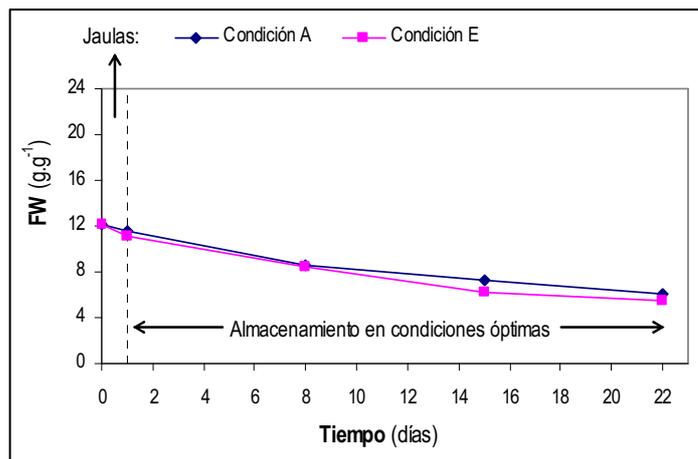


Figura 7.13. Evolución de FW en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El ANOVA aplicado a los datos de FW indicó sólo el factor TIEMPO significativo: se registró una evolución en los valores de agua libre durante el almacenamiento refrigerado, sin diferencias

entre las plantas provenientes de jaulas expuestas a diferentes condiciones durante la post-cosecha temprana. El FW disminuyó un 37 % durante el período completo de almacenamiento. En el Capítulo IV, también se informaron descensos en el FW, principalmente en la sección externa de la planta almacenada en condiciones óptimas. Nuevamente, es interesante observar que a pesar de que en estas condiciones de atmósfera cercana a la saturación, con bajos déficit de presión de vapor, a pesar de que no se registraron disminuciones en el WC de las plantas, hubo descensos significativos en el agua libre. Los descensos en agua libre pueden ser causados por una respuesta del tejido al almacenamiento (y a la ausencia de suministro de agua) ligando parte de su agua libre. Si fuera así, este resultado debería estar acompañado por un incremento en los valores de BW, índice que se analiza a continuación.

La **Figura 7.14** presenta los cambios detectados en los valores de BW en las plantas de lechuga almacenadas en condiciones óptimas luego de la post-cosecha temprana en jaulas.

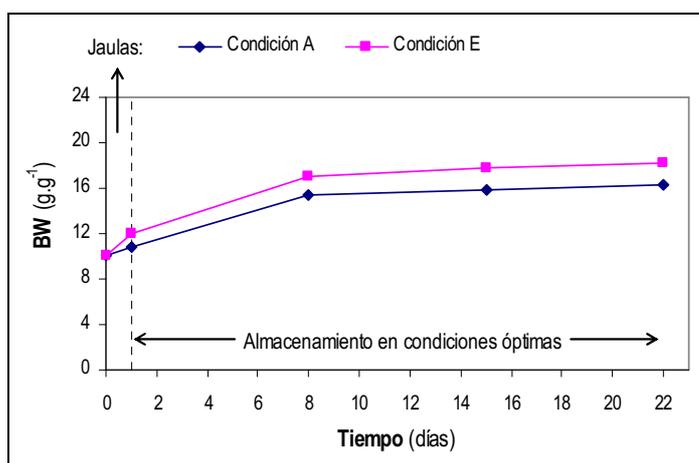


Figura 7.14. Evolución de BW en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Para este índice, el ANOVA tampoco rindió una interacción no significativa entre los factores indicando que el comportamiento del BW, a medida que transcurrió el almacenamiento, fue similar entre plantas de lechuga que habían sido expuestas en jaulas a diferentes condiciones durante la post-cosecha temprana. El factor TIEMPO resultó significativo: para ambos casos hubo un incremento del 72 % en el BW en el período completo de almacenamiento.

Los incrementos detectados en el BW refuerzan la hipótesis planteada en los capítulos previos sobre cambios en el estado del agua en plantas almacenadas en condiciones óptimas.

La **Figura 7.15** presenta los cambios en el índice FW/TW en las plantas de lechuga almacenadas en condiciones óptimas luego de las 24 horas de exposición a diferentes condiciones.

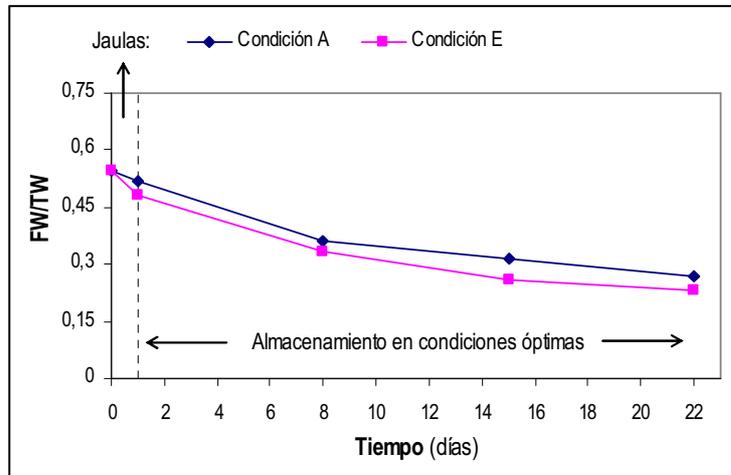


Figura 7.15. Evolución de FW/TW en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El ANOVA aplicado a estos resultados indicó una interacción CONDICIÓN*TIEMPO no significativa. Es decir, el comportamiento del índice FW/TW fue similar en ambas situaciones analizadas, detectándose un descenso en los valores desde el comienzo del almacenamiento refrigerado.

Las disminuciones en los valores de FW/TW están dadas por la reducción observada en el contenido de agua libre. La disminución del FW está acompañada por un incremento en el BW, dando un contenido total de agua igual (las plantas expuestas a estas condiciones no sufren pérdida significativa de agua durante el almacenamiento).

3.2.3. Calidad microbiológica: Recuentos de bacterias mesófilas totales.

La **Figura 7.16** presenta la evolución de los recuentos de bacterias mesófilas en plantas de lechuga durante el almacenamiento en condiciones óptimas. El ANOVA de estos resultados indicó interacciones significativas entre los factores TIEMPO y CONDICIÓN, indicando que la evolución de los recuentos durante el almacenamiento difirió en función de las condiciones a las que se expuso la jaula durante la post-cosecha temprana.

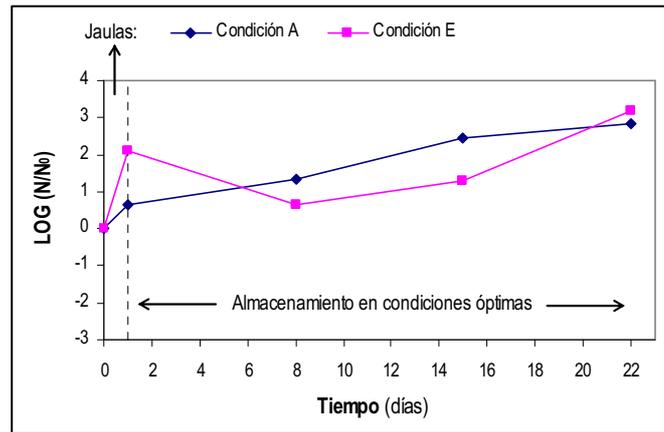


Figura 7.16. Evolución de los recuentos de bacterias mesófilas en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

En ambos casos se detectaron incrementos en los recuentos microbianos durante el almacenamiento, sin embargo las plantas que habían estado 24 horas en jaulas expuestas a las condiciones sub-óptimas registraron un descenso en los recuentos durante los primeros días de almacenamiento. Luego de este período, los recuentos comenzaron a aumentar paulatinamente alcanzando, hacia el final del almacenamiento, los mismos valores (aproximadamente 7.5 Log) que las plantas que habían sido expuestas a la otra condición. Para estas plantas, los incrementos en los recuentos de bacterias mesófilas se detectaron desde el comienzo del almacenamiento refrigerado. Esta diferencia puede deberse al hecho de que en las plantas que permanecieron 24 horas en jaulas en condiciones sub-óptimas se generó un clima propicio para el desarrollo de bacterias mesófilas que desaparece rápidamente al desarmar la jaula y someter las plantas a las condiciones óptimas. Este procedimiento podría significar un shock térmico que genere una necesidad de adaptación en las poblaciones microbianas a la nueva situación. En cambio, las plantas que estuvieron en las jaulas sometidas a las condiciones óptimas, el descenso de la temperatura durante las primeras 24 horas fue gradual (**Figura 7.1(A)**), por lo que los microorganismos pudieron ir adaptándose mejor a estos cambios suaves en la temperatura de su entorno. De modo que al pasar de las jaulas al almacenamiento en condiciones óptimas no sufrieron ningún shock, por el contrario continuaron con su desarrollo. Comparando estos resultados con los encontrados en el Capítulo II (inciso 3.2.1) para el almacenamiento en condiciones óptimas pero sin demora de 24 horas en jaulas, el comportamiento de las bacterias mesófilas fue similar en ambas situaciones, con un incremento de casi 3 Log hacia el final del almacenamiento.

3.2.4. Calidad nutricional: Contenido de ácido ascórbico reducido

La **Figura 7.17** presenta los cambios en el contenido de ácido ascórbico (AA) en plantas de lechuga durante el almacenamiento refrigerado.

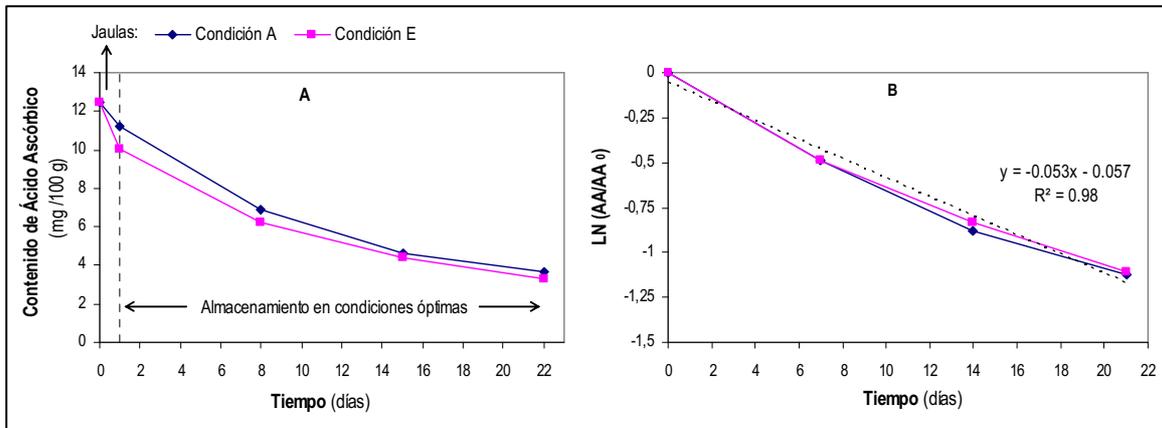


Figura 7.17. Evolución del contenido de ácido ascórbico en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Aclaración: para el estudio de la cinética de deterioro de ácido ascórbico (y de clorofila, Inciso 3.2.5) se consideraron los días de almacenamiento refrigerado siendo el tiempo 0, no el día de la cosecha, sino el día en que se desarmó la jaula y comenzó el almacenamiento en condiciones óptimas.

En términos generales, se observaron disminuciones en el contenido de ácido ascórbico en plantas de ambas condiciones. El ANOVA aplicado a los datos de AA para estos ensayos no mostró interacción ni factor CONDICIÓN significativos indicando que la evolución del contenido de ácido ascórbico durante el almacenamiento refrigerado fue similar para plantas provenientes de diferentes jaulas. Luego del período de post-cosecha temprana, en el que sí se registraron diferencias en el contenido de AA en función de la condición a la que se expuso la jaula, las reducciones detectadas en plantas provenientes de diferentes jaulas fueron similares alcanzando aproximadamente un 70 % al final del almacenamiento respecto del valor registrado en el momento de la cosecha. Considerando solo los datos obtenidos durante el almacenamiento refrigerado, se encontró que la reducción en el contenido de AA siguió una cinética de primer orden (**Figura 7.17(B)**), con una velocidad de degradación de 0.053 mg de AA / 100 g de tejido fresco y día. Este valor resultó algo mayor que el registrado durante el almacenamiento en condiciones óptimas de plantas individuales (Capítulo IV, inciso 3.1.3) donde la cinética de degradación del AA también fue de primer orden pero con una velocidad de 0.043 mg de AA / 100 g de tejido fresco y día. Los daños físicos provocados en el tejido en la post-cosecha temprana a causa del empaque ajustado en jaulas, sumado al abuso térmico y de humedad relativa (en las jaulas expuestas a la condición E) o el retraso en la disminución de la temperatura (en las jaulas expuestas a la condición A), pudieron haber

desencadenado la senescencia del tejido, registrándose por esta razón una mayor velocidad en la degradación del AA.

3.2.5. Calidad fisicoquímica: Contenido de clorofila

La **Figura 7.18** presenta la evolución del contenido de clorofila durante el almacenamiento refrigerado de plantas de lechuga que habían sido expuestas 24 horas a diferentes condiciones.

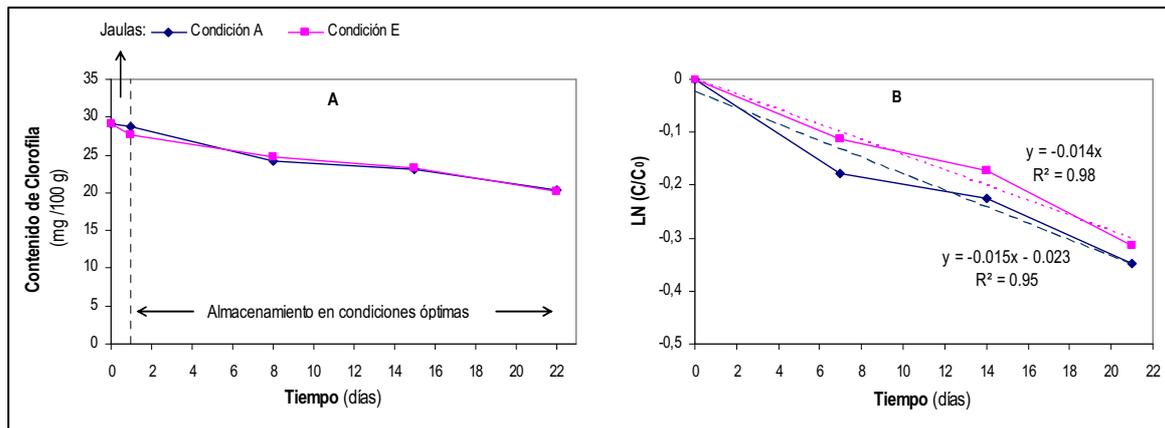


Figura 7.18. Evolución del contenido de clorofila en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

En términos generales, se observó un descenso en la concentración de este pigmento durante el almacenamiento en condiciones óptimas. Como en el caso del índice nutricional, el análisis estadístico de los resultados indicó, a través del ANOVA aplicado, que sólo el factor TIEMPO fue significativo: la evolución del contenido de clorofila durante el almacenamiento en condiciones óptimas en plantas sometidas previamente a diferentes condiciones fue similar, con reducciones del 30 % hacia el final del período evaluado. Para ambos casos se encontró una cinética de primer orden (**Figura 7.18(B)**) caracterizada por una velocidad de degradación de 0.014 y 0.015 mg clorofila / 100 g tejido fresco y día, sin diferencias significativas entre estos valores. En plantas almacenadas en condiciones óptimas, sin período de demora en jaula (Capítulo IV, inciso 3.1.4), se encontró también una degradación del pigmento clorofila pero sólo en la sección externa de las plantas. Esta degradación también siguió una cinética de primer orden con una velocidad de 0.049 mg clorofila / 100 g tejido fresco y día. Los valores menores encontrados en el presente capítulo para plantas almacenadas en condiciones óptimas pero con una demora en jaula en la post-cosecha temprana se atribuyen al hecho de estar considerando la evolución del pigmento en toda la planta, no sólo en las hojas de la sección externa.

3.2.6. Calidad organoléptica

La **Figura 7.19** presenta los cambios en la calidad visual general (OVQ) en las plantas de lechuga durante el almacenamiento en condiciones óptimas.

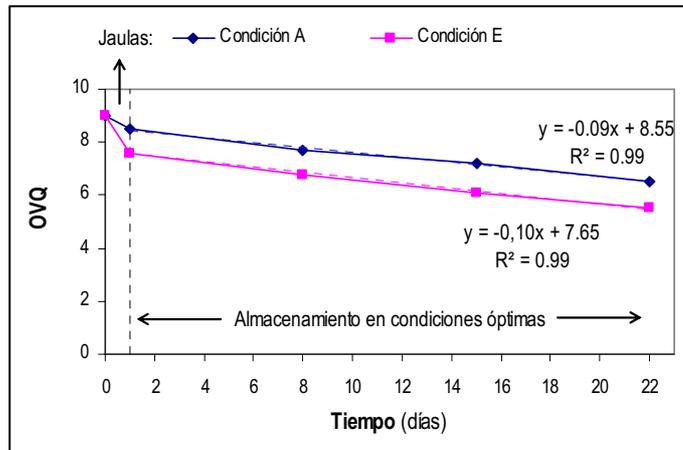


Figura 7.19. Evolución del OVQ en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

El análisis estadístico de los datos de OVQ indicó que la evolución de este indicador siguió un mismo patrón a lo largo del almacenamiento para plantas procedentes de jaulas expuestas a condiciones diferentes. Sin embargo, en este caso el factor CONDICIÓN sí resultó significativo indicando que hubo diferencias en el OVQ de estas plantas: las diferencias generadas en la calidad visual de la lechuga en la post-cosecha temprana se mantuvieron a lo largo del almacenamiento en condiciones óptimas una vez retiradas las plantas de las jaulas. En ambos casos el OVQ fue descendiendo paulatinamente a medida que avanzó el almacenamiento, con una velocidad similar: 0.09 y 0.10 puntos por día para plantas que habían estado en las jaulas en condiciones A y E, respectivamente. Es decir que la evolución de la calidad visual de la lechuga responde a las condiciones ambientales a las que se expone la planta (condiciones óptimas para ambos casos). Sin embargo, como las primeras horas post-cosecha introdujeron una marcada diferencia en el OVQ, las plantas provenientes de las jaulas expuestas a condiciones sub-óptimas alcanzaron en primer lugar el puntaje límite (5) de aceptabilidad visual. Al final el almacenamiento, las plantas provenientes de la jaula que estuvo expuesta a condiciones óptimas presentaron OVQ superior a 5. A pesar de que no se analizó el factor SECCIÓN, los panelistas detectaron los cambios más significativos en los atributos sensoriales de las plantas principalmente en las hojas más externas de la planta así como en el pardeamiento en la zona de corte. Los cambios observados por los panelistas fueron descenso en el brillo, con algunas decoloraciones y pardeamientos en los bordes de las hojas, hacia el final del almacenamiento. Las plantas provenientes de la jaula expuesta a

condiciones sub-óptimas presentaron estos cambios antes que las plantas de las jaulas de condiciones óptimas.

Comparando con las plantas almacenadas en condiciones óptimas sin período de demora en la post-cosecha temprana (Capítulo IV, inciso 3.1.4), se puede observar que el comportamiento de las plantas provenientes de las jaulas expuestas a la condición A, no difirió significativamente del registrado en aquel capítulo pero es interesante observar que durante los primeros 5 días de almacenamiento, las plantas que no sufrieron demoras en campo presentaron valores de OVQ superiores a 8 puntos (8 puntos para la sección externa y 9 puntos para las secciones media e interna), mientras que en el presente capítulo a los 5 días de almacenamiento en condiciones óptimas, luego de las 24 horas de demora en diferentes condiciones, los valores de OVQ fueron de 8 puntos para las plantas de las jaulas expuestas a la condición A, y de 6 puntos para las plantas de las jaulas expuestas a la condición E.

3.3. Modelado mediante GSI

Siguiendo el procedimiento desarrollado en el Capítulo V se realizó el modelado mediante el índice de estabilidad global (GSI) para los datos obtenidos durante el almacenamiento de plantas de lechuga previamente expuestas a diferentes condiciones en la post-cosecha temprana.

Se utilizó el modelo de GSI desarrollado para el almacenamiento de lechuga mantecosa en condiciones óptimas (Capítulo V, inciso 3.1.3). En aquel caso, el GSI de las secciones externa y media de la planta estuvo compuesto por los mismos índices (FW, C, AA, UFC) con distintos factores de peso en cada caso, mientras que en la sección interna la tétada estuvo conformada por los mismos índices a diferencia de la C, que en esta sección fue reemplazada por el FW/TW. Para la planta entera, se decidió utilizar la tétada integrada por los índices FW, C, AA y UFC. Además como los tres primeros índices presentaron mejores correlaciones con el OVQ (para los datos del presente capítulo), los factores de peso utilizados fueron 0.25, 0.4, 0.25 y 0.1 respectivamente. Para los valores umbrales (L_i) de cada índice, como los valores iniciales de los índices son diferentes respecto de los informados en el Capítulo IV, se decidió recalcular los límites como un % respecto del valor encontrado al momento de la cosecha. Entonces, se aplicaron esos porcentajes a los valores iniciales de la presente corrida experimental y se obtuvieron los nuevos límites. La **Tabla 7.2** muestra la matriz de valores (C_{ij}) junto con los valores umbrales para cada índice de calidad de la tétada.

Tiempo (días)	FW (g.g ⁻¹)	AA (mg / 100 g TF)	C (mg / 100 g TF)	UFC (Log(UFC/g))
<i>Jaula con demora de 24 horas en condiciones óptimas</i>				
0	11.6	11.2	28.8	5.4
7	8.7	6.9	24.1	6.0
14	7.3	4.6	23.1	7.2
21	6.0	3.6	20.4	7.6
L_i	7.1	3.9	7.5	9.1
<i>Jaula con demora de 24 horas en condiciones sub-óptimas</i>				
0	11.1	10.1	27.7	6.7
7	8.5	6.2	24.7	5.2
14	6.3	4.4	23.3	5.9
21	5.5	3.3	20.2	7.8
L_i	7.1	3.9	7.5	9.1

Tabla 7.2. Matriz de valores (C_{ij}) y valor umbral (L_i) asociado a cada índice de calidad lechuga almacenada en condiciones óptimas con demoras de 24 horas en jaulas expuestas a diferentes condiciones.

A continuación se prepararon las matrices de variación (V_{ij}), que permitieron calcular el valor de GSI en función del tiempo para cada una de las condiciones evaluadas. La **Figura 7.20(A)** presenta la evolución del GSI para las condiciones bajo estudio. En ambos casos se encontró, al igual que en el Capítulo V, una cinética de primer orden (**Figura 7.20(B)**).

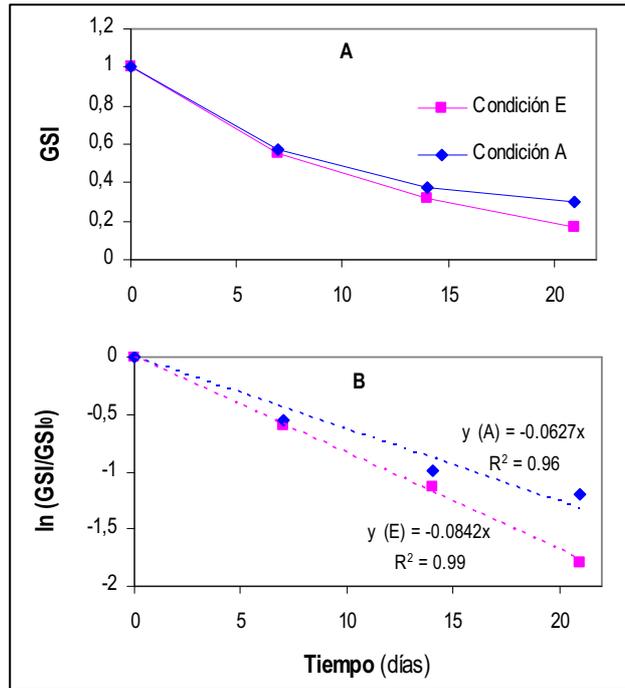


Figura 7.20. Evolución del índice de estabilidad global (GSI) en lechuga almacenada en condiciones óptimas luego de 24 horas de demora en jaula en condiciones óptimas o sub-óptimas.

A pesar de que las condiciones ambientales durante el almacenamiento fueron las mismas (0-2 °C y 97-99 %HR), se detectaron diferencias significativas en la velocidad de degradación del índice de estabilidad. Estas diferencias se atribuyen a los eventos ocurridos en la post-cosecha temprana. Las plantas provenientes de jaulas expuestas a condiciones sub-óptimas en las primeras 24 horas posteriores a la cosecha, fueron las que presentaron menor estabilidad durante el almacenamiento refrigerado, siendo la velocidad de degradación del índice de estabilidad un 31 % mayor que en el caso de las plantas provenientes de jaulas expuestas a condiciones óptimas.

En la **Figura 7.21** se presenta el modelo de regresión entre los valores de GSI y de OVQ (Capítulo V, Ec. (5.5)), para los dos casos bajo estudio.

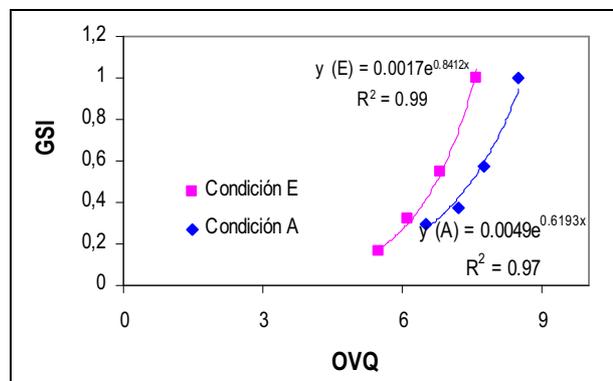


Figura 7.21. Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) para plantas almacenadas en condiciones óptimas luego de una demora de 24 horas en jaula expuestas a condiciones óptimas o sub-óptimas.

Utilizando los modelos encontrados, se pudo determinar que para alcanzar un OVQ de 5, el GSI en las plantas provenientes de las jaulas expuestas a las condiciones óptimas asume un valor igual a 0.108, mientras que para las plantas de la otra jaula asume un valor de 0.114. Con esta información, se puede encontrar el tiempo de almacenamiento en el que se alcanzan tales valores límite de GSI, resultando en 37.1 y 25.7 días de almacenamiento, respectivamente (**Figura 7.20(B)**, ecuaciones de regresión). Tal como se aclaró oportunamente, estos valores deben considerarse como orientativos, debido a la extrapolación realizada, ya que el OVQ en el período de 21 días de almacenamiento realizado no descendió por debajo de los 5 puntos en ninguna de las situaciones analizadas. Es por ello que se encuentran tiempos de vida útil superiores a los 21 días (tiempo real ensayado). A pesar de esto, el modelo ajustado indica claramente la mayor estabilidad de las plantas que habían permanecido en jaulas en condiciones óptimas ya que el tiempo de vida útil asociado a ellas es 11.4 días mayor que para las otras plantas. Comparando estos valores con los encontrados para plantas sin tiempo de demora en jaulas (Capítulo V, inciso 3.1.3), queda claro que el uso de jaulas provoca una disminución en la calidad de la hortaliza principalmente debida a daños físicos que se reflejan en los valores de OVQ, disminuyendo el tiempo de vida útil de las mismas. Si las jaulas de lechuga son expuestas a condiciones sub-óptimas durante la post-cosecha temprana, como las condiciones ensayadas en el presente capítulo, la vida útil de la lechuga se ve afectada significativamente.

4. CONCLUSIONES

El sistema de manejo de lechuga en jaulas genera una respuesta diferente en el tejido vegetal respecto a la situación de exposición individual debido a las condiciones ambientales que se desarrollan dentro de la jaula y debido al daño físico que se produce en las plantas por el empaquetamiento apretado de las mismas dentro de la jaula. Independientemente de la humedad relativa del ambiente al que se expone la jaula, dentro de la misma se logran ambientes saturados a corto plazo (primeras horas). Cuando la temperatura a la que se expone la jaula es la óptima, se desarrolla un perfil de temperatura dentro de la jaula que retrasa el enfriamiento del producto impidiendo la reducción inmediata de temperatura. Por lo tanto, cuando la jaula de lechuga se expone a condiciones óptimas, se producen cambios en los indicadores de calidad que tienen mayor intensidad que en el caso de plantas expuestas individualmente a las condiciones óptimas. Por el contrario, cuando la jaula de lechuga se expone a condiciones sub-óptimas, los cambios producidos en los indicadores de calidad son más moderados que en el caso de las plantas

individuales. La cercanía de las plantas entre sí constituye una barrera física de protección contra la baja HR del ambiente al que se expuso la jaula. Aún así, las plantas de las jaulas expuestas a condiciones sub-óptimas presentaron mayores pérdidas en sus atributos de calidad que las plantas de las jaulas expuestas a condiciones óptimas.

Luego de las primeras 24 horas en jaulas bajo diferentes condiciones ambientales, el almacenamiento de las plantas en condiciones óptimas no introdujo diferencias significativas en la evolución de la mayor parte de los indicadores de calidad, encontrándose en muchos casos cinéticas similares. Tal es el caso del contenido de agua, contenido de agua libre y agua unida, contenido de ácido ascórbico, contenido de clorofila y OVQ. La diferencia en muchos de estos casos estuvo en el valor inicial al comienzo del almacenamiento refrigerado, como consecuencia de las condiciones en la post-cosecha temprana. Para los índices RWC y recuentos de bacterias mesófilas, además de presentar valores iniciales diferentes, la evolución durante el almacenamiento fue diferente en función de las condiciones experimentadas por las plantas en las primeras 24 horas luego de la cosecha. Finalmente, se encontró que las condiciones experimentadas por las plantas de lechuga en la post-cosecha temprana (primeras horas) tiene un impacto significativo sobre la vida útil de la hortaliza.

6. CONCLUSIONES FINALES

La planta de lechuga constituyó un modelo biológico natural que permitió el estudio de dos factores en simultáneo: la edad del tejido y el grado de exposición a los factores ambientales. Las hojas externas de la planta son las más maduras y expuestas y presentaron mayor velocidad en el deterioro de los índices de calidad y, en consecuencia, menor vida útil. Las hojas más internas, constituidas de tejido más joven y menos expuesto fueron las que presentaron mayor extensión de la vida útil.

Se analizaron los efectos de dos factores pre-cosecha: grado de desarrollo a la cosecha y método de cultivo (mulch y tradicional sobre tierra), sobre indicadores de calidad inicial de lechuga y el impacto de estos factores sobre la vida útil de la hortaliza:

- La calidad de la planta recién cosechada fue afectada por el grado de desarrollo de la planta al momento de la cosecha. Las plantas cosechadas en una fase temprana, presentaron intensos gradientes de los índices dentro de la planta y una respuesta al almacenamiento refrigerado inadecuada resultando con menor vida útil que las plantas cosechadas en fases más avanzadas de desarrollo (en la pre-floración).
- Las plantas cultivadas en mulch presentaron mayores recuentos microbianos y menor contenido de ácido ascórbico que las plantas cultivadas sobre suelo descubierto (tierra). Sin embargo, durante el almacenamiento refrigerado, este tipo de lechuga mantuvo su calidad microbiológica.

Se analizó el efecto de la humedad relativa del ambiente durante el almacenamiento post-cosecha sobre los indicadores de calidad. La vida útil de lechuga se vio afectada drásticamente por la humedad relativa del ambiente al que se expone la planta. Cuando las condiciones de almacenamiento son las óptimas, la vida útil superó los 20 días, mientras que con humedad relativa del ambiente menor, aún con baja temperatura, la vida útil disminuyó de manera contundente, siendo para las hojas externas de 3 sólo días. Se determinó que durante el almacenamiento bajo diferentes condiciones, tuvieron lugar intercambios de agua libre y agua unida, con un aumento

considerable en esta última, en respuesta al estrés abiótico que comienza con el corte en el suministro de nutrientes que ocurre en la cosecha.

Con el objetivo de simplificar la manera de realizar los muestreos experimentales se realizó una modificación del modelo del Índice de Estabilidad General (GSI). El método de GSI modificado en el presente trabajo de tesis facilitó el seguimiento de la evolución de la calidad de lechuga a través de la medición de unos pocos índices, ya que permitió una reducción de la cantidad de las determinaciones experimentales que se deben ejecutar, con una disminución en el costo, tiempo de trabajo y recursos. La mayor dificultad residió en determinar cuáles fueron las variables que gobernaron la vida útil del producto. Estas variables dependen de las condiciones de almacenamiento y de la sección de la planta bajo consideración. En cualquier caso la evolución del índice de estabilidad GSI presentó cinéticas de primer orden con una constante de velocidad cuyo valor fue afectado tanto por la sección de la planta como por la condición de HR bajo consideración.

Es conocido que el detrimento de la calidad de lechuga comienza en las primeras horas después de la cosecha y es un proceso afectado por la temperatura, la humedad relativa del ambiente, la edad del tejido y la posición de las hojas. Aún en condiciones óptimas, se detectaron cambios significativos en los índices de calidad en la post-cosecha temprana, sugiriendo que la cosecha genera una respuesta rápida en el tejido medida a través de los índices de status de agua principalmente. Con el aumento de la temperatura, se intensificó esta respuesta. Bajo condiciones de HR sub-óptima ocurrieron, además de movimientos de agua y cambios en la capacidad de retención de agua del tejido, pérdidas de agua por evaporación y, en consecuencia, pérdidas de peso.

En la última parte del presente trabajo, se analizó el producto desde una perspectiva real, es decir, se pasó del sistema individual de estudio por planta, para analizar los cambios que acontecen en la calidad del producto en el sistema real de empaque: la jaula. La exposición de las plantas empacadas en jaulas a diferentes condiciones ambientales durante la post-cosecha temprana generó una respuesta diferente al de las plantas expuestas de manera individual, debido a las condiciones ambientales que se desarrollaron dentro de la jaula y al daño físico que se produjo en las plantas por el empaquetamiento apretado de las mismas. Cuando la temperatura a la que se expuso la jaula fue la óptima, se desarrolló un perfil de temperatura dentro de la jaula que retrasó el enfriamiento del producto impidiendo la reducción inmediata de temperatura. Por lo tanto, cuando la jaula de lechuga se expuso a condiciones óptimas, se produjeron cambios en los indicadores de calidad que presentaron mayor intensidad que en las plantas expuestas individualmente a las condiciones óptimas. Por el contrario, cuando la jaula de lechuga se expuso a condiciones sub-óptimas, los cambios producidos en los indicadores de calidad fueron más moderados que en el

caso de las plantas individuales. La cercanía de las plantas entre sí constituyó una barrera física de protección contra la baja HR del ambiente al que se expuso la jaula. Luego de las primeras 24 horas en jaulas bajo diferentes condiciones ambientales, el almacenamiento de las plantas en condiciones óptimas no introdujo diferencias significativas en la evolución de la mayor parte de los indicadores de calidad. Sin embargo, el valor inicial al comienzo del almacenamiento refrigerado, como consecuencia de las condiciones en la post-cosecha temprana, fue diferente. Por lo tanto, las condiciones experimentadas por las plantas de lechuga en la post-cosecha temprana (primeras horas) tuvieron un impacto significativo sobre la vida útil de la hortaliza. Es así que se encontró que el mantenimiento de las condiciones óptimas desde las primeras horas prolongó la vida útil en 12 días respecto a la exposición a ambientes abusivos. De esta manera, se podría llegar a mercados más distantes permitiendo que el productor amplíe su zona de distribución.

Proyecciones a partir de este trabajo de tesis doctoral

El presente trabajo de tesis doctoral permitió caracterizar la calidad inicial de lechuga mantecosa; establecer el efecto de variables precosecha sobre la calidad inicial de lechuga y sobre la extensión de la vida útil; determinar el efecto de condiciones óptimas y sub-óptimas de almacenamiento sobre la vida útil potencial de lechuga desarrollo de modelos cinéticos para los diferentes indicadores de calidad; cuantificar la pérdida de calidad de lechuga por efecto de la exposición de la materia prima (plantas individuales y plantas en jaulas) a 24 horas de abuso térmico en diferentes condiciones de humedad relativa; establecer el efecto de las condiciones abusivas (sobre plantas individuales y plantas en jaulas) en la post-cosecha temprana sobre la extensión de la vida útil; desarrollar y validar modelos cinéticos de evolución de los indicadores de calidad de lechuga en post-cosecha.

Sin embargo, algunos interrogantes han surgido, tales como:

- Llevar a cabo la cosecha sin el corte, sacando la planta con raíces, ¿mejora la post-cosecha de lechuga? ¿Es este procedimiento capaz de atenuar las respuestas?
- ¿Qué eventos se desencadenan a partir de la cosecha que son disparadores de la respuesta de lechuga al almacenamiento?
- ¿Existe algún disparador molecular que intermedie este proceso?
- ¿Qué cambios ocurren a nivel de membrana celular durante el almacenamiento en diferentes condiciones?

Se pretende avanzar en el conocimiento de algunos de estos aspectos con futuras investigaciones que se encuadran dentro del marco de mi beca post-doctoral a desarrollarse a partir de abril de 2011.

7. ANEXOS

ANEXO I

NOMENCLATURA

α_i	Factor de peso del índice i en el modelo de Índice de Estabilidad Global
τ	Constante de tiempo, modelo de pérdida de peso
A	Valor de estabilización de la pérdida de peso, modelo de pérdida de peso
a	Incremento del recuento microbiano cuando el tiempo de incrementa indefinidamente, modelo logístico y de Gompertz
AA	Ácido ascórbico
A_{660}	Absorbancia a 660 nm
$A_{642.5}$	Absorbancia a 642.5 nm
b	Máxima velocidad de crecimiento de bacterias, modelo de Gompertz
BW	Agua ligada (<i>bound water</i>)
c	Velocidad de crecimiento de bacterias en el tiempo correspondiente a la mitad de la fase exponencial, modelo logístico.
C	Clorofila
C_{ij}	Valor del índice i en el tiempo j
d	Parámetro adimensional, modelo logístico
DDT	Días después del trasplante
DPV	Diferencia de presión de vapor
EMB	Medio de cultivo para enterobacterias y coniformes (Eosin Mutilen Blue)
FW	Agua libre (<i>free water</i>)
FW/TW	Relación agua libre a agua total (<i>free water / total water</i>)
GSI	Índice de Estabilidad Global (<i>Global Stability Index</i>)
HR	Humedad relativa
L_i	Límite de tolerancia para el índice i
LAB	Bacterias ácido-lácticas
Log N	Recuento microbiano expresados en base logarítmica

m	Tiempo en el que se registra la máxima velocidad de crecimiento de bacterias, modelo de Gompertz
MJ	Unidad de energía (Mega Joules)
MRS	Medio de cultivo para bacterias ácido-lácticas (agar de Man, Rogosa y Sharpe).
MS	Materia seca
n	Número de datos para ajustar los modelos logístico y de Gompertz
OVQ	Calidad visual general (<i>overall visual quality</i>)
PA	Peso de la
PC	Peso de la planta recién cosechada
PCA	Ágar para recuento en placa (<i>plate count agar</i>)
PD	Peso descongelado
PF	Peso fresco
PS	Peso seco
PT	Peso de turgencia
RWC	Contenido de agua relativo (<i>relative water content</i>)
t	Tiempo
T	Temperatura
TF	Tejido fresco
TS	Tejido seco
TW	Agua total (<i>Total water</i>)
V_{ij}	Variación del índice i en el tiempo j , respecto de la máxima variación tolerable
WC	Contenido de agua (<i>water content</i>)
WL	Pérdida de peso (<i>weight loss</i>)
WLD	Pérdida de peso considerando los descartes
YGC	Medio de cultivo para hongos y levaduras (yeast-glucose-chloranphenicol)

ANEXO II

IMÁGENES

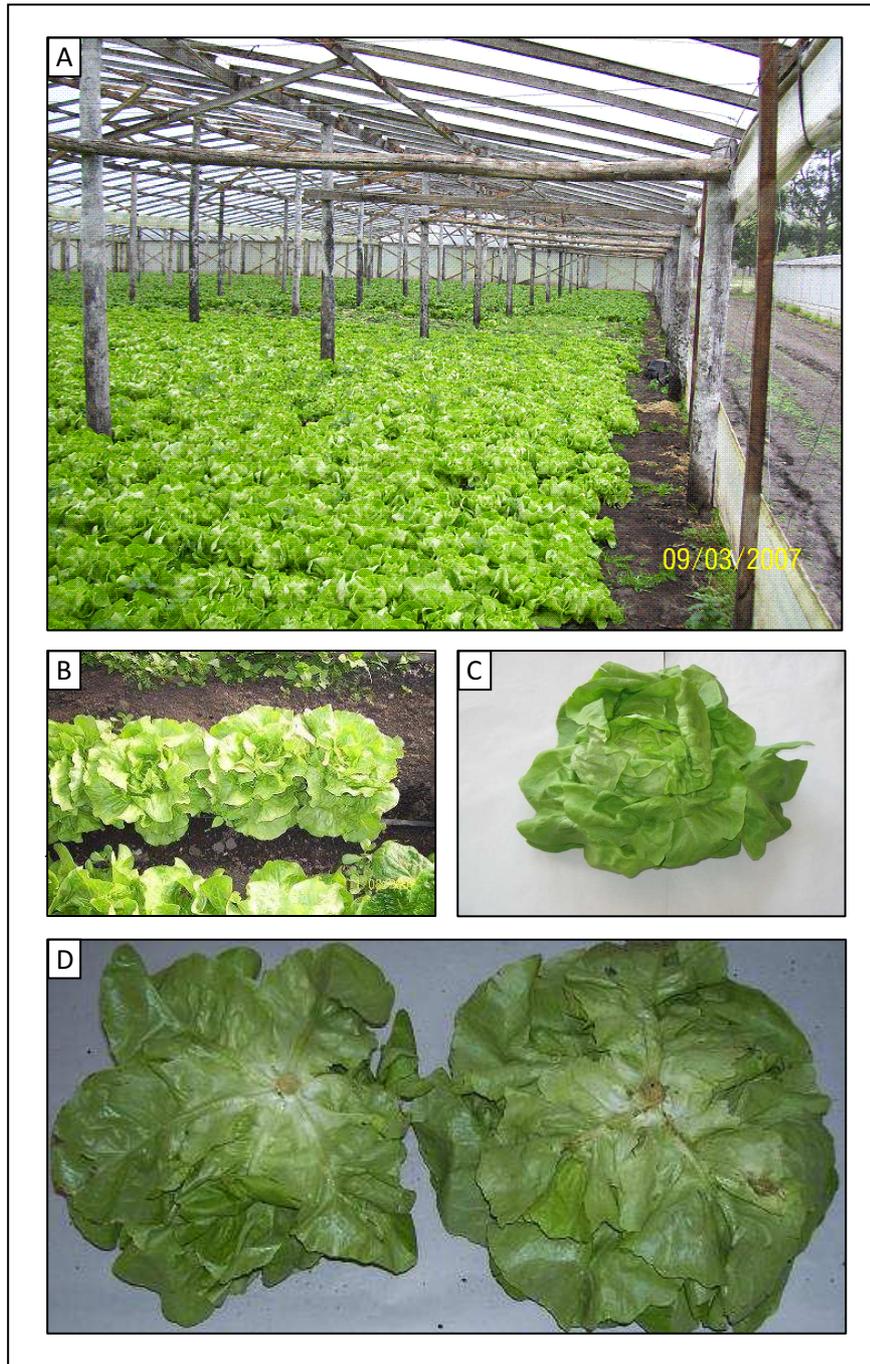


Figura A.1. Producción de lechuga mantecosa (A, B). Lechuga recién cosechada (C, D).



Figura A.2. Lechuga mantecosa en el mercado.

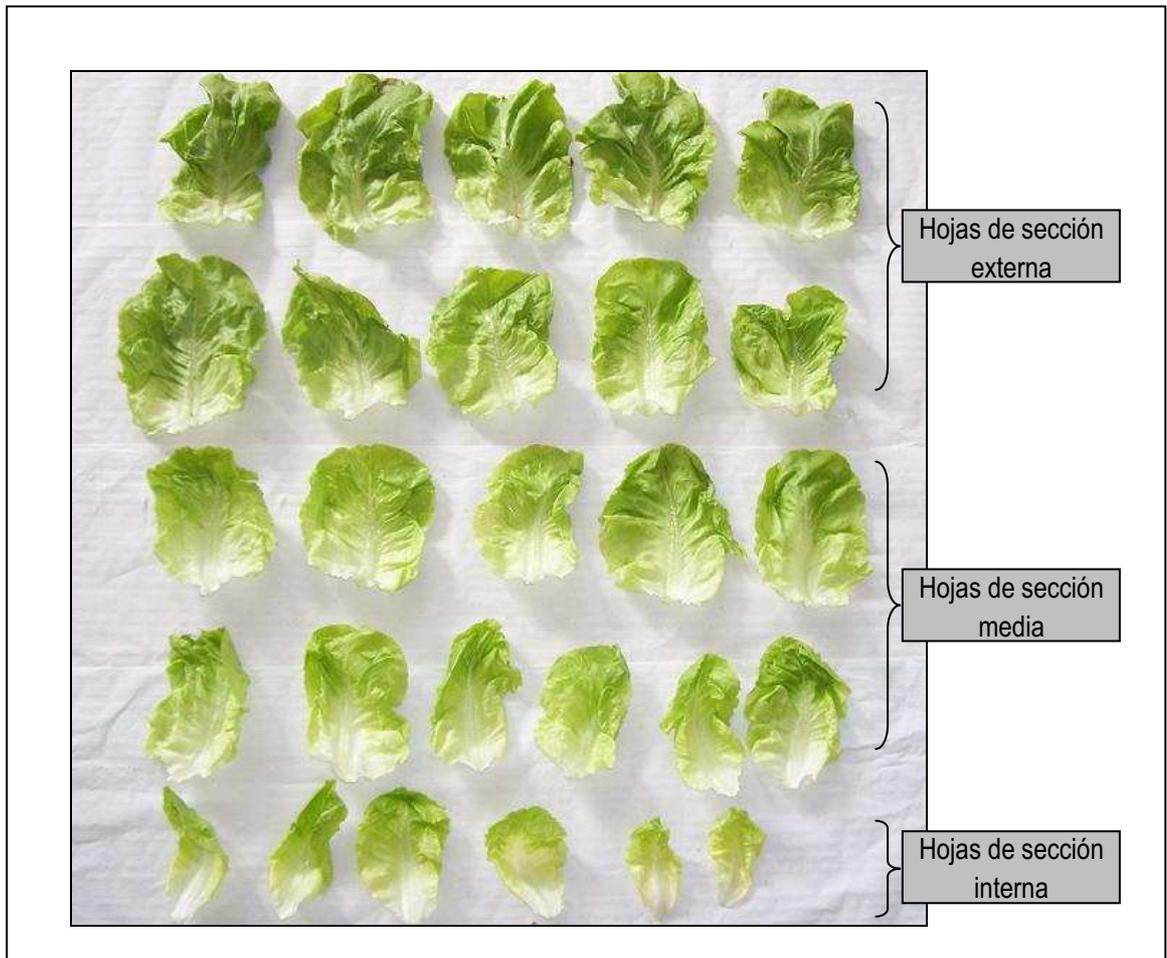


Figura A.3. Hojas de una planta de lechuga mantecosa.



Figura A.4. Métodos de cultivo de lechuga mantecosa: Sistema de suelo descubierto con plantas de lechuga con 18 días después de transplante (A); Sistema mulch con plántulas de lechuga con 2 días después de transplante (B).

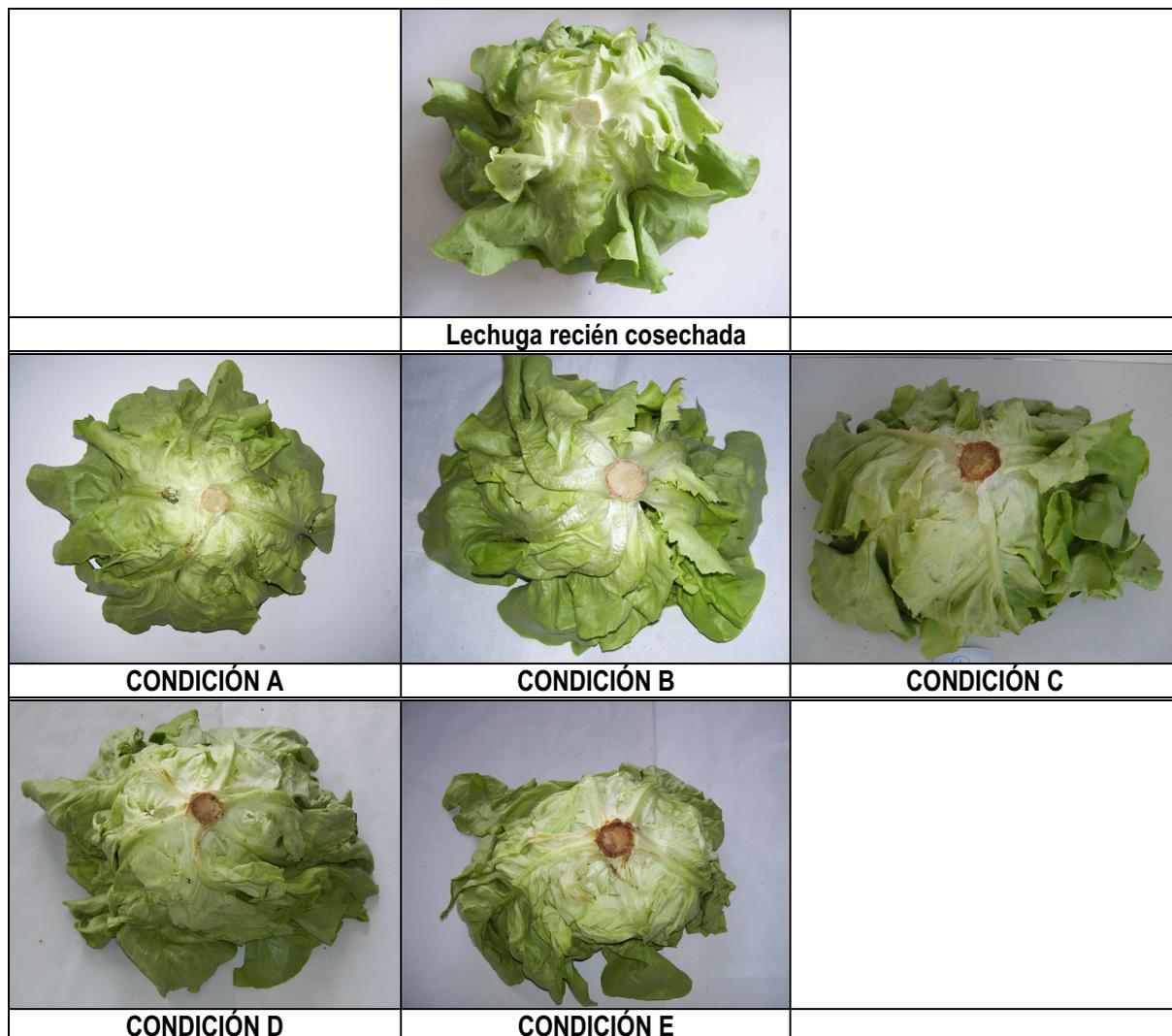


Figura A.5. Lechuga mantecosa fresca y luego de 24 horas de exposición a las condiciones **A** (0-2 °C, 97-99 %HR), **B** (10-12 °C, 97-99 %HR), **C** (20-22 °C, 97-99 %HR), **D** (10-12 °C, 70-72 %HR) y **E** (20-22 °C, 60-62 %HR).



Figura A.7. Cosecha manual de lechuga.



Figura A.8. Jaula de lechuga recién cosechada, armada con “copete”.



Figura A.9. *Espera de lechuga en campo.*

ANEXO III

LISTADO DE FIGURAS Y TABLAS

Listado de Figuras

Introducción

Figura 0.1. Distribución de las principales regiones hortícolas de Argentina.

Figura 0.2. Superficie destinada en cada provincia a la producción de hortalizas.

Figura 0.3. Vista satelital del cinturón hortícola de la ciudad de Mar del Plata.

Capítulo I

Figura 1.1. Detalle de corte de rectángulos en una hoja de lechuga para determinar el status de agua.

Figura 1.2. Detalle de alícuota de filtrado (A) y filtrado titulado (B).

Figura 1.3. Distribución de los índices de status de agua en una planta de lechuga (Hoja N°1: más externa, Hoja N° 24: más interna).

Capítulo II

Figura 2.1. Índices de status de agua en las secciones de lechuga cultivada en tierra o en mulch. (A): Contenido de agua relativo; (B) Contenido de agua; (C) Contenido de agua libre; (D) Contenido de agua unida; (E) Relación agua libre a agua total.

Figura 2.2. Poblaciones microbianas en secciones de lechuga cultivada en tierra o en mulch: (A) Mesófilas, (B) Ácido-lácticas, (C) Coliformes, (D) Hongos y levaduras, (E) Psicrófilas.

Figura 2.3. Valores promedios de los índices de calidad nutricional y fisico-química: (A) Contenido de ácido ascórbico, (B) Contenido de clorofila, (C) Parámetro L*, (D) Parámetro b*, (E) Parámetro a*.

Figura 2.4. Evolución de las poblaciones microbianas en las tres secciones de lechuga cultivada bajo diferentes métodos: (1) Sistema mulch; (2) Tierra; (A) Mesófilas; (B) Ácido-lácticas; (C) Coliformes; (D) Hongos y levaduras; (E) Psicrófilas.

Figura 2.5. Ajuste de valores predichos por los modelos Logístico (A) y de Gompertz (B).

Figura 2.6. Evolución de la calidad visual general (OVQ) durante el almacenamiento refrigerado de lechugas cultivadas en sobre mulch (A) y en tierra (B).

Capítulo III

Figura 3.1. Representación esquemática del ciclo de cultivo de especies angiospermas (extraído de Wien, 1997).

Figura 3.2. Evolución del Ln(peso), materia seca y número de hojas durante el crecimiento de lechuga. Las líneas muestran el modelo logístico ajustado en cada caso.

Figura 3.3. Perfiles típicos de RWC en plantas de lechuga (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo.

Figura 3.4. Perfiles típicos de WC en plantas de lechuga (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo.

Figura 3.5. Perfiles típicos de FW en plantas de lechuga (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo.

Figura 3.6. Perfiles típicos de BW en plantas de lechuga (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) cosechadas en diferentes fases de desarrollo

Figura 3.7 Perfiles típicos de FW/TW en plantas de lechuga cosechadas (frescas -●- y almacenadas durante 7 días -○-) en diferentes fases de desarrollo

Figura 3.8. Calidad visual general de plantas luego del almacenamiento en condiciones óptimas para lechuga (0 – 2°C y 97-99%HR) durante 7 días.

Capítulo IV

Figura 4.1. Evolución de los índices de status de agua en secciones de lechuga mantecosa durante el almacenamiento en condiciones óptimas.

Figura 4.2. Evolución del contenido de Ácido Ascórbico en las secciones de lechuga.

Figura 4.3. Evolución del contenido de clorofila en lechuga almacenada en condiciones óptimas.

Figura 4.4. Evolución de la calidad visual general de las distintas secciones de lechuga durante el almacenamiento refrigerado.

Figura 4.5. Evolución de la pérdida de peso durante el almacenamiento refrigerado de lechuga mantecosa.

Figura 4.6. Evolución de los índices de status de agua en secciones de lechuga mantecosa durante el almacenamiento con condiciones de HR sub-óptima.

Figura 4.7. Evolución de las poblaciones microbianas en las secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima. (A): Bacterias mesófilas; (B): Bacterias ácido-lácticas; (C): Bacterias coliformes; (D): Hongos y levaduras; (E): Bacterias psicrófilas.

Figura 4.8. Evolución del contenido de Ácido Ascórbico en las secciones de lechuga almacenada en condiciones de HR sub-óptimas (A). Cinética de degradación de ácido ascórbico (B).

Figura 4.9. Evolución del contenido de clorofila en secciones externa, media e interna de lechuga (A); Cinética de degradación de clorofila en la sección externa de la lechuga (B).

Figura 4.10. Evolución de la calidad visual general de las secciones de lechuga durante el almacenamiento.

Capítulo V

- Figura 5.1.** Evolución del índice de estabilidad global (GSI) en las diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones óptimas.
- Figura 5.2.** Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) para las secciones externa, media e interna de lechuga almacenada en condiciones óptimas.
- Figura 5.3.** Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) ajustado con el mismo modelo en las secciones externa, media e interna de lechuga.
- Figura 5.4.** Evolución del índice de estabilidad global (GSI) en las diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento refrigerado en condiciones sub-óptimas.
- Figura 5.5.** Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) para las secciones externa, media e interna de lechuga.
- Figura 5.6.** Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) ajustado con el mismo modelo en las secciones externa, media e interna de lechuga.
- Figura 5.7.** Correlación entre los valores de GSI experimentales y los valores predichos según Ecuación (5.5).

Capítulo VI

- Figura 6.1.** Evolución de la pérdida de peso (WL) y de la pérdida de peso con descarte (WLD) durante las 24 horas de exposición de lechuga mantecosa a diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa.
- Figura 6.2.** Evolución de RWC en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 6.3.** Evolución de WC en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 6.4.** Evolución de FW en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 6.5.** Evolución de BW en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 6.6.** Evolución de FW/TW en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 6.7.** Evolución de los recuentos de bacterias mesófilas en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 6.8.** Evolución de los recuentos del contenido de ácido ascórbico en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 6.9. Evolución de los recuentos del contenido de ácido ascórbico en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 6.10. Evolución del OVQ en distintas secciones de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 6.11. Evolución del pardeamiento en la zona de corte en plantas de lechuga mantecosa durante 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR), B (10-12 °C, 97-99 %HR), C (20-22 °C, 97-99 %HR), D (10-12 °C, 70-72 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Capítulo VII

Figura 7.1. Evolución de la temperatura (A) y humedad relativa (B) dentro de jaulas de lechuga expuestas a diferentes condiciones ambientales: 0-2 °C y 97-99 %HR (líneas enteras) o 20-22 °C y 60-62 %HR (líneas punteadas).

Figura 7.2. Cambio en el RWC en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.3. Cambio en el WC en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.4. Cambio en el FW en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.5. Cambio en el BW en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.6. Cambio en el FW/TW en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.7. Cambio en el recuento de bacterias mesófilas en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.8. Cambio en el contenido de ácido ascórbico en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.9. Cambio en el contenido de clorofila en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.10. Cambio en el OVQ en lechugas ubicadas en distintos estratos de jaulas expuestas durante 24 horas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.11. Evolución de RWC en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento refrigerado luego de 24 horas de exposición a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.12. Evolución de WC en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

Figura 7.13. Evolución de FW en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).

- Figura 7.14.** Evolución de BW en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 7.15.** Evolución de FW/TW en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 7.16.** Evolución de los recuentos de bacterias mesófilas en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 7.17.** Evolución del contenido de ácido ascórbico en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 7.18.** Evolución del contenido de clorofila en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 7.19.** Evolución del OVQ en plantas de lechuga mantecosa durante el almacenamiento luego de 24 horas de exposición de jaulas a las condiciones A (0-2 °C, 97-99 %HR) y E (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura 7.20.** Evolución del índice de estabilidad global (GSI) en lechuga almacenada en condiciones óptimas luego de 24 horas de demora en jaula en condiciones óptimas o sub-óptimas.
- Figura 7.21.** Evolución del Índice de estabilidad general (GSI) en función de la calidad visual general (OVQ) para plantas almacenadas en condiciones óptimas luego de una demora de 24 horas en jaula expuestas a condiciones óptimas o sub-óptimas.

Anexo II

- Figura A.1.** Producción de lechuga mantecosa (A, B). Lechuga recién cosechada (C, D).
- Figura A.2.** Lechuga mantecosa en el mercado.
- Figura A.3.** Hojas de una planta de lechuga mantecosa.
- Figura A.4.** Métodos de cultivo de lechuga mantecosa: Sistema de suelo descubierto con plantas de lechuga con 18 días después de transplante (A); Sistema mulch con plántulas de lechuga con 2 días después de transplante (B).
- Figura A.5.** Lechuga mantecosa fresca y luego de 24 horas de exposición a las condiciones **A** (0-2 °C, 97-99 %HR), **B** (10-12 °C, 97-99 %HR), **C** (20-22 °C, 97-99 %HR), **D** (10-12 °C, 70-72 %HR) y **E** (20-22 °C, 60-62 %HR).
- Figura A.7.** Cosecha manual de lechuga.
- Figura A.8.** Jaula de lechuga recién cosechada, armada con “copete”.
- Figura A.9.** Espera de lechuga en campo.

Listado de Tablas

Introducción

Tabla 0.1. Composición nutricional de lechuga mantecosa (Di Benedetto, 2005).

Capítulo I

Tabla 1.1. Valores promedios de los índices de status de agua en cada sección de lechuga.

Tabla 1.2. Valores promedios de los recuentos microbiológicos en cada sección de lechuga.

Tabla 1.3. Valores promedios de los índices de calidad nutricional y físico-química en cada sección de lechuga.

Tabla 1.4. Parámetros de color informados para lechuga fresca en bibliografía.

Capítulo II

Tabla 2.1. Parámetros de los modelos de crecimiento microbiano para las diferentes poblaciones de microorganismos en lechuga de tierra.

Tabla 2.2 Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre el OVQ y las poblaciones microbianas en diferentes secciones de lechugas cultivadas bajo dos métodos diferentes: mulch y tierra.

Capítulo III

Tabla 3.1. Evolución de los parámetros de crecimiento durante el desarrollo de lechuga.

Tabla 3.2. Valores medios junto con la desviación estándar obtenidos para los descriptores sensoriales para lechuga almacenada (7 días) en función del grado de desarrollo de la planta al momento de la cosecha.

Capítulo IV

Tabla 4.1 Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre los índices de status de agua (RWC, WC, FW, BW, FW/TW), el contenido de clorofila (C), el contenido de ácido ascórbico (AA) y la calidad visual general (OVQ) en las diferentes secciones de la planta. (^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$).

Tabla 4.3. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre los recuentos de las poblaciones microbianas y la calidad visual general (OVQ) en diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima. (^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$).

Tabla 4.2. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre los índices de status de agua (RWC, WC, FW, BW, FW/TW y WSD) y contenido de clorofila (C), y la calidad visual general (OVQ) en diferentes secciones de lechuga durante el almacenamiento en condiciones de HR sub-óptima. (^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$).

Capítulo V

Tabla 5.1. Matriz de datos experimentales.

Tabla 5.2. Matriz de variación.

Tabla 5.3. Matriz de datos experimentales de lechuga almacenada en condiciones óptimas.

Tabla 5.3. Valor umbral (L_i) de cada índice de calidad en cada sección de lechuga almacenada en condiciones óptimas.

Tabla 5.4. Coeficientes de Pearson y valor p asociado para las correlaciones entre los índices de calidad y el OVQ en cada sección de lechuga almacenada en condiciones óptimas.

Tabla 5.5. Parámetros de ajuste de la Ecuación (5.6) para lechuga almacenada en condiciones óptimas.

Tabla 5.6. Matriz de datos experimentales de lechuga almacenada en condiciones sub-óptimas

Tabla 5.7. Valor umbral (L_i) de cada índice de calidad en cada sección de lechuga almacenada en condiciones sub-óptimas.

Tabla 5.8. Coeficientes de Pearson y valor p asociado para las correlaciones entre los índices de calidad y el OVQ en cada sección de lechuga.

Tabla 5.9. Constante de velocidad (k) para el deterioro del índice GSI durante el almacenamiento de plantas de lechuga bajo diferentes condiciones de HR.

Capítulo VI

Tabla 6.1. Condiciones de temperatura y humedad relativa utilizadas en los experimentos del presente Capítulo.

Tabla 6.2. Diferencia de Presión de Vapor resultante de las condiciones de temperatura y humedad relativa utilizadas en los experimentos del presente Capítulo.

Tabla 6.3. Parámetros de ajuste del modelo $WL = A \cdot [1 - \exp(-t / \tau)]$

Capítulo VII

Tabla 7.1. Pérdida de peso (WL) y pérdida de peso con descarte (WLD) detectada a las 24 horas de exposición de lechuga mantecosa empacada en jaulas a diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa.

Tabla 7.2. Matriz de valores (C_{ij}) y valor umbral (L_i) asociado a cada índice de calidad lechuga almacenada en condiciones óptimas con demoras de 24 horas en jaulas expuestas a diferentes condiciones.

REFERENCIAS

- Abbott J.A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 207 – 225.
- Abbot J.A., Harker R. 2008. Texture. United State Dept of Agriculture, Agriculture Handbook 66. Washington, D.C.: USDA. Disponible en: <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/021texture.pdf>. Acceso: Septiembre 2008.
- Abee T., Wouters J.A. 1999. Microbial stress response in minimal processing. *International Journal of Food Microbiology*, 40: 65 – 91.
- Achour M., 2006. A new method to assess the quality degradation of food products during storage. *Journal of Food Engineering*, 75 (4), 560 – 564.
- Adams J.B., Brown H.M. 2007. Discoloration in Raw and Processed Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3): 319 – 333.
- Aguilar C.N., Reyes M.L., De la Garza H., Contreras-Esquivel J.C. 1999. Aspectos bioquímicos de la relación entre el escaldado TB-TL y la textura de vegetales procesados. *Revista de la Sociedad Química de México*, 43(2): 54 – 62.
- Ahumada O., Villalobos J.R. 2009. Application of planning models in the agri-food supply chain: A review. *European Journal of Operational Research*, 195: 1 – 20.
- Albanese D., Russo L., Cianquanta L., Brasiello A., Di Matteo M. 2006. Physical and chemical changes in minimally processed green asparagus during cold-storage. *Food Chemistry*, 101: 274 – 280.
- Alcalá A., Fernández N.N., Aguirre C.M. 2008. Respuesta del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a la fertilización nitrogenada. Disponible en: www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2002/05-Agrarias/A-083.pdf. Acceso: Febrero 2008.
- Altunkaya A., Gökmen V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*, 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. (pp 153 – 171). En: *Minimally processed fruits and vegetables, fundamental aspects and applications*. Alzamora S.M., Tapia M.S., Lopez-Malo A. (Eds.) Aspen Publishers Inc., Gaithersburg.
- Anikwe M., Mbah C., Ezeaku P., Onyia V. 2007. Tillage y plastic mulch effects on soil properties y growth y yield of cocoyam (*Colocasia esculenta*) on an ultisol in southeastern Nigeria. *Soil & Tillage Research*, 93: 246 – 272.
- Anónimo, 2010a. Disponible en: www.fao.org/inpho/. Acceso: Marzo 2010.
- Anónimo, 2010b. Disponible en: www.mercadocentral.com.ar/site2006/publicaciones/red_alerta/boletin/boletin0605.pdf. Acceso: Mayo 2010.
- Anónimo, 2009. Disponible en: www.plantstress.com/methods/RWC.htm. Acceso: Septiembre 2009.
- Anónimo, 2008. Disponible en: http://www.ipm.msu.edu/CAT02_veg/V05-08-02.htm. Acceso: Agosto 2008.

- AOAC, 1995. Official methods of analysis. 16ta Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, Estados Unidos.
- Arias Velázquez C.J., Toledo Hevia J. 2000. *Manejo postcosecha de frutas tropicales*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. (185 p.).
- Artés F., Marínez J.A. 1996. Influence of packaging treatments on the keeping quality of 'Salinas' lettuce. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 29: 664 – 668.
- Arthey D., Dennis C. 1992. Procesado de hortalizas, Acribia, Zaragoza. España.
- ASHRAE. 1994. Commodity storage requirements. (pp. 251 – 253). American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc., Atlanta.
- Audisio M., Dante D., De Cicco A., Siciliano M. 1995. Il contenuto di vitamina C nei pepperoni (*Capsicum annum*) delle cultivar Rubra e Gold – en King in relazione al grado di maturazione e alle modalità di conservazione. *La Rivista di scienza dell'alimentazione*, 24: 543 – 547.
- Aycicek H., Oguz U., Karci K. 2006. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 209: 197 – 201.
- Bacelar E.A., Santos D.L., Moutinho-Pereira J.M., Gonçalves B.C., Ferreira H.F., Correia C.M. 2006. Immediate responses and adaptive strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science*, 170(3): 596 – 605.
- Bai L.P., Sui F.G., Ge T.D., Sun Z.H., Lu Y.Y., Zhou G.S. 2006. Effect of Soil Drought Stress on Leaf Water Status, Membrane Permeability and Enzymatic Antioxidant System of Maize. *Pedosphere*, 16(3): 326 – 332.
- Barriga M., Trachy G., Willemot C., Simard R. 1991. Microbial changes in shredded iceberg lettuce stored under controlled atmospheres. *Journal of Food Science*, 56(6):1586 – 1599.
- Benítez A. 2007. Comunicación personal, Sierra de los padres, 29 de octubre de 2007.
- Benítez A. 2009. Comunicación personal, Sierra de los padres, 09 de septiembre de 2009.
- Bermúdez M.J., Castillo M., Pérez E., Ruiz-Chena C., Delgado H. 2000. Influencia de las características del suelo en el acogollado de lechugas (*Lactuca sativa* var. capitata L-4). *Ars Pharmaceutica*, 41:3; 269 – 278.
- Boletín Agroclimático. 2008. Servicio Meteorológico Nacional. Disponible en: www.smn.gov.ar/?mod=agro&id=11. Acceso: Febrero 2008.
- Boletín Temático sobre Tecnologías Sociales Nº 6, 2009. Instituto de Estudios del Hambre, España. Disponible en: www.ieham.org/html/bibliotecaTecn.asp?lengua=1. Acceso: Noviembre 2009.
- Bolin H.R., Huxsoll C.C. 1991. Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad-cut lettuce. *Journal of Food Science*, 56(1): 60 – 62.
- Brackett R.E. 1997. Alteración microbiológica y microorganismos patógenos de frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas. (pp. 263–364). En: *Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas*. Wiley R.C. (Ed.) Zaragoza, España.
- Brackett R.E. 1999. Incidence, contributing factors and control of bacterial pathogens in produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 305 – 311.
- Brandl M.T., Amundson R. 2008. Leaf age as a risk factor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(8): 2298 – 2306.
- Breidt F., Fleming H. 1997. Using lactic acid bacteria to improve the safety of minimally processed fruits y vegetables. *Food Technology*, 51: 46 – 51.

- Brocklehurst T., Zaman-wong C., Lund B. 1987. A note on the microbiology of retail packs of prepared salad vegetables. *Journal of Applied Bacteriology*, 63: 409 – 415.
- Brosnan T., Sun D.W. 2001. Precooling techniques and applications for horticultural products – a review. *International Journal of Refrigeration*, 24: 154 – 170.
- Brumm I., Schenk M., Gysi C. 1993. Influence of nitrogen supply on the occurrence of calcium deficiency in field grown lettuce. *Acta Horticulturae*, 339: 125 – 136.
- Bunning V., Crawford R., Tierney J., Peeler J. 1992. Thermotolerance of heat-shocked *Listeria monocytogenes* in milk exposed to high-temperature, short-time pasteurization. *Applied Environmental Microbiology*, 58(6): 2096 – 2098.
- Burdon J., Clark C. 2001. Effect of postharvest water loss on “Hayward” kiwifruit water status. *Postharvest Biology and Technology*, 22: 215 – 225.
- Calbo G.A. 1999. Alface. Disponible en: www.enph.embrapa.br. Acceso: Noviembre 2008.
- Caldwell C.R., Britz S.J. 2006. Effect of supplemental ultraviolet radiation on the carotenoid and chlorophyll composition of green house-grown leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 637 – 644.
- Cantwell M. 2002. Optimal handling conditions for fresh produce. (pp. 511–518). En: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Kader A.A. (Ed.) University of California, Division of Agricultural and Natural Resources, Oakland.
- Carlin F., Nguyen-the C., Hilbert G., Chambroy Y. 1990. Modified atmosphere packaging of fresh, "ready-to-use" grated carrots in polymeric films. *Journal of Food Science*, 55: 1033 – 1038.
- Carranza C., Lancho O., Miranda D., Chaves B. 2009. Análisis del crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) ‘Batavia’ cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá. *Agronomía Colombiana*, 27(1): 41 – 48.
- Castañer M., Gil M.L., Artés F., Tomas-Barberan F.A. 1996. Inhibition of browning of harvested head lettuce. *Journal of Food Science*, 61: 314 – 316.
- Chandra D., Matsui T., Suzuki H., Kosugi Y. 2008. Changes in some physio-biochemical characteristics in lettuce during storage at low temperature. *Journal of Biological Sciences*, 8(2): 398 – 403.
- Chiesa A. 2010. Factores precosecha y postcosecha que inciden en la calidad de la lechuga. *Horticultura Argentina*, 29(68), 28 – 32.-
- Chiesa A., Frezza D., Moccia S., Oberti A., Fraschina A., Díaz L. 2005. Vegetable Production Technology and Postharvest Quality. *Acta Horticulturae*, 682: 565 – 572.
- Chutichudet B., Chutichudet P., Kaewsit S. 2011. Influence of development stage on activities of polyphenol oxidase, internal characteristics and colour of lettuce cv. Grand Rapids. *American Journal of Food Technology*, 6(3): 215 – 225.
- CIE. 1978. Recommendations on uniform colour spaces – colour difference equations, psychometric colour terms. Supplement No. 2. CIE Publication No. 15(E-1-3.1) 1971/(TC-1-3). Paris: CIE.
- Clydesdale F.M. 1978. Colorimetry—methodology and applications. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 10: 243–301.
- Coelho A.F., Gomes E.P., Sousa A.P., Gloria M.B.A. 2005. Effect of irrigation level on yield and bioactive amine content of American lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1026 – 1032.
- Conte A., Conversa G., Scrocco C., Brescia 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 Biology and Technology*, 50: 190 – 196.

- Cook R.L. 1998. International trends in the fresh fruit and vegetable sector. Davis, Universidad de California, Departamento de Agricultura y Recursos Económicos. Disponible en: www.agecon.ucdavis.edu:80/facultypages/cook/articles.htm. Acceso: Septiembre 2007.
- Côme D., Corbineau F. 2002. Clasificación y principales características fisiológicas de las hortalizas. (pp. 215 – 225). En: *Tecnología de las hortalizas*. Tirilly Y., Bourgeois C.M. (Eds.) Editorial Acibia, Zaragoza.
- Cracker L.E., Seibert M. 1983. Light and the development of «Grand Rapids» lettuce. *Canadian Journal of Plant Science*, 63: 277 – 281.
- Cran D.G., Possinghani J.V. 1974. The effect of cell age on chloroplast structure and chlorophyll in cultured spinach leaf discs. *Protoplasma*, 79: 197 – 213.
- Custic M., Poljak M., Cosic T., Babik I., Rumpel J. 1994. Nitrate content in leafy vegetables as related to nitrogen fertilization in Croatia. *Acta Horticulturae*, 371: 407 – 412.
- Daiss N., Lobo M.G., Gonzalez M. 2008. Changes in Postharvest Quality of Swiss Chard Grown Using 3 Organic Preharvest Treatments. *Journal of Food Science*, 73(6): S314 – S320.
- Dapigny L., Robin P., Raynal-Lacroix C., FleurY A. 1996. Relation entre la vitesse relative de croissance et la teneur en azote chez la laitue (*Lactuca sativa* L.). Effects de l'ombrage et du niveau de l'alimentation minérale. *Agronomie*, 16: 529 – 539.
- Davey M.W., Van Montagu M., Inzé D., Sanmartin M., Kanellis A., Smirnoff N., Benzie I.J.J., Strain J.J., Favell D., Fletcher J. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 825 – 860.
- Defilipis C., Pariani S., Jimenez A., Bouzo C. 2006. Respuesta al riego de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivada en invernadero. III Jornadas de Actualización en Riego y Fertirriego, Mendoza, Argentina.
- de Grazia J., Tifton P.A., Chiesa Á. 2001. Efecto de la época de siembra, radiación y nutrición nitrogenada sobre el patrón de crecimiento y el rendimiento del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.*, 16(3): 355 – 365.
- De Man J., Rogosa M., Sharpe M. 1960. A medium for cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23: 130 – 135.
- Del Nobile M.A., Baiano A., Benedetto A., Massignan L. 2006. Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging. *Journal of Food Engineering*, 74: 60 – 69.
- Diallo A.T., Samb P.I., Roy-Macauley H. 2001. Water status and stomatal behavior of cowpea, *Vigna Unguiculata* (L.) Walp, plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. *European Journal of Soil Biology*, 37: 187 – 196.
- Dirección Provincial de Estadística, Provincia de Buenos Aires. 2005. Censo Hortiflorícola de la Provincia de Buenos Aires 2005. Argentina. Disponible en: http://www.maa.gba.gov.ar/archivos/informe_censo_hf.pdf. Acceso: Septiembre 2008.
- Di Benedetto A. 2005. *Manejo de Cultivos Hortícolas: bases ecofisiológicas y tecnológicas*. Primera edición. Buenos Aires, Orientadora gráfica Editora, 384 p.
- Drews M. 1996. Nitrate, vitamin C, and sugar content of *Lactuca sativa* depending on cultivar and head development. *Gartenbauwissenschaft*, 61(3): 122 – 129.
- Drews M., Schonhof I., Krumbein A. 1997. Content of minerals, vitamins, and sugars in iceberg lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.) grown in the greenhouse dependent on cultivar and development stage. *Gartenbauwissenschaft*, 62(2): 65 – 72.
- Eitel J.U.H., Gessler P.E., Smith A.M.S., Robberecht R. 2006. Suitability of existing and novel spectral indices to remotely detect water stress in *Populus* spp. *Forest Ecology Management*, 229: 170 – 182.

- El-Saidi M.T., Gabr A.I., El-Kaidi M., El-Zeiny H.A. 1975. The effect of certain pre-sowing treatments and early phosphorous supplement on cell sap concentration and water fractions in leaves of maize (*Zea mays* L.) plants grown under soil moisture stress conditions. *Biology Plant*, 17: 281 – 291.
- Esparza Rivera J.R., Stone M.B., Stushnoff C., Pilon-Smiths 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. *Journal of Food Engineering*, 71(3): 270 – 276.
- Fennema O.R. 1993. *Química de los Alimentos*. (pp. 590 – 741). Editorial Acirbia, Zaragoza.
- Ferrante A., Incrocci L., Maggini R., Serra G., Tognoni F. 2004. Colour changes of fresh-cut leafy vegetables during storage. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 2 (3/4): 1371 – 1374.
- Ferrante A., Maggiore T. 2007. Chlorophyll a fluorescence measurements to evaluate storage time and temperature of Valeriana leaf vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 73 – 80.
- Figuroa O. 2007. Comunicación personal, El Coyunco, 30 de octubre de 2007.
- Figuroa O. 2009. Comunicación personal, El Coyunco, 08 de septiembre de 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. 2001. *Environmental physiology of plants*. 3ra Ed. Academia Press: Londres. 367 p.
- Fontanetti Verdial M., Santos de Lima M., Morgor A., Goto R. 2001. Production of Iceberg lettuce using mulches. *Scientia Agricola*, 58(4): 737 – 740.
- Fonseca J.M. 2006. Postharvest Quality and Microbial Population of Head Lettuce as Affected by Moisture at Harvest. *Journal of Food Science*, 71(2): M45 – M49.
- Foyer C., Rowell J., Walker D. 1983. Measurement of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination. *Planta*, 157: 239 – 244.
- Francis F.J. 1980. Color quality evaluation of horticultural crops. *HortScience*, 15: 14–15.
- Francis F.J., Clydesdale F.M. 1975. Green vegetables. (pp. 214 – 226). En: *Food Colorimetry Theory and Application*, Francis F.J. (Ed.) AVI, Wesport.
- Francis G.A., O'Beirne D. 1998. Effects of the indigenous microflora of minimally processed lettuce on the survival y growth of *Listeria innocua*. *International Journal of Food Science and Technology*, 33: 477 – 488.
- Francis G.A., Thomas C., O'Beirne D. 1999. The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 1 – 22.
- Franz C.M.A.P., Helzapfel W.H., Stiles M.E. Enterococci at the crossroads of food safety?. *International Journal of Food Microbiology*, 47(1): 1 – 24.
- Galvan Vivero G., Rodríguez Lagreca J. 2010. Cultivos de Hoja. Lechuga: Generalidades y ecofisiología. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Uruguay. Disponible en: http://www.fagro.edu.uy/~horticultura/CURSO%20HORTICULTURA/CULTIVOS_HOJA/Cultivos%20de%20Hoja%20Ecofisiolog%EDa.pdf. Acceso: Diciembre 2010.
- Gálvez A., Abriouel H., Benomar N., Lucas R. 2010. Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. *Current Opinion in Biotechnology*, 21: 142 – 148.
- Garbi M. 2009. Universidad Nacional de Luján, Departamento de Tecnología, Cátedra Producción Vegetal III (Horticultura). Disponible en: <http://www.unlu.edu.ar/~hort/>. Acceso: Octubre 2009.
- García P., Rodríguez L., Rodríguez A., Martínez B. 2010. Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends in Food Science & Technology*, 21: 373 – 382.

- Gaviola S. 1996. Factores de manejo que inciden sobre la calidad de las hortalizas. *Avances en horticultura*, 1(1): 1 – 15. (Ed. on-line). Disponible en: http://www.horticulturaar.com.ar/avances_en_horticultura.htm. Acceso: Octubre 2009.
- Giannakourou M.C., Taoukis P.S. 2003. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. *Food Chemistry*, 83: 33 – 41.
- Gibson A.M., Roberts T.A. 1989. Predicting microbial growth: Development of a mathematical model to predict bacterial growth responses. *Food Australia*, 41: 1075 – 1079.
- Glenn E.P. 1984. Seasonal effects of radiation and temperature of greenhouse lettuce in a high insolation desert environment. *Scientia Horticulturae*, 22: 9 – 21.
- Gnanasekharan V., Shewfelt R.L., Chinnan M.S. 1992. Detection of Color Changes in Green Vegetables. *Journal of Food Science*, 57(1): 149 – 154.
- Gonçalves E.M., Cruz R.M.S., Abreu M., Brandão T.R.S., Silva C.L.M. 2009. Biochemical and colour changes of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) during freezing and frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 93: 32 – 39.
- Goñi M.G. 2011. Método de cultivo como determinante de calidad inicial y vida útil de lechuga manteca almacenada con control de atmósfera. Tesis de *Magister Scientiae* en Producción Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Guevara-Arauz J.C., Yahia E.M., Cedeño L., Tijssens L.M.M. 2006. Modeling the effects of temperature and relative humidity on gas exchange of prickly pear cactus (*Opuntia* spp.) stems. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 39: 796 – 805.
- Guevara J.C., Yahia E.M., Beaudry R.M., Cedeño L. 2006. Modeling the influence of temperature and relative humidity on respiration rate of prickly pear cactus cladodes. *Postharvest Biology and Technology*, 41: 260 – 265.
- Guo Z, Gu S. 2000. Effect of film mulching methods on yield y economic efficiency of millet. *Agricultural Research of Arid Areas*, 18(2): 33 – 39.
- Gutkowsky D., Terranova S. 1991. Physical aspects of soil solarization. (pp. 48 – 68). En: *Soil solarization. Proceedings of the First International Conference on Soil Solarization*. Amman, Jordan. FAO Plant Production y Protection, Roma.
- Haard F.N. 1993. Características de los tejidos vegetales comestibles. (pp. 961 – 1024). En: *Química de los Alimentos*. Fennema O.R. (Ed.) Editorial Acribia, Zaragoza.
- Han J., Gomes-Feitosa C.L., Castell-Perez A., Moreira R.G., Silva P.F. 2004. Quality of Packaged Romaine Lettuce Hearts Exposed to Low-dose Electron Beam Irradiation. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 37: 705 – 715.
- Harris L., Daeschel M., Stiles M., Klaenhammer T. 1989. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 52: 384 – 387.
- He S.Y., Li Y.F. 2008. Experimental study and process parameters analysis on the vacuum cooling of iceberg lettuce. *Energy Conversion and Management*, 49: 2720 – 2726.
- He S.Y., Feng G.P., Yang H.S., Wu Y., Li Y.F. 2004. Effects of pressure reduction rate on quality and ultrastructure of iceberg lettuce after vacuum cooling and storage. *Postharvest Biology and Technology*, 33: 263 – 273.
- Heaton J.W., Lencki R.W., Marangoni A.G. 1996. Kinetic model for chlorophyll degradation in green tissue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 399 – 402.
- Heaton J.W., Marangoni A.G. 1996. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. *Trends in Food Science and Technology*, 7: 8 – 15.

- Herppich W.B., Mempel H., Geyer M. 1999. Effects of postharvest mechanical and climatic stress on carrot tissue water relations. *Postharvest Biology and Technology*, 16: 43 – 49.
- Hertog M.L.A.T.M., Ben-Arie R., Róth E., Nicolai B.M. 2004. Humidity and temperature effects on invasive and non-invasive firmness measures. *Postharvest Biology and Technology*, 22: 79 – 91.
- Hewett E.W. 2006. An overview of preharvest factors influencing postharvest quality of horticultural products. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 1(1): 4 – 15.
- Higashi-Okai K., Otani S., Okai Y., 1998. Potent suppressive activity of pheophytin a and b from the nonpolyphenolic fraction of green tea (*Camellia sinensis*) against tumor promotion in mouse skin. *Cancer Letters*, 129: 223 – 228.
- Hodges D.M., Toivonen P.M.A. 2008. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 155 – 162.
- Huelin F.E., Coggiola I.M., Sidhu G.S., Kennett B.H. 1971. The anaerobic decomposition of ascorbic acid in the pH range of foods and in more acid solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 22: 540 – 542.
- ICMSF, 1983. Métodos recomendados para el análisis microbiológicos en alimentos. In: Microorganismos de los alimentos I. Técnicas de análisis microbiológicos. 2da.Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Ihl M., Aravena L., Scheuermann E., Uquiche E., Bifani V. 2003. Effect of immersion solutions on shelf life of minimally processed lettuce. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 36: 591 – 599.
- INDEC. 2002. Censo Nacional Agropecuario 2002. Argentina. Disponible en: http://www.indec.gov.ar/agropecuario/cna_principal.asp. Acceso: Marzo 2008.
- Isengard H.D. 2001. Water content, one of the most important properties of food. *Food Control*, 12: 395 – 400.
- Isik E., Celik E. 2006. The effect of precooling of lettuces and green beans on the ratio of weight loss and net weight after storage. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9: 2606 – 2611.
- Ismail B., Haffar I, Baalbaki R, Henru J. 2001. Development of a total quality scoring system based on consumer preference weightings and sensory profiles: application to fruit dates (Tamr). *Food Quality and Preference*, 12: 499 – 506.
- Izumi H., Watada A.E., Douglas W. 1997. Controlled atmosphere and subsequent air storages of broccoli florets at various temperatures. *Food Science and Technology International Tokyo*, 3(1): 34 – 40.
- Jacob-Wilk D., Holland D., Goldschmidt E.E., Riov J., Eyal Y. 1999. Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: Isolation and functional expression of the chlase 1 gene from ethylene-treated citrus fruit and its regulation during development. *The Plant Journal*, 20: 653 – 661.
- Jacques M.A. 1996. The effect of leaf age and position on the dynamics of microbial population on aerial plant surfaces. (pp. 233 – 248). En: *Aerial Plant Surface Microbiology*. Morris C., Nicot P. C. and Nguyen-the C. (Eds.) Plenum Press, Nueva York.
- Jedermann R., Lang W. 2007. Semi passive RFID and beyond – steps towards automated quality models tracing in the food chain. *International Journal of Radio Frequency Identification Technology and Applications*, 1(3): 247 – 259.
- Jones H.G., Tardieu F. 1998. Modelling water relations of horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae*, 74: 21–26.
- Kader A.A., Lipton W.J., Morris L.L. 1973. Systems for scoring quality of harvested lettuce. *HortScience*, 8(5): 408 – 409.
- Kader A.A. 2002a. Postharvest Biology and Technology: An overview (pp: 39 – 47). En Kader, A.A. (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Davis.

- Kader A.A. 2002b. Quality and safety factors: Definition and Evaluation for Fresh Horticultural Crops. (pp. 279–286). En: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Kader A.A. (Ed.) University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, California.
- Kader A.A. 2008. Perspective flavor quality of fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 1863 – 1868.
- Kader A.A., Lipton W.J., Morris L.L. 1973. Systems for scoring quality of harvested lettuce. *Hortscience*, 8(5): 408 – 409.
- Kader A.A., Rolle R.S. 2004. The role of post-harvest management in assuring the quality and safety of horticultural produce. FAO Agricultural Services, Bulletin 152. pp. 1-5. FAO, Roma.
- Kays S.J. 1999. Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 233 – 247.
- Kays S.J., Paull R.E. 2004. Stress in harvested products. (pp. 355 – 414). En: *Postharvest Physiology of Perishable Plant Products*. Kays S.J., Paull R.E. (Eds.) AVI, Nueva York.
- Kim J.K., Luo K., Gross K.C. 2004. Quality and Shelf-life of Salad Savoy under Different Storage Temperatures. *Journal of Korean Society of Horticultural Science*, 45(6): 307 – 311.
- King A.D., Magnuson J.A., Török T., Goodman N. 1991. Microbial Flora and Storage quality of partially processed lettuce. *Journal of Food Science*, 56(2): 459 – 461.
- King V.A.E., Liu C.F., Liu Y.J. 2001. Chlorophyll stability in spinach dehydrated by freeze-drying and controlled low temperature vacuum dehydration. *Food Research International*, 34: 167 – 175.
- Klaenhammer T. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochemistry*, 70: 337 – 349.
- Knight S.L., Mitchell C.A. 1983. Enhancement of lettuce yield by manipulation of light and nitrogen nutrition. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 108: 750 – 754.
- Knight S.L., Mitchell C.A. 1988. Effect of incandescent radiation on photosynthesis, growth rate and yield of «Waldmann's Green» leaf lettuce. *Scientia Horticulturae*, 35: 37 – 49.
- Koca N., Karadeniz F., Burdurlu H.S. 2006. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry*, 100: 609 – 615.
- Konstantopoulou E., Kapotis G., Salachas G., Petropoulos S.A., 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.
- Koukounaras A., Siomos A.S., Sfakiotakis E. 2006. 1-Methylcyclopropene prevents ethylene induced yellowing of rocket leaves. *Postharvest Biology and Technology*, 41: 109 – 111.
- Koukounaras A., Siomos A.S., Sfakiotakis E. 2007. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality of rocket (*Eruca sativa Mill.*) leaves as affected by leaf age and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 167 – 173.
- Krug H. 1986. Gemueseproduktion. Paul Parey, Berlin, pp 325-349.
- Kuehl R.O. 2001. Diseño de experimentos. pp 215-247. México DF, México: Thompson Learning International.
- Labadie J., Dousset X. 1988. Les flore d'alteration des aliments: les Pseudomonas. En Microbiologie Alimentaire 1. (pp.150). Collection sciences et techniques agroalimentaires, Paris: APRIA.
- Lajolo F.M., Lanfer-Márquez U.M. 1982. Chlorophyll degradation in a spinach system at low and intermediate water activities. *Journal of Food Science*, 47: 1995 – 1998.
- Lamont W. 1999. Vegetable production using plasticulture. Extensión Bulletins. The Pennsylvania State University, USA. www.agnnet.org/library/vegetabl/practice.html. Acceso: Julio 2007.

- Landrigan M., Morris S.C., Eamus D., McGlasson W.B. 1996. Postharvest water relationships and tissue pardeamiento of rambutan fruit. *Scientia Horticulturae*, 66: 201 – 208.
- Lavelli V., Pagliarini E., Ambrosoli R., Minati J., Zanoni B. 2006. Physicochemical, microbial, and sensorial parameters as indices to evaluate the quality of minimally-processed carrots. *Postharvest Biology and Technology*, 40(1): 34 – 40.
- Lee C.Y., Massey L.M. Jr, Van Buren J.P. 1982. Effects of postharvest handling and processing on vitamin contents of peas. *Journal of Food Science*, 47: 961 – 964.
- Lee S.K., Kader A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207 – 220.
- Lefsrud M., Kropsell D., Wenzel A., Sheehan J. 2007. Changes in kale (*Brassica oleracea* L. var *acephala*) carotenoid and chlorophyll pigment concentrations during leaf ontogeny. *Scientia Horticulturae*, 112: 136 – 141.
- Leja M., Rozek S., Myczkowski J. 1994. The effect of fertilization with different forms of nitrogen on greenhouse lettuce quality and its changes during storage. III. Phenolic metabolism. *Folia Horticulturae*, 6: 63 – 72.
- León A., Frezza D., Chiesa A. 2004. Edad a cosecha y calidad en poscosecha de lechuga mantecosa mínimamente procesada. *Revista FAVE – Ciencias Agrarias*, 3: 25 – 35.
- León A., Frezza D., Chiesa A. 2007. Evolución del color en lechuga (*Lactuca sativa* L.) mantecosa mínimamente procesada: Efecto del troceado y la inmersión en cloruro de calcio. *V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones*, 5: 666 – 675.
- Lester G.E., Oebker N.F., Coons J. 1994. Preharvest furrow and drip irrigation schedule effects on postharvest muskmelon quality. *Postharvest Biology and Technology*, 4: 57 – 63.
- Li Y., Brackett R., Shewfelt R., Beuchat L. 2001. Changes in appearance y natural microflora on iceberg lettuce treated in warm, chlorinated water y the stored at refrigeration temperature. *Food Microbiology*, 18: 299 – 308.
- Li Q., Kubota C. 2009. Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 59 – 64.
- Li F., Song Q., Jemba P., Shi Y. 2004. Dynamics of soil microbial biomass C and soil fertility in cropland mulched with plastic film in a semiarid agro-ecosystem. *Soil Biol & Biochemistry*, 36: 1893 – 1902.
- Liakatas A., Clark A., Monteita J. 1986. Measurement of the heat balance under plastic mulches. Part I. Radiation Balance y soil heat flux. *Agriculture and Meteorology*, 36: 227 – 239.
- Lin W.C., Hall J.W. 2003. Shelf life of greenhouse lettuce affected by growing and postharvest conditions. *Acta Horticulturae*, 628: 129 – 134.
- Liu X. 2000. Research on comprehensive techniques for mulched broad beans in dryland farming areas. *Agricultural Research of Arid Areas*, 18(2): 40 – 46.
- López Camello A. 2003. *Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas, Del campo al mercado*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. (185 p.).
- López Cruz I.L., Ramirez Arias A., Rojano Aguilar A. 2005. Modelos matemáticos de hortalizas en invernadero: trascendiendo la contemplación de la dinámica de cultivos. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 11(2): 257 – 267.
- López-Gálvez G., Saltveit M., Cantwell M., 1996. The visual quality of minimally processed lettuces stored in air or controlled atmosphere with emphasis on romaine and iceberg types. *Postharvest Biology and Technology*, 8: 179 – 190.
- Lorenz H.P., Wiebe H.J. 1980. Effect of temperature on photosynthesis of lettuce adapted to different light and temperature conditions. *Scientia Horticulturae*, 13: 115 – 123.

- Lukasse L.J.S., Polderdijk J.J. Predictive modelling of post-harvest quality degradation in perishables, applied to mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 59: 191 – 198.
- Luning P.A., Marcelis W.J. 2007. A conceptual model of food quality management functions based on techno-managerial approach. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 159 – 166.
- Luo Y., Bhagwat A. 2008. Safe Leafy greens – Before & after bagging. *Agricultural Research*, 56(6): 12 – 14.
- Maalekuu K., Elkind Y., Leikin-Frenkel A., Lurie S., Fallik E. 2006. The relationship between water loss, lipid content, membrane integrity and LOX activity in ripe pepper fruit after storage. *Postharvest Biology and Technology*, 42: 248 – 255.
- Maguire K.M., Banks N.H., Opara L.U. 2001. Factors affecting mass loss of apples. *Horticultural Reviews*, 25: 197 – 234.
- Mahajan P.V., Oliveira F.A.R., Macedo I. 2008. Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 84: 281 – 288.
- Marangoni A.G. 1996. Kinetic model for chlorophyll degradation in green tissue. 2. Pheophorbide degradation to colorless compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44: 3735 – 3740.
- Marfil P.H.M., Santos E.M., Telis V.R.N. 2008. Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 41: 1642 – 1647.
- Martín-Diana A.B., Rico D., Barry-Ryan C., Frías J.M., Henehan G.T.M., Barat J.M. 2007. Efficacy of steamer jet-injection as alternative to chlorine in fresh cut lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 97 – 107.
- Martín-Diana A.B., Rico D., Barry-Ryan C., Frías J.M., Mulcahy J., Henehan G.T.M. 2005. Effect of calcium lactate concentration and temperature washing treatments on quality retention of salad-cut Iceberg lettuce. *Food Research International*, 38: 729 – 740.
- Martínez J.A., Artes F. 1999. Effect of packaging treatments and vacuum-cooling on quality of winter harvested iceberg lettuce. *Food Research International*, 32: 621 – 627.
- Martínez J.P., Silva H., Ledent J.F., Pinto M. 2007. Effect of drought on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Journal of Agronomy*, 26: 30 – 38.
- Martínez-Romero D., Serrano M., Bailén G., Guillén F., Zapata P.J., Valverde J.M., Castillo S., Fuentes M., Valero D. 2008. The use of natural fungicide as an alternative to preharvest synthetic fungicide treatments to control lettuce deterioration during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 47: 54 – 60.
- Mattei F., Sebastiani A.L., Gibbon D. 1973. The effect of radiant energy on growth of *Lactuca sativa* L. *Journal of Horticultural Science*, 48: 311 – 313.
- Mattheis J.P., Fellman J.K. 1999. Preharvest factors influencing flavor of fresh fruit and Vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 227 – 232.
- Maxcy R. 1982. Fate of microbial contaminants in lettuce juice. *Journal of Food Protection*, 45: 335 – 338.
- Mc Donald K., Sun D.W. 2000. Vacuum cooling technology for the food processing industry: a review. *Journal of Food Engineering*, 45: 55 – 65.
- McMeekin T.A., Hill C., Wagner M., Dahl A., Ross T. 2010. Ecophysiology of food-borne pathogens: Essential knowledge to improve food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1): S64 – S78.
- Misik S. 2000. Bound water in vine cane studied by microwave method. *Acta Horticulturae*, 526: 177 – 182.
- Molnár P.J. 1995. A model for overall description of food quality. *Food Quality and Preference*, 6: 185 – 190.

- Mónaco E., Chiesa A., Trincherio G., Frascina A. 2005. Selección de películas poliméricas para su empleo con lechuga en atmósfera modificada. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 34(1): 59 – 70.
- Mondino M.C., Ferratto J., Firpo I., Rotondo R., Ortiz Mackinson M., Grasso R., Calani P., Longo A. 2007. Pérdidas poscosecha de lechuga en la región de Rosario, Argentina. *Horticultura Argentina*, 26(60): 17 – 24.
- Moniruzzaman M. 2006. Effects of plant spacing and mulching on yield and profitability of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agriculture & Rural Development*, 4: 107 – 111.
- Moreira M., Roura S., del Valle C. 2003. Quality of Swiss chard produced by conventional y organic methods. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 36: 135 – 141.
- Moreira M.R., Ponce A.G., del Valle C.E., Roura S.I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 38(5): 565 – 570.
- Moreira M.R., Ponce A.G., del Valle C.E., Ansorena R., Roura S.I. 2006. Effects of abusive temperatures on the postharvest quality of lettuce leaves: ascorbic acid loss and microbial growth. *Journal of Applied Horticulture*, 8(2): 109 – 113.
- Moreno M.R.F., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E., De Vuyst L. 2006. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106(1): 1 – 24.
- Mossel D.A., Moreno García B. (Eds.) 1985. Microbiología de alimentos. Acribia S.A. Zaragoza, España. pp. 214 – 272.
- Mrema G.C., Rolle R.S. 2002. Status of the postharvest sector and its contribution to agricultural development and economic growth. 9^o *JIRCAS International Symposium: Value-Addition to horticultural products*, 13 – 20.
- Mulabagal V., Ngouajio M., Fair A., Zhang Y., Gottumukkala A.L., Fair M.G. 2010. In Vitro evaluation of red and green lettuce (*lactuca sativa*) for functional food properties. *Food Chemistry*, 118: 300 – 306.
- Muller A. 1991. Comportamento termico do solo e do ar em alface (*Lactuca sativa* L.) para diferentes tipos de cobertura do solo. Piracicaba. Dissertacao (Maestrado)-Scola Superior de Agricultura, Universidade de Sao Pablo. 77 p.
- Müller A., Steinhart H. 2007. Recent developments in instrumental analysis for food quality. *Food Chemistry*, 101: 1136 – 1144.
- Negi P.S., Roy S.K. 2000. Effect of blanching and drying methods on beta-carotene, ascorbic acid and chlorophyll retention of leafy vegetables. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 33: 295 – 298.
- Newman J.M., Hilton H.W., Clifford S.C., Smith A.C. 2005. The mechanical properties of lettuce: a comparison of some agronomic and postharvest effects. *Journal of Material Science*, 40: 1101 – 1104.
- Ngouajio M., McGiffen Jr. M.E.; Hutchinson C.M. 2003. Effect of cover crop and management system on weed populations in lettuce. *Crop Protection*, 22: 57 – 64.
- Ngure J.W., Aguyoh J.N., Gaoquiong L. 2009. Interactive effects of packaging and storage temperatures on the shelf life of okra, *Journal of Agriculture and Biological Science*, 4(3): 44 – 49.
- Nguyen T.A., Verboven P., Schenk A., Nicolai B.M. 2007. Prediction of water loss from pears (*Pyrus communis* cv. Conference) during controlled atmosphere storage as affected by relative humidity. *Journal of Food Engineering*, 83: 149 – 155.
- Nicolle C., Cardinault N., Gueux E., Jaffrelo L., Rock E., Mazur A. 2004. Health effect of vegetable-based diet: Lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. *Clinical Nutrition*, 23: 605 – 614.
- Noichinda S., Bodhipadma K., Mahamontri C., Narongruk T., Ketsa S. 2007. Light during storage prevent loss of ascorbic acid, and increase glucose and fructose levels in Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*). *Postharvest Biology and Technology*, 44: 312 – 315.

- Nunes M.C.N., Brecht J.K., Morais A., Sargent S.A. 1998. Controlling temperature and water loss to maintain ascorbic acid levels in strawberries during postharvest handling. *Journal of Food Science*, 63: 1033 – 1036.
- Nunes M.C.N., Emond J.P. 2007. Relationship between weight loss and visual quality of fruits and vegetables. *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, 120: 235 – 245.
- Nunes M.C.N., Emond J.P., Brecht J.K. 2004. Quality curves for highbush blueberries as a function of the storage temperature. *Small Fruits Reviews*, 3: 423 – 440.
- 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 Biology and Technology*, 51: 232 – 241.
- Ogweno J.O., Song X.S., Hua W.H., Shi K., Zhou Y.H., Yu J.Q. 2009. Detached leaves of tomato differ in their photosynthetic physiological response to moderate high and low temperature stress. *Scientia Horticulturae*, 123: 17 – 22.
- Ohashi-Kaneko K., Takase M., Kon N., Fujiwara K., Kurata K. 2007. Effect of light quality on growth and vegetable quality in leaf lettuce, spinach and komatsuna. *Environmental Control in Biology*, 45: 189 – 198.
- Ohe M., Rapolu M., Mieda T., Miyagawa Y., Yabuta Y., Yoshimura K., Shigeoka S. 2005. Decline in leaf photooxidative-stress tolerance with age in tobacco. *Plant Science*, 168: 1487 – 1493.
- Osvald A., Stirn L.Z. 2008. A vehicle routing algorithm for the distribution of fresh vegetables and similar perishable food. *Journal of Food Engineering*, 85: 285 – 295.
- Ozturk H.M., Ozturk H.K. 2009. Effect of pressure on the vacuum cooling of iceberg lettuce. *International Journal of Refrigeration*, 32: 402 – 410.
- Page T., Griffiths G., Buchanan-Wollaston V. 2001. Molecular and biochemical characterization of postharvest senescence in broccoli. *Plant Physiology*, 125: 718 – 727.
- Paull R.E. 1999. Effects of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 263 – 277.
- Pavlou G.C., Ehalotis C.D., Kavvadias V.A. 2007. Effect of organic and inorganic fertilizers applied during successive crop seasons on growth and nitrate accumulation in lettuce. *Scientia Horticulturae*, 111: 319 – 325.
- Peil R.M., Galvez J.L. 2005. Reparto de materia seca como factor determinante de la producción de las hortalizas de fruto cultivadas en invernadero. *Revista brasileira de Agrociência*, 11(1): 5 – 11.
- Peng Y., Xu Y., Duan D., Mao L. 2009. Postharvest quality and physiological behavior of sweet potato () leaf stalks under three temperatures. *Agricultural Sciences in China*, 8(2): 244 – 248.
- Pereyra L., Roura S.I., del Valle C.E. 2005. Phenylalanine ammonia lyase activity in minimally processed Romaine lettuce. *Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie*, 38: 67 – 72.
- Peri C. 2006. The universe of food quality. *Food Quality and Preference*, 17: 3 – 8.
- Piagentini A.M., Mendez J.C., Guemes D.R., Pirovani M.E. 2005. Modeling changes of sensory attributes for individual and mixed fresh-cut leafy vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 38: 202 – 212.
- Ponce A., del Valle C., Roura S. 2004. Shelf Life of Leafy Vegetables Treated with Natural Essential Oils. *Journal of Food Science*, 69(1): 1 – 7.
- Ponce A., Roura S., del Valle C., Fritz R. 2002. Characterization of native microbial population of Swiss chard (*Beta vulgaris*, type cicla). *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 35: 331 – 337.

- Premuzic Z., De los Ríos A., Clozza M., Miniño H., Vilella F., de Yorio A.F. 1995. Absorción y distribución de macronutrientes en lechuga. *Horticultura Argentina*, 14(37): 68 – 73.
- Raccach M., Baker R., Regenstein J., Mulnix E. 1979. Potential application of microbial antagonism to extended storage stability of a flesh type food. *Journal of Food Science*, 44: 43 – 46.
- Ragaert P., Declieghere F., Debevere J. 2007. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 44: 185 – 194.
- Rascio A., Platani C., Scalfati G., Tonti A., Fonzo N.D. 1994. The accumulation of solutes and water binding strength in durum wheat. *Physiology Plant*, 90: 715 – 721.
- Rascio A., Platani C., Scalfati G., Tonti A., Fonzo N.D. 1998. Drought intensity effects on genotypic differences in tissue affinity for strongly bound water. *Plant Science*, 132: 121 – 126.
- Reid M.S. 2002. Maturation and maturity indices (pp: 55 – 63). En Kader, A.A. (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Davis.
- Rico D., Martín-Diana A.B., Barat J.M. and Barry-Ryan C. 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 373 – 386.
- Rico D., Martín-Diana A.B., Barry-Ryan C., Frías J.M., Henehan G.T.M., Barat J.M. 2008. Optimisation of steamer jet-injection to extend the shelf life of fresh-cut lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 431 – 442.
- Rinaldi R., Amodio M.L. Colelli G. 2010. Effect of temperature and exogenous ethylene on the physiological and quality traits of purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 58: 147 – 156.
- Riva M., Franzetti L., Galli A. 2001. Microbiological quality and shelf life modeling of ready-to-eat cicorino. *Journal of Food Protection*, 64: 228 – 234.
- Rodríguez P., Torrecillas A., Morales M.A., Ortuño M.F., Sánchez-Blanco M.J. 2004. Effect of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 113 – 123.
- Romani A., Pinelli P., Galardi C., Sani G., Cimato A., Heimler D. 2002. Polyphenols in greenhouse and open-air-grown lettuce. *Food Chemistry*, 79: 337 – 342.
- Romero P., Botía P. 2006. Daily and seasonal patterns of leaf water relations and gas exchange of regulated deficit-irrigated almond trees under semiarid conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 56(2): 158 – 173.
- Rong A., Akkerman R., Grunow M. 2009. An optimization approach for managing fresh food quality throughout the supply chain. *International Journal of Production Economics*. En prensa. (DOI: 10.1016/j.ijpe.2009.11.026).
- Roura S.I., Davidovich L.A., del Valle C.E. 2000. Quality Loss in Minimally Processed Swiss Chard Related to Amount of Damaged Area. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 33(1): 53 – 59.
- 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. *Italian Journal of Food Science*, 4(13): 391 – 397.
- Roura S.I., Moreira M.R., Ponce A., del Valle C. 2003. Dip treatments for Fresh Romaine lettuce. *Italian Journal of Food Science*, 3(15): 405 – 415.
- Roura S.I., Pereyra L., del Valle C.E. 2008. Phenylalanine ammonia lyase activity in fresh cut lettuce subjected to the combined action of heat mild shocks and chemical additives. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*, 41: 919 – 924.

- Rozek S., Leja M., Myczkowski J., Mareczsk A. 1994a. The effect of fertilization with different forms of nitrogen on greenhouse lettuce quality and its changes during storage. I. Content of certain nutritive compounds. *Folia Horticulturae*, 6: 41 – 51.
- Rozek S., Sady W., Leja M., Myczkowski J. 1994b. The effect of fertilization with different forms of nitrogen on greenhouse lettuce quality and its changes during storage. II. Nitrate and nitrite content. *Folia Horticulturae*, 6: 53 – 62.
- Ryder E.J., Whitaker T.W. 1995. Lettuce. (pp. 53 – 57). En: *Evolution of crop plants*. Smartt J., Simmonds N.W. (Eds.) Longman Scientific and Technical, Londres.
- Said S.A., Kashef H.A.E.L., Mazar M.M.E.L., Salama O. 1996. Phytochemical and pharmacological studies on *Lactuca sativa* seed oil. *Fitoterapia*, 67: 215 – 219.
- Salisbury F.B., Ross C.W. 1994. Fisiología Vegetal. (4ta edición). Grupo Editorial Iberoamericana, México. 759 p.
- Sams C.E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 249 – 254.
- Sanders J., Venema G., Kok J. 1999. Environmental stress responses in *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiology Reviews*, 23: 483 – 501.
- SAS Institute, 2002. SAS software version 9.0. SAS Inst. Inc., Cary, N.C., USA.
- Sastry S.K. 1985. Factors Affecting Shrinkage of Foods in Refrigerated Storage. *Pennsylvania Agricultural Experiment Station Journal Series*, 6760: 683 – 688.
- Sastry S.K., Buffington D.E. 1982. Transpiration rates of stored perishable commodities: A mathematical model and experiments on tomatoes. *ASHRAE Transactions*, 88: 159 – 184.
- Scaife M.A. 1973. The early growth of six lettuce cultivars as affected by temperature. *Annals of Applied Biology*, 74: 119 – 128.
- Schoefs B. 2004. Determination of pigments in vegetables. *Journal of Chromathography A*, 1054: 217 – 226.
- Seginer I., Buwalda F., Straten G. 1998. Nitrate concentration in greenhouse lettuce: a modeling study. *Acta Horticulturae*, 456: 189 – 197.
- Serafini M., Bugianesi R., Salucci M., Azzini E., Raguzzini A., Maiani, G. 2002. Effect of acute ingestion of fresh and stored lettuce (*Lactuca sativa*) on plasma total antioxidant capacity and antioxidant levels in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 88: 615 – 623.
- Settanni L., Corsetti A. 2008. Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121: 123 – 138.
- Shibairo S.I., Upadhyaya M.K., Toivonen P.M.A. 2002. Changes in water potential, osmotic potential, and tissue electrolyte leakage during mass loss in carrots stored under different conditions. *Scientia Horticulturae*, 95: 13 – 21.
- Shin Y., Liu R.H., Nock F.F., Holliday D., Watkins C.B. 2007. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 349 – 357.
- Shioi Y., Tomita N., Tsuchiya T., Takamiya K. 1996. Conversion of chlorophyllide to pheophorbide by Mg-dechelating substance in extracts of *Chenopodium album*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 34: 41 – 47.
- Simon P.W., Peterson C.E., Lindsay R.C. 1982. Genotype, soil, and climate effects on sensory and objective components of carrot flavor. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 107: 644 – 648.
- Singh V., Pallaghy C.K., Singh D. 2006. Phosphorus nutrition and tolerance of cotton to water stress II. Water relations, free and bound water and leaf expansion rate. *Field Crops Research*, 96: 199 – 206.

- Singhal R.S., Kulkarni P.R., Rege D.V. 1997. *Handbook of indices of food quality and authenticity*. University of Bombay, India. (560 p.).
- Siomos A.S., Papadopoulou P.P., Dogras C.C., Vasiliadis E., Dosas A., Georgiou N. 2002a. Lettuce composition as affected by genotype and leaf position. *Acta Horticulturae*, 579: 635 – 639.
- Siomos A.S., Papadopoulou P.P., Dogras C.C., Niklis N.D. 2002b. Quality of Romaine and Leaf lettuce at harvest and during storage. *Acta Horticulturae*, 579: 641 – 646.
- Smaldoni R., Sangiacomo M., Garbi M. 2002. Análisis de costos de producción y caracterización de los productores de lechuga (*Lactuca sativa*) a campo en el partido de Luján. XXV Congreso Argentino de Horticultura, ASAHO.
- Siwek P., Kalisz A., Wojciechowska E. 2007. Effect of mulching with various films on the yield quality of butterhead lettuce and celery stalks with especial reference to nitrate metabolism. *Folia Horticulturae*, 19(1): 37 – 44.
- Smirnoff N. 2000. Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 355: 1455 – 1464.
- Song J.Y., An G.H., Kim C.J. 2003. Color, texture, nutrient contents, and sensory values of vegetable soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) as affected by blanching. *Food Chemistry*, 83: 69 – 74.
- Sorensen J., Johansen A., Poulsen N. 1994. Influence of growth conditions on the value of crisphead lettuce: 1. Marketable and nutritional quality as affected by nitrogen supply, cultivar and plant age. *Plant-Foods for Human Nutrition*, 46: 1 – 11.
- Spano G., Massa S. 2006. Environmental stress responses in Wine Lactic Acid Bacteria: Beyond *Bacillus subtilis*. *Critical Reviews in Microbiology*, 32(2): 77 – 86.
- StatSoft Inc., 2005. STATISTICA (Data Analysis Software System), version 7.1. Tulsa, USA.
- Stavisky A. 2010. Situación actual de la plasticultura en Argentina. XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. Rosario 28 de septiembre a 1 de octubre de 2010.
- Steel R.G.D., Torrie J.H. 1992. Bioestadística: principios y procedimientos. pp. 330-362. México DF, México: McGraw-Hill.
- Sun D.W., Zheng L. 2006. Vacuum cooling technology for the agri-food industry: Past, present and future. *Journal of Food Engineering*, 77: 203 – 214.
- Suthumchai W., Matsui T., Kawada K., Kosugi Y., Kosuji Y. 2007. Sugar metabolizing enzymes activities in lettuce head during low temperature storage. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6(4): 568 – 576.
- Sweeney D.G., Hand D.W., Slak G., Thornley J.H.M. 1981. Modelling the growth of winter lettuce. (pp 217 – 229). En: *Mathematics in Plant Physiology*. Rose D.A., Charles-Edwards D.A. (Eds.) Academic Press, Londres.
- Talukder S., Khalequzzaman K.M., Khua S.M.K.E. 2003. Prepackaging, storage losses and physiological changes of fresh brinjal as influenced by post harvest treatments. *OnLine Journal of Biology Science*, 3(5): 474 – 477.
- Taniwaki M., Takahashi M., Sakurai N., A. Takadac, Nagata M. 2009. Effects of harvest time and low temperature storage on the texture of cabbage leaves. *Postharvest Biology and Technology*, 54: 106 – 110.
- Tei F., Aikman D.P., Scaife A. 1996a. Growth of Lettuce, onion and red beet. 1. Growth analysis, light interception and radiation use efficiency. *Annals of Botany*, 78: 633 – 643.
- Tei F., Aikman D.P., Scaife A. 1996b. Growth of Lettuce, onion and red beet. 2. Growth modeling. *Annals of Botany*, 78: 645 – 652.

- Tijsskens L.M.M., Polderdijk J.J. 1996. A generic model for keeping quality of vegetable produce during storage and distribution. *Agricultural Systems*, 51(4): 431 – 452.
- Tijsskens L.M.M., Schijvens E.P.H.M., Biekman E.S.A. 2001. Modelling the change in colour of broccoli and green beans during blanching. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2: 303 – 313.
- Tirilly Y., Thouvenot D. 1994. Estudio de la microflora de los alimentos y sus efectos. (pp. 279 – 293). En: *Microbiología Alimentaria*, 1. Bourgeois C., Mescle J., Zucca J. (Eds.) Editorial Acribia, Zaragoza.
- Thomas C., O'Beirne D. 2000. Evaluation of the impact of short-term temperature abuse on the microbiology and shelf life of a model ready to use vegetable combination product. *International Journal of Food Microbiology*, 59: 27 – 57.
- Thompson J., Cantwell M., Arpaia M.L., Kader A., Smilanick J. 2001. Effect of Cooling Delays on Fruit and Vegetable Quality. *Perishables Handling Quarterly*, 105: 1 – 4.
- Thompson J.F. 2002a. Psychrometrics and perishable commodities (pp. 129 – 134). En Kader, A.A. (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Davis.
- Thompson J.F. 2002b. Storage systems (pp. 113 – 128). En Kader, A.A. (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Davis. pp: 113-128.
- Toivonen P.M.A., Brummell D.A. 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 1 – 14.
- Tulio Jr. A.Z., Ose K., Chachin K., Ueda Y. 2002. Effects of storage temperatures on the postharvest quality of jute leaves (*Corchorus olitorius* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 26: 329 – 338.
- van den Berg L. 1987. Water Vapor Pressure. (pp. 203 – 230). En: *Postharvest physiology of vegetables*. Weichmann J. Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- van der Vorst J.G.A.J., 2006. Product traceability in food-supply chains. *Accreditation and Quality Assurance*, 11: 33 – 37.
- van Henten E.J., van Straten G. 1994. Sensitivity analysis of a dynamic growth model of lettuce. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 59: 19 – 31.
- van Poppel G., van den Berg H. 1997. Vitamins and cancer. *Cancer Letters*, 117: 195 – 202.
- Varoquaux P., Mazollier J., Albagnac G. 1996. The influence of raw material characteristics on the storage life of fresh-cut butterhead lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 127 – 139.
- Veraverbeke E.A., Verboven P., Van Oostveldt P., Nicolaï B.M. 2003. Prediction of moisture loss across the cuticle of apple (*Malus sylvestris* subsp. *mitis* (Wallr.)) during storage Part 1. Model development and determination of diffusion coefficients. *Postharvest Biology and Technology*, 30: 75 – 88.
- Wang X., Li S., Gao Y. 1998. Effects of film mulch on physi-ecology y yield of spring corn. *Acta Agronomica Sinica*, 24(3): 348 – 353.
- Wang Y., Mackenzie B., Tsukaguchi H., Weremowicz S., Morton C.C., Hediger M.A. 2000. Human Vitamin C (L-Ascorbic Acid) Transporter SVCT1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 267: 488 – 494.
- Watada A.E., Abe K., Yamuchi N. 1990. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 116: 22.
- Watada A.E., Ko N.K., Minott D.A. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 115 – 125.
- Watada A.E. 1997. Quality maintenance of fresh-cut fruits and vegetables. *Foods and Biotechnology*, 6(4): 229 – 233.

- Weston L.A., Barth M.M. 1997. Preharvest factors affecting postharvest quality of vegetables. *HortScience*, 32: 812 – 816.
- Wien H.C. 1997. *The Physiology of Vegetable Crops*. CAB INTERNATIONAL, New York. (672 p.).
- Wills R.B.H., Pristijono P., Golding J.B. 2008. Browning on the surface of cut lettuce slices inhibited by short term exposure to nitric oxide (NO). *Food Chemistry*, 107: 1387 – 1392.
- Wojciechowska E., Siwek P., Libik A. 2007. Effect of mulching with various films on the yield quality of butterhead lettuce and celery stalks with especial reference to nitrate metabolism. *Folia Horticulturae*, 19(1): 37 – 44.
- Wright H., DeLong J., Lada R., Prange R. 2009. The relationship between water status and chlorophyll a fluorescence in grapes (*Vitis* spp.). *Postharvest Biology and Technology*, 51: 193 – 199.
- Wrolstad R.E., Decker E.A., Schwartz S.J., Sporns P. 2005. *Handbook of Food Analytical Chemistry: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates*. Wiley, Hoboken, New Jersey. 606p.
- Wurr D.C.E., Fellows J.R., Pitham A.J. 1987. The influence of plant raising conditions and transplant age on the growth and development of crisp lettuce. *Journal of Agricultural Science*, 67: 395 – 401.
- Wurr D.C.E., Fellows J.R. 1991. The influence of solar radiation and temperature on the head weight of crisp lettuce. *Journal of Horticultural Science*, 66: 183 – 190.
- Wurr D.C.E., Fellows J.R., Morris G.E.L. 1981. Studies of the hearting of butterhead lettuce: temperature effects. *Journal of Horticultural Science*, 56: 211 – 218.
- Xue L., Yang L. 2009. Deriving leaf chlorophyll content of green-leafy vegetables from hyperspectral reflectance. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 64: 97 – 106.
- Yamasaki S., Rebello Dillenburg L. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal*, 11(2): 69 – 75.
- Yamuchi N., Watada A.E. 1991. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 116: 58 – 62.
- Yamuchi N., Watada A.E. 1993. Pigment changes in parsley leaves during storage in controlled or ethylene containing atmospheres. *Journal of Food Science*, 58(3): 616 – 618.
- Yin Y., Han Y., Liu J. 2007. A novel protecting method for visual green color in spinach puree treated by high intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 79: 1256 – 1260.
- Zagory D. 1999. Effects of post-processing handling and packaging on microbial population. *Postharvest Biology and Technology*, 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. *Journal of Food Engineering*, 79(2): 586 – 591.
- Zhang F.Z., Wagstaff C., Rae A.M., Sihota A.K., Keevil C.W., Rothwell S.D., Clarkson G.J.J., Michelmore R.W., Truco M.J., Dixon M.S., Taylor G. 2007. QTLs for shelf life in lettuce co-locate with those for leaf biophysical properties but not with those for leaf developmental traits. *Journal of Experimental Botany*, 58 (6): 1433 – 1449.
- Zwietering M.H., Rombouts F.M., Van't Riet K. 1993. Some aspects of modelling microbial quality of food. *Food Control*, 4(2): 89 – 96.