

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA**  
Departamento de Producción Vegetal



**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**PROYECTO FIN DE CARRERA**

"Efecto de diferentes niveles de aireación en la solución nutritiva en dos variedades de lechuga "baby leaf", cultivadas en un sistema de bandejas flotantes"

**Alumno:**  
Juan Aledo Guirao  
**Dirigido por:**  
Encarnación Conesa Gallego

Cartagena, Noviembre 2012

<b>RESUMEN</b> .....	3
<b>CAPÍTULO 1: Introducción</b> .....	4
1.1 ANTECEDENTES .....	5
1.1.1 Cultivo en bandejas flotantes (floating system) .....	5
1.1.2 Justificación del cultivo hidropónico en hortalizas.....	8
1.1.3 Cultivo de "baby leaf" en "floating system" .....	8
1.1.4 Características generales de la lechuga.....	9
1.1.5 IV Gama.....	11
1.1.6 Procesos de conservación de IV Gama.....	12
1.2 LA AIREACIÓN EN EL SISTEMA DE FLOATING SYSTEM .....	12
1.3 COMPONENTES NUTRICIONALES DE LOS VEGETALES .....	14
1.3.1. Nitratos.....	14
1.3.2 Oxalatos.....	17
1.3.3 Fenoles .....	17
1.3.4 Antioxidantes.....	20
1.3.5 Vitamina C .....	20
<b>CAPÍTULO 2: Objeto y plan de trabajo</b> .....	23
<b>CAPÍTULO 3: Material y métodos de trabajo</b> .....	25
3.1 MATERIAL VEGETAL, SIEMBRA Y MANEJO DEL CULTIVO .....	26
3.2 MUESTREO Y TOMA DE DATOS .....	29
3.2.1 Parámetros agronómicos de crecimiento aéreo .....	30
3.2.2 Parámetros agronómicos a nivel radicular .....	31
3.2.3 Determinación de contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles, antioxidantes y vitamina C.....	32
3.3 ANÁLISIS EN POST-RECOLECCIÓN .....	39
3.3.1 Determinación de contenidos de CO <sub>2</sub> y O <sub>2</sub> .....	40
3.3.2 Análisis microbiológico .....	41
3.3.3 Análisis sensorial: cata.....	42
3.4 ANALISIS ESTADISTICO .....	43
<b>CAPÍTULO 4: Resultados y discusión</b> .....	44
4.1 NIVEL DE OXIGENO Y TEMPERATURA DEL AGUA .....	45
4.2 DATOS AGRONOMICOS .....	48
4.2.1 Desarrollo aéreo del cultivo .....	48
4.2.2 Crecimiento radicular .....	50
4.3 CONTENIDOS EN NITRATOS, OXALATOS Y COLOR.....	51
4.4 CONTENIDOS EN FENOLES, ANTIOXIDANTES Y VITAMINA C .....	54
4.5 MICROBIOLOGIA .....	58
4.6 RESPIRACION: CONTENIDOS EN CO <sub>2</sub> Y O <sub>2</sub> .....	59
4.7 ANALISIS SENSORIAL.....	60
<b>CAPÍTULO 5: Conclusiones</b> .....	61
<b>CAPÍTULO 6: Referencias bibliográficas</b> .....	64

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de diferentes niveles de aireación en la solución nutritiva, en la calidad inicial y tras un periodo de almacenamiento de 7 días, en las hojas de lechuga, tipo “baby leaf”. Se usaron dos variedades de lechuga: *Diveria* de hoja roja y *Ganeria* de hoja verde, que fueron cultivadas en un sistema de bandejas flotantes, en el ciclo de otoño. Se usaron tres niveles de aireación en la solución nutritiva (alta, baja y sin aireación). Después de cuatro semanas, las hojas de lechuga fueron cosechadas y se midieron los parámetros agronómicos de la parte aérea y el crecimiento de raíces. Después de las operaciones de corte en fresco, las hojas se colocaron en envases de polipropileno (PP) y se procedió al termosellado de la parte superior con una película de 35 micras de espesor de tereftalato de polietileno (PET) + PP y se almacenó a 5 °C durante 7 días. El contenido de nitratos, fenoles totales y el crecimiento microbiano se determinó en hojas de lechuga en el día de procesamiento y después de 7 días a 5 ° C. Durante la vida útil, los cambios en la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> en los envases fueron medidos a diario a lo largo de la vida del producto (una semana). En cuanto a la parte aérea y el crecimiento de la raíz, no se observaron diferencias significativas entre los niveles de aireación. Después del almacenamiento el contenido de nitratos, oxalatos y vitamina C (la vitamina C en *Ganeria* aumento), disminuyó para ambas variedades y los fenoles totales se incrementaron, sobre todo en las plantas cultivadas en el nivel de aireación alta, obteniendo diferencias significativas entre variedades y tratamientos. Por otro lado, las presiones parciales de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> dentro de los paquetes durante el estado estacionario, oscilaron desde 16-18 kPa O<sub>2</sub> y 1-4 kPa CO<sub>2</sub> sin diferencias significativas entre los tratamientos. La población microbiana incrementó durante el almacenamiento, particularmente el crecimiento de psicrófilos, tanto en las hojas de *Diveria* como en *Ganeria*, el contenido era significativamente mayor después del almacenamiento. En cualquier caso, la calidad microbiana se mantuvo alta durante todo el proceso, independiente del tratamiento.

## **CAPÍTULO 1: Introducción**

## **1.1 Antecedentes**

### **1.1.1 Cultivo en bandejas flotantes (Floating System)**

La hidroponía, es un término que deriva de los radicales griegos (*hydor*, que significa agua y *ponos*, que significa trabajo), se está desarrollando rápidamente como medio de producción vegetal, sobre todo de hortalizas de bajo cultivo protegido. Esta es una técnica, en la cual el suelo es sustituido por una solución acuosa conteniendo sólo los elementos minerales indispensables a los vegetales.

Este cultivo sin suelo permite optimizar la producción y el crecimiento ya que controla ciertos factores decisivos (solución nutritiva, contenido en humedad, temperatura, etc.), para un desarrollo óptimo de la planta. Algunos métodos emplean sustratos orgánicos (turbas) o inorgánicos (vermiculita, arena, grava, lana de roca, etc.), permitiendo el anclaje de las raíces, a diferencia de los que no prevén un soporte para tal fin (Castagnino et al., 2005).

Esta es una técnica en la cual las bandejas que contienen las plantas flotan de forma continua en una cama de agua o solución nutritiva. Esto es más fácil y ventajoso para producir hortalizas pequeñas, con elevada eficiencia hídrica y nutritiva (Niñirola, 2008).

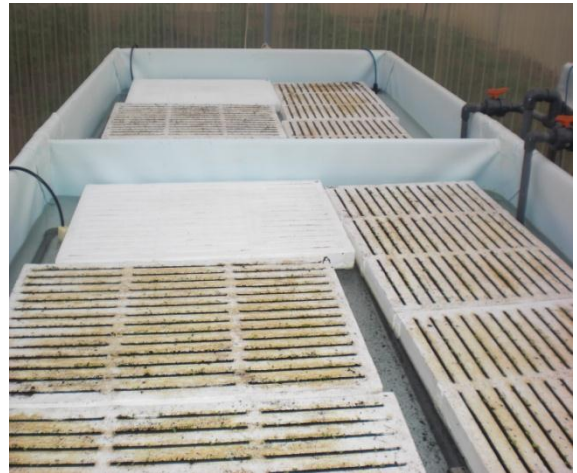
Presenta ventajas sobre el método tradicional tales como: optimización de la germinación, menor empleo de mano de obra, posibilidades de anticipar la entrada al mercado en casi un mes, mejor control de malas hierbas y una mayor calidad del producto final.

Este método, de cultivo en bandejas flotantes, consiste en camas relativamente profundas, niveladas con respecto al suelo, con una base de plástico impermeable que cubre toda la parte superior de la cama y en donde se vierte cierta cantidad de solución nutritiva con los nutrientes que las plantas van a necesitar disueltos en el agua.

En un cultivo, el sistema de riego es un factor fundamental a tener en cuenta, una vez que va a influir sobre el desarrollo del cultivo.



**Figura 1.1:** Cama de plástico impermeable



**Figura 1.2:** Cama con bandejas flotando

En dicha cama se dejan flotando los soportes flotantes con el sustrato, que normalmente son de poliestireno de alta densidad, y se recircula el agua en torno a 2 ó 3 litros por minuto cada 24 horas. La aireación de la solución nutritiva en cultivos en “Floating System” es indispensable para la producción de cultivos de hoja. La concentración de oxígeno en la solución nutritiva disminuye al aumentar la temperatura. Por este motivo, durante los periodos más cálidos, a fin de evitar la asfixia radical, es conveniente emplear oxigenadores (Castagnino, et al., 2005).

Un tipo de bandeja muy utilizado es el tipo “styrofloat”, donde los alveolos comunes han sido sustituidos por fisuras tronco-cónicas de muy poco volumen, que limitan al máximo la utilización de sustrato, únicamente el necesario para soportar la semilla.



**Figura 1.3:** Bandeja sin sustrato



**Figura 1.4:** Bandeja con sustrato

Además, la difusión de enfermedades fúngicas de las hojas son prácticamente nulas por la falta de humedad de las hojas y el producto terminado (hortalizas de hojas) resulta limpio y listo para el embolsado y la venta.

Uno de los principales problemas de este sistema de cultivo es el estancamiento de la solución nutritiva en las camas de cultivo, esto suele dar lugar a dos situaciones no deseadas: aparición de algas en suspensión en la solución nutritiva y la pérdida de rendimiento que se ve reflejada en forma de carencias en nutrientes, peso seco...



**Figura 1.5:** Cama con estancamiento de la solución nutritiva

Todo esto hace que un aspecto fundamental en este tipo de cultivo sea la aireación, responsable de la oxigenación de la solución nutritiva indispensable en la producción de cultivos de hoja.



**Figura 1.6:** Sistema de Floating System

### **1.1.2 Justificación del cultivo hidropónico en hortícolas**

El deterioro progresivo del suelo de los invernaderos y de las zonas de producción hortícola en general, debido a un agotamiento, una contaminación fúngica y una salinización cada vez más extendidos, obliga a los agricultores a optar por el cultivo hidropónico como solución a dichos problemas. Por otra parte, actualmente resulta imprescindible la implantación de técnicas que nos lleven a una economización de los, cada vez más escasos, recursos hídricos, la técnica de cultivo hidropónico, dada su elevada tecnificación, permite consumir únicamente el agua necesaria, minimizando todo tipo de pérdidas y aportando solamente la cantidad estricta de elemento que las plantas necesitan, ello unido a la mayor productividad y calidad logradas mediante el uso de esta técnica al tener perfectamente controladas las variables de cultivo, permite la obtención de una mayor cantidad de producto con el mínimo consumo de agua y fertilizantes. (Alarcón, 2002).

El futuro de la producción agrícola pasa por una mejora tecnológica lo suficientemente elevada para asegurar el aprovechamiento de los recursos y de esta manera aumentar al máximo la eficiencia del uso energético de los sistemas de producción y mantener una menor dependencia y presión sobre los recursos naturales (suelo, gran cantidad de agua...).

### **1.1.3 Cultivo de “baby leaf” en “Floating System”.**

Este sistema permite la obtención de hojas de pequeño tamaño “Baby leaf” listas para consumir (IV Gama), cuyo consumo a nivel mundial muestra una tendencia creciente (Castagnino et al, 2005).

La elaboración de hortalizas de IV Gama como lechuga, rúcula y otras especies requiere la puesta a punto de sistemas de cultivo que permitan rapidez de los ciclos, uniformidad de crecimiento, automatización de algunas operaciones, higiene y sin aireación de la calidad del producto (Castagnino et



al., 2005). Por otro lado, el aprovechamiento de especies de hoja pequeña “Baby leaf” para productos mínimamente procesados en fresco (MPF) ha aumentado en los últimos años, tanto por el hecho del incremento del consumo de dicho productos, como por el tipo de aprovechamiento, en forma de hojas enteras de entre 8 y 12 cm., lo cual supone una escasa sección expuesta a la oxidación, la de su pecíolo, aumentando las posibilidades de conservación tras su procesado mínimo (González et al., 2004).

Constituye una técnica económica y rápida de producción en hidroponía (para ensalada se llegan a hacer 18 ciclos en 12 meses), alternativa al monocultivo sobre terreno desinfectado con limitado aporte de fitofármacos (no son necesarios los herbicidas) y un crecimiento vegetativo absolutamente uniforme. (Galloway et al., 1996), controla ciertos factores decisivos (solución nutritiva, contenido en humedad, temperatura, etc.).

### 1.1.4 Características generales de la lechuga (*Lactuca sativa* L.).

Clasificación botánica:

Reino:		Plantae
División:		Magnoliophita
Clase:		Magnoliopsida
Orden:		Asterales
Familia:		Asteraceae
Género:		<i>Lactuca</i>
Especie:		<i>L. sativa</i> .
Nombre:		<i>Lactuca sativa</i> L.

*Lactuca sativa*, la lechuga, es una planta anual, que se cultiva con fines alimentarios. Gracias a la amplia gama de variedades que existen, y a su

cultivo cada vez mayor en invernaderos, se puede consumir durante todo el año. Normalmente se toma cruda, como ingrediente de ensaladas y otros platos, aunque algunas se pueden tomar cocidas.

Posee una raíz pivotante poco ramificada, cerca de la superficie. El crecimiento se desarrolla en roseta y las hojas, con distinta forma, borde, color..., según variedad, se disponen alrededor de un tallo central, corto y cilíndrico que en floración se va alargando para producir las inflorescencias, formadas por capítulos de color amarillosos. Las semillas son de color negro o blanco, pequeñas y alargadas (3mm). En la base posee el vilano.

Las hojas más externas de la lechuga concentran la mayor parte de vitaminas y minerales. Favorece la absorción del hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones. En cuanto a los minerales, la lechuga destaca por la presencia de potasio y hierro. También contiene magnesio y calcio, aunque en menor proporción. En cuanto a su contenido en vitaminas, destaca la presencia de folatos, provitamina A o betacaroteno, y vitaminas C y E. La lechuga romana cultivada al aire libre es la variedad más rica en vitaminas, mientras que el iceberg es la que menor cantidad de vitamina C presenta.

**Tabla 1.1:** Composición de 100 grs. de lechuga para consumir

<b>Energía (Kcal)</b>	<b>16,8</b>
<b>Agua (ml)</b>	<b>95</b>
<b>Hidratos de Carbono (g)</b>	<b>1,4 – 1,5</b>
<b>Fibra (g)</b>	<b>1,5</b>
<b>Proteínas (g)</b>	<b>1,5</b>
<b>Potasio (mg)</b>	<b>240</b>
<b>Magnesio (mg)</b>	<b>5,6</b>
<b>Calcio (mg)</b>	<b>34 - 35</b>
<b>Vitamina A (mcg)</b>	<b>29</b>
<b>Vitamina C (mcg)</b>	<b>12 - 13</b>
<b>Folatos (mcg)</b>	<b>33 - 34</b>
<b>*Mg: Miligramos; 1 Gramo = 1000 Mg.</b>	

La lechuga es un alimento que aporta muy pocas calorías por su alto contenido en agua, su escasa cantidad de hidratos de carbono y menor aún de proteínas y grasas. Existen diferentes tipos de lechuga, pero es la lechuga de

hoja pequeña la que muestra mejores características para ser usada como producto de la cuarta gama.

### 1.1.5 IV Gama

En las últimas décadas se ha producido una serie de transformaciones en los hábitos de consumo como consecuencia de los cambios en los comportamientos generales de la sociedad. Estos cambios han propiciado el desarrollo de diferentes productos transformados, platos listos para consumir, y productos de cuarta y quinta gama entre otros. Se conocen como productos de primera gama los productos frescos, de segunda gama las conservas, y de tercera gama los congelados. La cuarta y quinta gama surgen como resultado de la demanda de productos presentados de forma atractiva, fácilmente consumibles y con la misma calidad que los productos frescos. Los productos de cuarta y quinta gamas constituyen una interesante opción para aumentar y fomentar el consumo de frutas y verduras; teniendo en cuenta la diversidad de productos, presentaciones y disponibilidad.



Figura 1.7: Presentación productos IV Gama



Figura 1.8: Ensalada IV Gama

El desarrollo inicial de los productos de cuarta gama se produjo en Estados Unidos a mediados de los años 80, aunque la incorporación de España a este mercado ha sido más reciente. Se trata de alimentos mínimamente procesados (listos para consumir) que conservan las características de los productos frescos de los que derivan, es decir de frutas o verduras que han sufrido los siguientes procesos: troceado, lavado, envasado en atmósfera modificada y sin aditivos. Son productos con una fecha corta de caducidad (5-15 días) y que deben mantenerse refrigerados.

### **1.1.6 Procesos de conservación en IV Gama.**

El proceso de conservación en IV Gama se basa en el envasado en atmósfera modificada. Esto consiste en obtener un envase en cuyo interior la proporción de gases sea distinta a la atmosférica.

Exactamente se trata de reducir la concentración de oxígeno para lo cual se enriquece con otro gas, CO<sub>2</sub> o N<sub>2</sub>. El tipo de envase es importante. En un envase impermeable al agua se limitará la pérdida de humedad derivada de la transpiración, y será la atmósfera modificada la que ejerza el efecto de la disminución de la velocidad de respiración del vegetal aumentando así su vida útil.

Otras tecnologías para prolongar la vida útil son: el empleo de soluciones desinfectantes, antioxidantes, tratamientos con luz ultravioleta, adición de agentes estabilizantes de color y textura o la aplicación de antimicrobianos... Los productos de cuarta gama que más se comercializan son frutas y verduras, en formato bowl o embolsado. En cuanto a las verduras utilizadas las más comunes son las de hoja, aprovechando así los distintos colores, formas y texturas que presentan, que aparte de tener un alto valor nutricional hacen el producto atractivo al consumidor.

## **1.2 La aireación en el sistema de Floating System**

La aireación de la solución nutritiva en cultivos en Floating System es indispensable para la producción de cultivos de hoja.

En el proceso de la optimización de la producción de los cultivos es necesario realizar evaluación de diversos factores que puedan afectar la producción y calidad. Zheng et al. (2007), indican que un ambiente radical bien oxigenado es esencial para la salud del sistema radical (absorción de nutrientes, crecimiento y mantenimiento de raíces) y la prevención de enfermedades radicales.

Este importante aspecto de los cultivos sin suelo se resuelve mediante varios métodos. Tal vez el más usado, es el burbujeo de aire continuo con un compresor. Su facilidad de construcción así como su flexibilidad para el uso en unidades caseras lo hace muy recomendable, también se utiliza con fines comerciales. Resh, (2001).

En general por debajo de los 3-4 mg/l de oxígeno disuelto en la solución se produce una disminución en el crecimiento radical, apareciendo un empardecimiento de este, tal vez sea el síntoma más precoz y fácilmente destacable de los primeros problemas al respecto.

Una consecuencia secundaria, al disminuir el oxígeno, es la aparición de poblaciones de microorganismos no deseados en el medio, la importancia de este factor se ve al observar la estrecha correlación exponencial entre la concentración de oxígeno en la solución nutritiva y los pesos secos de la raíz y vástago. En el caso de ser un sistema recirculante es posible aumentar la oxigenación de la solución nutritiva provocando un salto del drenaje (50 cm aprox.) en el tanque de recogida.

La disponibilidad del oxígeno está muy relacionada con la temperatura, la cantidad máxima disponible en una solución nutritiva disminuye con el aumento de la temperatura, mientras que el efecto contrario ocurre con la capacidad de difusión del mismo, por lo que, en parte, estos fenómenos se compensan. Esta razón hace que el valor absoluto de oxígeno en la solución nutritiva previamente saturada con aire a presión sea menor en las horas centrales, donde la temperatura en un cultivo es mayor. Por todo ello se debe mantener la disponibilidad de oxígeno en la rizosfera constante.

Como en otros sistemas hidropónicos, en un sistema de flotación, las plantas, pueden sufrir hipoxia porque las raíces gradualmente consumen el oxígeno disuelto en la solución de nutrientes. El fenómeno de la hipoxia es particularmente agudo en los períodos de calor, cuando el agua aumenta de temperatura, debido a que el nivel de saturación de oxígeno del agua disminuye y aumenta la tasa de respiración de las raíces (Morard y Silvestre et al., 1996). Por lo tanto, una concentración adecuada de oxígeno en el ambiente de la raíz es necesario para garantizar la funcionalidad de las raíces, ya que la falta de oxígeno reduce la absorción de agua y minerales por la planta, que

puede limitar el crecimiento y, en consecuencia, el rendimiento del cultivo (Tesi et al., 2003).

Para evitar cualquier repercusión negativa en el rendimiento, los agricultores deben airear la solución nutritiva para enriquecerla con oxígeno.

## **1.3 Componentes nutricionales de los vegetales**

### **1.3.1 Nitratos**

Los nitratos son compuestos presentes en el medio ambiente de forma natural como consecuencia del ciclo del nitrógeno, pero puede ser alterado por diversas actividades agrícolas.

En nuestro país, la obtención de las máximas producciones suele constituir el objetivo principal de la actividad agrícola. Esto supone frecuentemente el uso masivo de fertilizantes y productos fitosanitarios.

La ingestión de agua y de legumbres con alta concentración de nitratos es considerada como potencialmente peligrosa para la salud humana. De un punto de vista toxicológico, los nitratos tienen una toxicidad aguda extremadamente baja (Speijers, 1996). Pero el hombre, el 5-10% de nitrato ingerido lo reduce en la saliva y en el tracto digestivo, en un producto más tóxico, es decir, en nitritos (Walters y Smith, 1981). Además, los compuestos de N-nitroso surgen a partir de la reacción del nitrito con otras sustancias (como aminas emitidas en la digestión de proteínas), pudiendo dar origen a graves enfermedades transmisibles al hombre. Por esta razón, la evaluación toxicológica de los nitratos no puede ser separada de la de nitritos y de compuestos N-nitroso, bien como de la presencia de nitratos en hortícolas, del agua potable y de los alimentos por regla general, siendo considerados un problema de salud pública.

Además de emplearse como aditivo de los alimentos, los nitratos también se hallan presentes de manera natural en la mayoría de los vegetales, ya que es la principal forma en que las plantas absorben el nitrógeno a través de las raíces. Teniendo en cuenta que, el total de nitratos absorbidos no se metaboliza hasta su transformación en los aminoácidos constituyentes de las

proteínas, el exceso se acumula en los tejidos vegetales hasta alcanzar concentraciones que pueden resultar excesivas.

Así, en el caso del abonado se tiende a una utilización más eficiente de los fertilizantes, valorando el tipo y dosis de abonado que hay que emplear en función del nivel de producción deseado, estado de fertilidad del suelo, coste de los abonos...

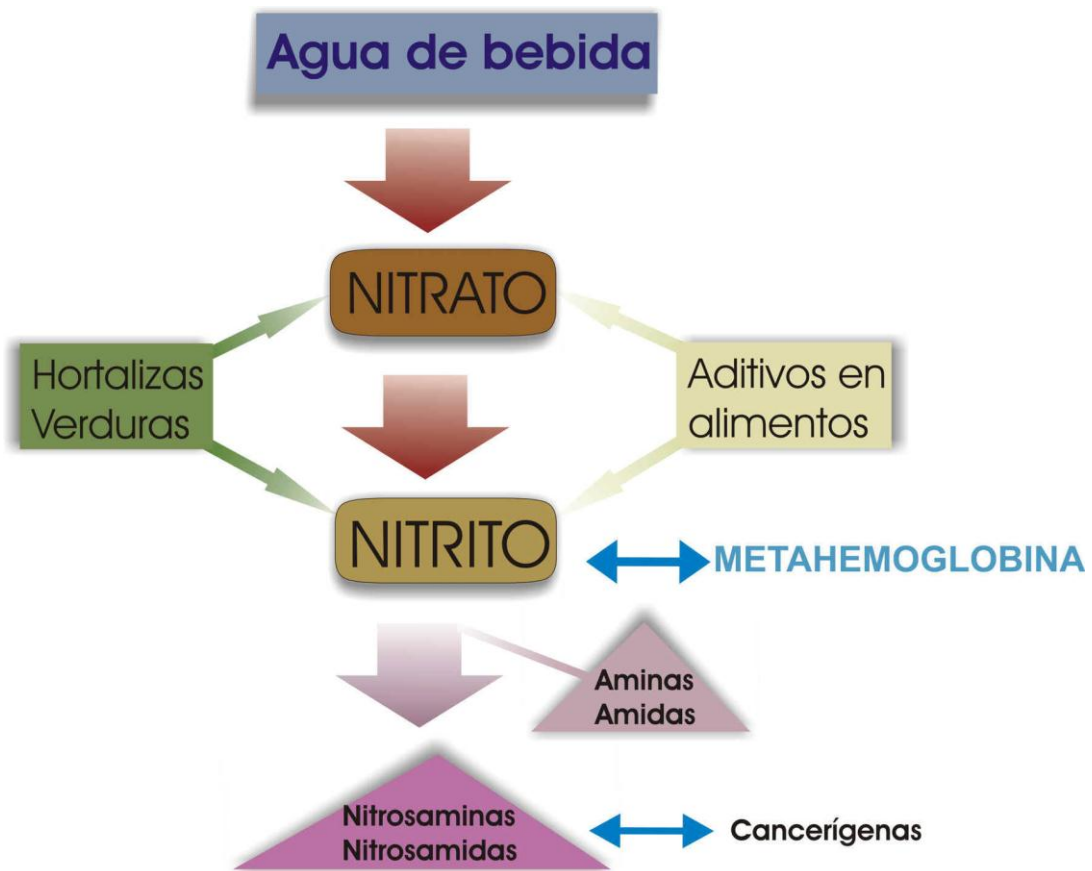


Figura 1.9: Movilidad del nitrato

Los nitratos en si son relativamente poco tóxicos. Su toxicidad viene determinada por su conversión en nitritos y nitrosaminas, sustancias que han demostrado tener efectos cancerígenos. Por esta razón, se han impuesto diversas restricciones al consumo de nitratos.

El nitrato puede transformarse en nitrito por reducción bacteriana tanto en los alimentos (durante el procesado y almacenamiento), como en el propio organismo (en la saliva y el tracto gastrointestinal).

El nitrato absorbido por una planta puede ser reducido, almacenado en las vacuolas o transportado en el flujo de la transpiración del xilema a la hoja para su reducción. Sin embargo, la mayor parte, es almacenada en las vacuolas hasta ser utilizado para la reducción en el citosol (Cardenas Navarro et al., 1999). El nitrato no absorbido por un cultivo, puede potencialmente contribuir a la contaminación de las aguas subterráneas y superficiales a través de la lixiviación y erosión del suelo (Gastal y Lemaire et al., 2002; Wang et al., 2002).

Espinacas y lechugas están entre los productos hortícolas que acumulan más nitratos, y son dos de las principales fuentes de nitratos en la dieta. Es destacable el caso de la patata, que sólo por sí representa una tercera parte de la ingestión diaria de nitratos en Reino Unido. Por esta razón, en los países del centro y norte de Europa, los contratos de venta, para esta solanácea poseen una concentración máxima de nitrato de 200 mg/kg de producto fresco.

La necesidad de imponer límites máximos de nitrato, es tanto para la salud humana como para la comercialización de productos hortícolas (Santamaria et al., 2002). La disminución del valor de nitratos puede representar un valor añadido para la producción hortícola (ya caracterizada por el alto contenido de micronutrientes esenciales y antioxidantes) y también porque el consumidor está dispuesto a pagar el 17% por un producto con menos nitrato (Auerswald et al. 1999)

**Tabla 1.2:** Tendencia de hortalizas y verduras a acumular nitratos

<b>Elevada</b>	<b>Media</b>	<b>Baja</b>
Espinaca	Col roja	Coles de Bruselas
Acelga	Coliflor	Endivia
Repollo blanco	Apio	Cebollas tiernas
Lechuga	Col y nabo	Cebollas tiernas
Hinojo	Calabacín	Judías verdes
Remolacha	Berenjena	Pepino
Rábano, rabanito	Zanahoria	Pimiento
Nabo	Tomate	Espárrago
Rúcula	Patata	Haba



### 1.3.2 Oxalatos

Los oxalatos están presentes en muchas familias de plantas, pudiendo ser encontrados en una vasta gama de productos hortícolas, frutas, frutos de cáscara y plantas silvestres comestibles. El oxalato no tiene ninguna utilización metabólica en el organismo ya que, desde que es absorbido, será transportado a los riñones para ser excretado en la orina como un producto de desecho. La cantidad de oxalato excretada en la orina es un factor de peligro importante en el desarrollo de los cristales de oxalato cálcico, el componente más común de las piedras del riñón. Los oxalatos también disminuyen la absorción intestinal de calcio y magnesio (Libert y Franceschi, 1987).

Se ha podido reducir el contenido de oxalatos en ciertas especies realizando las aportaciones del N en forma amoniacal, se ha incrementado por el contrario, el contenido de ácidos grasos, concretamente el ácido  $\alpha$ -linoleico (Palaniswamy et al., 2002). Compuesto que el organismo humano no puede sintetizar y que por lo tanto tiene que obtenerse a través de la dieta.

Los oxalatos disminuyen la disponibilidad de una serie de oligoelementos, debido a la formación de complejos insolubles (Heaney et al., 1988; Bohn et al., 2004). Pueden ser encontrados como formas solubles e insolubles en plantas. Las sales solubles se forman cuando el oxalato se liga con el potasio, sodio y magnesio (el oxalato de magnesio es menos soluble que las sales de sodio y potasio), mientras que las sales insolubles son producidas cuando el oxalato se liga con el calcio y el hierro. Por último, el oxalato también puede ser encontrado libre como ácido oxálico.

Tabla 1.3: Alimentos con mayor contenido en oxalatos

Alimento	Oxalatos (mg%)	Alimento	Oxalatos (mg%)
Espinaca	750	Chocolate amargo	117
Remolacha	675	Perejil	100
Acelga	645	Puerro	89
Cacao en polvo	623	Uva	88
Pimiento	419	Batatas	56
Germen de trigo	269	Frambuesas	53
Frutos secos	187	Café en polvo	33

El contenido de oxalatos depende, entre otros factores, de la especie y del cultivar, de los fertilizantes (sobre todo aquellos nítricos), y de fases del crecimiento vegetal (Kabaskalis et al., 1995; Makus y Hettiarachchy, 1999; Takebe y Yoneyama, 1997).

Cuando son consumidos estos oxalatos se pueden unir al calcio y otros minerales. La media del contenido de oxalato en las hortalizas comúnmente consumidas en Nueva Zelanda muestra que cocidos se reduce el contenido de oxalatos, por pérdidas de lixiviación en el agua en que estos habían sido cocinados.

El ácido oxálico forma sales solubles en agua con los iones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{NH}_4^+$ , también se liga con  $\text{Ca}_2^+$ ,  $\text{Fe}_2^+$  y  $\text{Mg}_2^+$  volviendo estos minerales indisponibles. Los oxalatos pueden ser encontrados en cantidades relativamente pequeñas en muchas plantas. Los alimentos ricos en oxalatos son generalmente componentes de menor importancia en dietas humanas pero por veces son importantes en dietas estacionales en ciertas zonas del mundo. Plantas como espinaca y remolacha son bien conocidas porque contienen mayores concentraciones de oxalatos que otras plantas.

La técnica cromatográfica gaseosa (Ohkawa, 1985) y de métodos HPLC (Holloway et al., 1989) realizan determinaciones exactas y fiables del ácido oxálico en plantas. El ácido oxálico tiene un contenido variable dentro de algunas especies, algunos cultivos de espinaca (Universal, Inverno Giant) contienen de 400 a 600 mg/100g de peso fresco, mientras otros llegan a alcanzar valores de 700 a 900 mg/100g de peso fresco (Gontzea y Sutzescu, 1968). El ácido oxálico se acumula en las plantas en especial durante el tiempo seco (Bressani, 1993).

La distribución del oxalato dentro de las plantas es también desigual. En general, el contenido de oxalato es más alto en las hojas intermedias y en las semillas, y más bajo en el tallo (Osweiler et al., 1985; Lilbert y Franceschi, 1987). Los informes demuestran que el pecíolo de algunas plantas como el amaranto (Bressani, 1993), espinaca y remolacha (Fassett, 1973; Concon, 1988) contienen niveles significativos más bajos de oxalatos que las hojas.

En vegetales de transformación, el blanqueo, congelación, o conservas, pueden contribuir para cambios en el valor nutricional, incluyendo el nivel de

compuestos indeseables (Bednar et al., 1995). El tratamiento con el uso de agua (lavado, blanqueo) normalmente reduce el contenido de nitratos y nitritos y oxalatos.

### **1.3.3 Fenoles**

En este grupo se incluyen los monofenoles, polifenoles, flavonoides y taninos. Casi todas las frutas y vegetales frescos, así como los granos de cereales, contienen cantidades apreciables de fenoles naturales. Los tres grupos más importantes de fenólicos dietéticos son los flavonoides, ácidos fenólicos y los polifenoles. Los flavonoides son el grupo más grande de fenoles vegetales y el más estudiado. Los ácidos fenólicos forman un grupo diverso que incluyen los derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico. Los polímeros fenólicos (polifenoles), comúnmente conocidos como taninos, son compuestos de alto peso molecular que se clasifican en: taninos hidrolizables y taninos condensados.

Los flavonoides son el grupo simple de fenólicos más grande en los alimentos vegetales; son compuestos de bajo peso molecular que generalmente existen enlazados a moléculas de azúcares.

Los flavonoides están agrupados en antocianinas y antoxantinas. Las antocianinas son moléculas de pigmentos rojos, azules y púrpuras. Las antoxantinas, que incluyen flavonoles, flavonas, flavanoles, e isoflavonas, son moléculas incoloras o de colores que oscilan desde el blanco hasta el amarillo. (Dreosti, 1996)

Los polifenoles tienen acción antioxidante, pueden reducir la peroxidación de los lípidos. El consumo frecuente de frutas y vegetales frescos se asocia con una menor incidencia de cáncer en humanos y en carcinogénesis experimental. Los polifenoles se hallan preferentemente en las capas más superficiales de verduras, frutas, cereales y otras semillas, para proteger de la oxidación los tejidos de las capas inferiores. Son también anticoagulantes, antimicrobianos, inmunoestimulantes y reguladores de la presión arterial y de la glucemia. (Barnes, et al 1996).

### **1.3.4 Antioxidantes**

En las dietas actuales existe gran interés por la presencia de antioxidantes en los alimentos, por su papel en la prevención de enfermedades. Entre los compuestos podemos destacar la vitamina C, abundante en las hortalizas. Todo ello ha inducido una demanda creciente de productos que satisfacen los hábitos de los consumidores modernos, con tendencias vegetarianas y por comida saludable.

El desarrollo de muchas enfermedades crónicas y degenerativas, como el cáncer, la enfermedad coronaria, el Alzheimer y el Parkinson, entre otras, podría estar causado, en parte, por el estrés oxidativo. Las especies reactivas del oxígeno, los radicales libres, pueden dañar a las proteínas, las grasas y el material genético.

La alimentación rica en hortalizas y frutas se considera como una gran ayuda en la lucha contra los radicales libres, ya que algunos de sus nutrientes y fitoquímicos se han revelado como potentes antioxidantes. El US Department of Agriculture ha publicado en los últimos años diferentes bases de datos de especial interés acerca de varios antioxidantes, como son la vitamina C, la vitamina E, el selenio y algunos carotenoides, flavonoides y antocianinas.

### **1.3.5 Vitamina C**

Entre los alimentos que forman parte de nuestra dieta habitual, se encuentran las hortalizas y verduras, vegetales de enorme interés por su composición y riqueza en micronutrientes y fibra. En general, por el aporte energético, las hortalizas son un grupo de enorme importancia por su riqueza en vitaminas, elementos minerales y fibra hace que su consumo sea imprescindible para conseguir una alimentación sana y equilibrada.

De los nutrientes que nos proporcionan los alimentos, existen los denominados macronutrientes y los micronutrientes, los primeros se requieren en mayor proporción y son: proteínas, carbohidratos y lípidos; entre los segundos se incluyen otros componentes que se necesitan en menor proporción, aunque son fundamentales para el organismo, por intervenir en los más variados procesos; son las vitaminas y los elementos minerales, ácidos

grasos y aminoácidos esenciales. La más importante vitamina de las frutas y legumbres para la alimentación humana es vitamina C. Más de 90% de la vitamina C en la dieta humana son suministrados por los frutos y productos hortícolas. La vitamina C es definida como el término genérico para todos los compuestos exhiben la actividad biológica del ácido L-ascórbico (AA).

La vitamina C es necesaria para la prevención del escorbuto y mantenimiento de una piel saludable, encías y vasos sanguíneos. La vitamina C es igualmente conocida por tener muchas funciones biológicas en la formación colágeno, absorción de hierro inorgánico, en la reducción del nivel de colesterol plasmático, inhibición en la formación de nitrosomina y el refuerzo del sistema inmunitario. La vitamina C como antioxidante, declaradamente reduce el riesgo de aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Harris, 1996).

Cítricos y patatas son conocidas por ser la más importante fuente de vitamina C en la dieta occidental, debido a la gran cantidad consumida (Ball, 1998). La recomendación de consumo de esta vitamina deberá ser de 100-200 mg al día, una vez que estrés es conocido en la vida moderna por aumentar la exigencia de vitamina C.

La vitamina C es más sensible a la destrucción cuando las plantas son sometidas las condiciones adversas de almacenamiento y manipulación. Las pérdidas son mayores a través de un almacenamiento prolongado, altas temperaturas, baja humedad relativa, daños físicos y de refrigeración.

Muchos factores de pre y post-cosecha influyen en el valor de la vitamina C en los cultivos hortícolas. Grandes variaciones genotípicas en el contenido vitamínico habían sido examinadas por Stevens (1974) y Harris (1975). Otros factores incluyen pre-condiciones climáticas y prácticas culturales (Somers y Beeson, 1948; Lee, 1974; Harris, 1975; Mozafar, 1994; Weston y Barth, 1997). Todos estos factores son responsables de la gran variación en el valor de vitamina C en el momento de la cosecha de los frutos y productos hortícolas. Madurez de momento de la cosecha, método de cosecha, post-cosecha y manipulación también afectar el valor de vitamina C de los frutos y productos hortícolas (Kader, 1988). Métodos y procesos de transformación

cuando se cocina, pueden resultar en pérdidas significativas de vitamina C (Fennema, 1977).

## **CAPÍTULO 2: Objeto y plan de trabajo**

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar los efectos de diferentes niveles de aireación en la solución nutritiva (sin aireación (SA), baja (BA) y alta (AA)) sobre el crecimiento y calidad de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa*), variedad “*Ganeria*”, lechuga verde y variedad “*Diveria*”, lechuga roja, cultivadas en bandejas flotantes. Además se determinará la calidad del producto almacenado durante 7 días, bajo condiciones controladas de temperatura. Para ello:

- Se estudiará el efecto de los diferentes niveles de aireación sobre:
  - Los parámetros agronómicos de crecimiento (altura, área foliar, contenido en clorofila, % de materia seca, número de hojas y color) y a nivel radicular longitud, diámetro y volumen, en el ciclo de cultivo de otoño.
- Se analizará el efecto de los diferentes niveles de aireación sobre el contenido de nitratos, oxalatos, fenoles, antioxidantes y vitamina C.

El producto se someterá, posteriormente, a un tratamiento de embolsado como producto mínimamente procesado. Transcurridos 7 días de almacenaje en frío se volverán a determinar los parámetros de calidad de dicho producto para ver el efecto de la aireación en su vida útil.



## **CAPITULO 3: Material y método de trabajo**

### 3.1 MATERIAL VEGETAL, SIEMBRA Y MANEJO DEL CULTIVO

El ensayo se realizó en la Estación Experimental Agraria “Finca Tomás Ferro” de la UPCT ubicada en La Palma, en el término municipal de Cartagena, provincia de Murcia.

Se realizó un ciclo de cultivo en otoño.

En el experimento, el material vegetal utilizado fueron cultivares de lechuga *Baby leaf* (*Lactuca sativa*) y las variedades fueron *Diveria* (hoja roja; Lollo Rosso) y *Ganeria* (hoja verde; Batavia) ambas de la casa comercial Rijk Zwaan, la siembra se realizó el 15 de Octubre de 2010, con un ciclo de cultivo de 27 días para ambas lechugas.

La lechuga “*Diveria*” se caracteriza por presentar hojas sueltas, de textura suave y con un color amarronado muy característico. La lechuga “*Ganeria*” es de color verde intenso, con hojas ligeramente rizadas en los extremos y de cogollo apretado. Favorece la absorción del hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones.

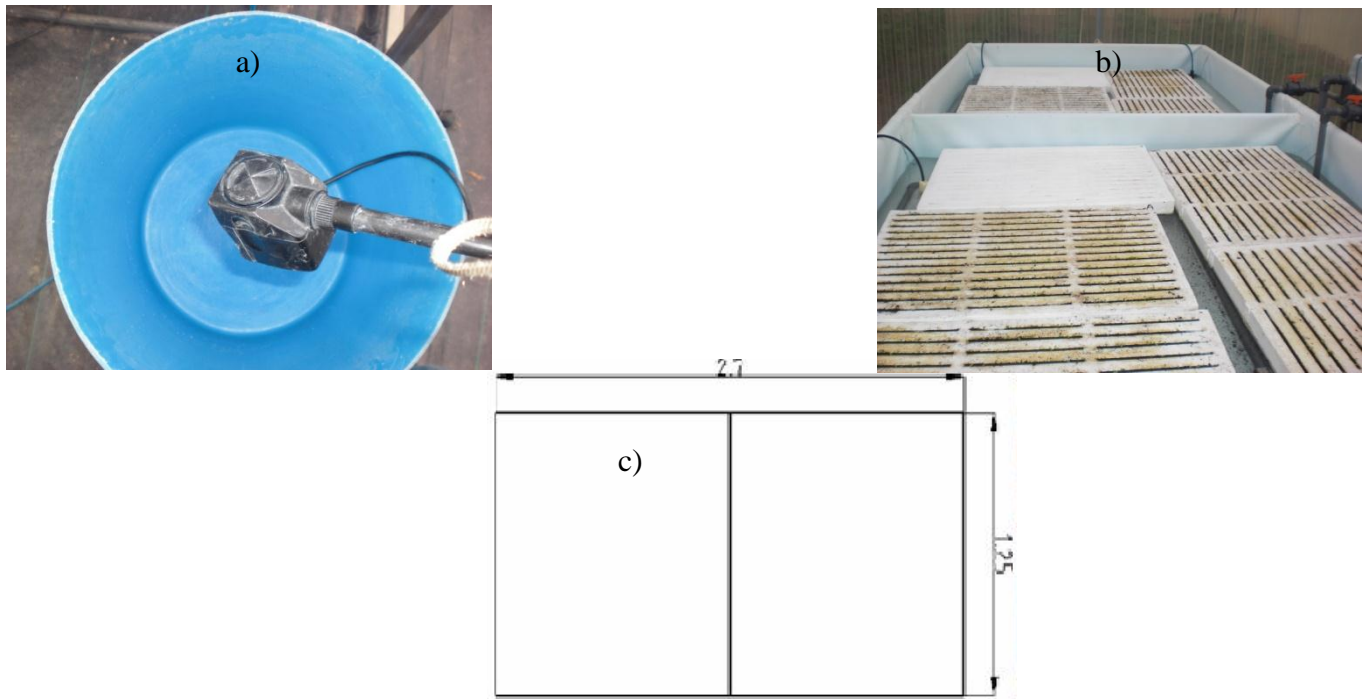


Figura 3.1: Hojas de Lechuga *Diveria*



Figura 3.2: Hojas de lechuga *Ganeria*

Lo primero que se hizo fue el acondicionamiento de las instalaciones y materiales, para ello se procedió a la limpieza y desinfección de bandejas flotantes (tipo styrofloat), camas de cultivo y bidones a emplear. También se procedió a la comprobación del sistema de bombeo, así como los datalogger utilizados para el registro de datos ambientales. Para el bombeo de aire empleamos un sistema de ventilación formado por una estructura de PVC con salidas de aire, y datalogger CR1000 (Campbell Scientific), con las sondas que miden la temperatura del aire, la temperatura del agua, CE, humedad relativa, la radiación solar y el oxígeno disuelto en agua.



**Figura 3.3:** a) sistema de bombeo, b) disposición bandejas, c) dimensiones cama cultivo

En cada mesa, se dispusieron sensores para monitorizar horariamente la evolución de:

- la temperatura y conductividad eléctrica (modelo CS547A),
- el oxígeno disuelto en la solución nutritiva (modelo CS512) y
- el pH (CS526L) todos de la marca Campbell.

Para el registro de estas variables ambientales se utilizó un datalogger CR1000 (Campbel Scientific).



**Figura 3.4:** Datalogger CR1000 (Campbel Scientific)

Las siembras se realizaron en bandejas de poliestireno expandido denominadas “styrofloat” de 0,6 x 0,41 m. El sustrato utilizado fue una mezcla equilibrada de turba rubia y negra de la marca Floragard denominada “Substrato comercial tipo S”, que se introduce en las fisuras de forma manual presionando y distribuyéndolo bien por toda la superficie. Una vez sembradas, las bandejas fueron introducidas en una cámara climática (Fitotron de Sanyo) a una temperatura de 21°C y una humedad relativa de 90% durante 3 días para facilitar la germinación.



**Figura 3.5:** Cámara de germinación

A continuación, las bandejas se pasaron a unas mesas de cultivo de dimensiones 3 x 1,5 x 0,15m, con una altura de solución nutritiva de 10 cm, ubicadas en el interior de un invernadero de policarbonato. En la base de cada mesa de cultivo se dispuso un entramado de tuberías conectado a una bomba de aire, para proporcionar aireación a la solución nutritiva. Para conseguir los tratamientos de aireación ensayados:

- 1.-sin aireación (SA) = control,
- 2.-baja aireación (BA) utilizando tuberías perforadas con 6 agujeros/m<sup>2</sup>
- 3.-alta aireación (AA) utilizando tuberías perforadas con 36 agujeros/m<sup>2</sup>,

La solución nutritiva estuvo compuesta por agua fresca (pH de 7.8 y CE de 1.1 dS/m) desde la colocación de las bandejas en las mesas de cultivo hasta los 7 días después de la siembra. Se ajustó el pH de la solución nutritiva a 5,6 mediante un pHmetro modelo 507 (CRISON) y con una disolución (1/10) de ácido sulfúrico. A partir de esta fecha y hasta la recolección se empleó una solución nutritiva con una CE de 2,6 dS/m, conteniendo los siguientes elementos en mol/l: NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 4800; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 7200; H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, 2000; Ca<sub>2</sub><sup>+</sup>, 3200; K<sup>+</sup>, 6000; Mg<sub>2</sub><sup>+</sup>, 4000. A esta solución se le añadió una mezcla comercial de

microelementos a una concentración de 0,02 g/l y un quelato de Fe a una concentración de 0,02 g/l. La solución nutritiva fue mantenida hasta el final del ciclo de cultivo.

Para el ensayo, las temperaturas media, máxima y mínima fueron de 18.81°C, 37.6°C, 7.94°C, respectivamente. La conductividad eléctrica 3.14 dS/m, humedad relativa media 59.13 % y DLI = 11.20



Figura 3.6: Lechuga (*Lactuca sativa*) en Estación experimental

### 3.2 MUESTREO Y TOMA DE DATOS

Al cabo de una semana se realizó un aclareo de plántulas hasta obtener 10 plantas por fisura, así la densidad de plantación fue de 1700 plantas/m<sup>2</sup>.

De cada ensayo, se realizaron tres repeticiones y se cogieron 10 plantas por repetición.



Figura 3.7: Muestras de las repeticiones listas para ser medidas



### 3.2.1 Parámetros agronómicos de crecimiento aéreo.

Estando ya en el laboratorio, se le corta la raíz, y se toma el peso fresco con una balanza digital, quedando solo la parte aérea, se toman medida en cm desde la base de los pecíolos hasta la parte superior de la hoja más alta, luego se contabiliza el número de hojas por planta. Se mide el contenido en clorofila (SPAD) en hojas de cada repetición (con un SPAD-505 (Konica- Minolta), se mide el área foliar de cada repetición (con un medidor de área foliar modelo LICOR-3100C) y se mide el color con un colorímetro.

Por último, para medir el peso seco, se introduce el material vegetal en una estufa a 60°, durante unos días, hasta conseguir un peso constante; un parte del material vegetal se conserva en fresco en el congelador a -80°C para futuros análisis.



**Figura 3.8:** Diferentes instrumentos de medida: a) Medidor de clorofila; b) Balanza digital; c) Tabla de medida; d) Colorímetro; e) Medidor área foliar

### 3.2.2 Parámetros agronómicos a nivel radicular

Con la ayuda de un medidor de raíces, se determinó su longitud total diámetro, volumen, y número de puntas. La toma de imágenes fue con escáner (1600 Expression, Epson) y analizadas con el software WinRHIZO 2009 (Regent Inc., Qubec, Canadá).

Igualmente, el peso seco de las raíces se determinó tras permanecer las plantas a 60°C hasta conseguir un peso constante.



Figura 3.9: Escáner y software de análisis de raíces

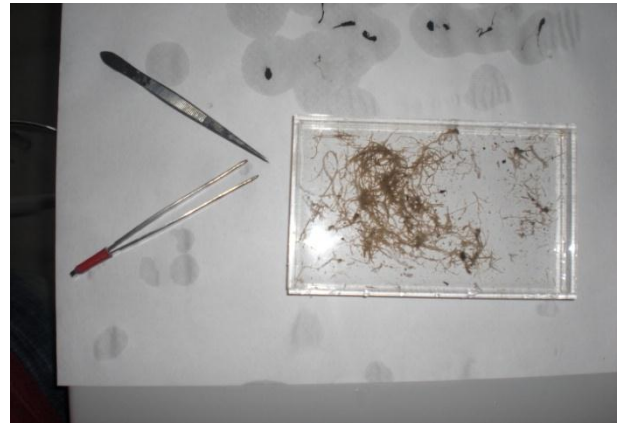


Figura 3.10: Muestra de raíces a analizar



Figura 3.11: Imagen de raíces analizadas con WinRHIZO.

### 3.2.3 Determinación de contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles, antioxidantes y vitamina C

Tras el muestreo, se procede a recoger material vegetal (hojas) para posterior análisis. Para ello se toman 100 g de material vegetal por cada tratamiento.

El material recolectado y pesado, se introduce en una estufa a 60°C hasta que esté completamente seco y el peso sea constante. Con las hojas completamente secas, se molió hasta quedar en polvo.



Figura 3.12: Molido y filtrado de las muestras

Para las determinaciones de **nitratos**, **oxalatos** se tomaron tres muestras por tratamiento y repetición. Los nitratos y oxalatos, extraídos de 0,2 g de materia seca, fueron determinados por cromatografía iónica. A los 0,2g se añadió 50 ml de agua destilada, que posteriormente se colocó en un agitador (Orbital Shater, modelo 481), a 50 °C, durante 40 minutos a 117 rpm. Después de los 40 minutos, los extractos fueron filtrados con ayuda de embudos, con filtros DP 145 110. Una de las muestras se conserva en la UPCT y la otra es llevada para analizar a un Cromatógrafo Iónico, (Metron HM columna 838-861) en el laboratorio SAIT de la Universidad Politécnica de Cartagena.

El contenido en **fenoles** totales fue determinado con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu y expresado como equivalente de ácido clorogénico por kg de peso fresco. Previamente, debemos hallar la recta de calibrado o recta patrón con Ac. Clorogénico. Esta recta la conseguimos con las siguientes concentraciones 0, 50, 100, 250, 500 y 750 microM, de una concentración madre de 1 mM.



Para conseguir la solución madre calculamos la cantidad de Ac. Clorogénico para un volumen determinado, por ejemplo de 10 ml. ( $M = n^{\circ}\text{moles}/V$ ;  $n^{\circ}\text{moles} = m/PM$ ).

**Tabla 3.1.** Concentraciones disolución madre

Concentraciones (microM)	Concentración disolución madre (ml)	Metanol (ml)	Volumen final (ml)
0	0	2	2
50	0.1	1.9	2
100	0.2	1.8	2
250	0.5	1.5	2
500	1	1	2
750	1.5	0.5	2

Una vez que tenemos los Eppendorf de 2 ml con sus correspondientes concentraciones seguiremos la siguiente metodología:

- 100 microlitros de la concentración de la recta patrón
- 150 microlitros de Folin (diluido 1:1 con agua MiliQ)
- 1000 microlitros de mezcla (0,4% de NaOH y 2% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

Antes de preparar esta mezcla, tener en cuenta que el primer ingrediente que se debe diluir en los 100 ml de agua miliQ es la Sosa, ya que estas son placas y es difícil de conseguir el peso exacto. Después se calculó la cantidad de agua y la de carbonato de sódico. Se mantuvo esta disolución a oscuras durante una hora antes de utilizarlo.

Los componentes de la disolución final se introducen en Eppendorf de 2 ml. Importante agitar los Eppendorf y dejarlos reposar durante una hora en un lugar oscuro. Tras una hora se pasó este extracto a una cubeta desechable para medirlas en el espectrofotómetro.

La lectura en espectrofotómetro se realiza apuntado una absorbancia de 750 nm.

Una vez obtenida la absorbancia de todas la concentraciones, procedemos a la realización de una recta de calibrado en power point. Una vez obtenida la recta, pasaremos a obtener la absorbancia de las muestras, siguiendo el mismo método anteriormente utilizado.

- 100 microlitros de muestra
- 150 microlitros de Folin ( 1:1 con agua MiliQ ). Disolución en Falcon de 50 ml
- 1000 microlitros de mezcla ( 0,4% de NaOH y 2% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ). Falcon de 50ml

Estas soluciones se llevan del mismo modo al espectrofotómetro apuntando la misma absorbancia (750nm). Destacar la toma de 3 medidas por muestra en el espectrofotómetro, para mejorar el resultado final y corregir el error de precisión que pueda tener el aparato y la utilización de pipetas de precisión durante todo el proceso de preparación.

Estos datos se llevan a Excel donde tenemos la recta de calibrado y la ecuación correspondiente a esta. En esta fórmula tenemos dos variable X e Y, correspondiente a concentración y absorbancia. Se aplicó la formula, introduciendo los datos de absorbancia obtenidos y se halló por lo tanto la concentración de fenoles de cada una de las muestras.

$$y = 0,0225x + 5E-05$$
$$R^2 = 0,9991$$

Donde Y es la concentración de la cubeta, y X corresponde a la absorbancia medida en el espectrofotómetro.

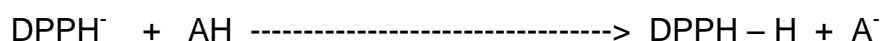


**Figura 3.13:** Espectrofotómetro

La **capacidad antioxidante** fue evaluada en términos de la desaparición del radical DPPH a 515nm y expresada como equivalente de ácido ascórbico por kg de peso fresco. La actividad antioxidante total se puede calcular mediante dos métodos: DPPH y FRAP. En nuestro caso se obtendrá la capacidad antioxidante de las muestras de *Lactuca sativa* mediante el método del DPPH.

Este método, desarrollado por BRAND-WILLAM (Cuvelier et al., 1995), se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515nm del radical DPPH<sup>•</sup>, por antioxidantes.

EL compuesto químico, DPPH, es un radical libre 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma CAT No.43180) dispuesto comercialmente el cual solo necesita disolverse en metanol. El fundamento de la reacción consiste en añadir un radical libre como el DPPH a las muestras objeto de estudio que son las que portan los compuestos antirradicales (compuestos antioxidantes). Esta reacción se leerá en el espectrofotómetro a 515 nm.



- Precauciones:

- El DPPH es un radical muy cancerígeno, por lo que se deben usar siempre guantes de látex, no tocarlo con las manos.

- El DPPH pierde su efectividad con el tiempo, cerrar bien el bote, poner cinta alrededor y mantener en el frigorífico.

- Método:

Dada las precauciones mencionadas anteriormente se procederá a la realización de una solución stock o madre, de la que obtendremos otra solución diariamente. Esta última será la que utilizaremos a la hora de realizar la medición final.

- Preparación de la solución stock: Se pesan 24 mg de DPPH y se diluyen en 100 mL de MeOH (metanol). Se protege el frasco de la luz con papel plata para protegerlo de la luz. Agitar durante 30 min con un imán.

Esta disolución deber ser preparada 2 horas antes de la medición. Con posterioridad se guardará durante 5 días en el frigorífico a 4 °C.

- Preparación de la solución diaria: Se toman 10 mL de la solución stock y se añaden 40 mL de MeOH. Se lee su absorbancia en el espectrofotómetro a 515 nm. La lectura deber ser 1,1. Se hace esta medición 3 veces. Si la lectura de absorbancia es mayor a 1,2 se diluye la concentración con MeOH, así como si es inferior a 1,1 se concentrara la disolución añadiendo DPPH proveniente de la solución stock que está más concentrado.

Previamente a la medición, se hará el autocero en el espectrofotómetro con MeOH.

- Lectura de la capacidad antioxidante de las muestras o patrón.

En una cubeta, se añaden 150 µl de muestra o patrón y 850 µl disolución diaria de DPPH. Esperar durante unos 40 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Después, leer en el espectrofotómetro a 515. El tiempo de espera de cada muestra antes de la medición dependerá del tipo de muestra, previamente debe hacerse una curva en la que se refleje la estabilidad de absorbancia con respecto al tiempo. Tanto para patrón como para muestras se realizan tres lecturas por muestra.

-El blanco será 1000 µl de agua MiliQ.

-Las lecturas deben estar en el rango de 1,1 a 0,7-0,6.

-Si la muestra es próxima a 1,1 indica que la muestra tiene un bajo poder antioxidante, y para un mejor resultado debería concentrarse más la muestra y volver a medir.

-Si las lecturas son inferiores a 0,7-0,6, indican que la muestra tiene un alto contenido de actividad antioxidante y deben ser diluidas hasta que su lectura entre en dicho rango.

- Elaboración de un patrón.

Se obtiene la recta patrón con Acido Ascórbico (AA) a diferentes concentraciones.

Se pesan 25 mg de AA y se diluyen en 25 mL de agua MeOH. Esto equivale a una concentración de 5,67 mM o 1000 mg/L.

Los patrones de AA no deben estar elaborados más de 1 hora, ya que pierden muy rápidamente su potencial antioxidante, y darían un resultado erróneo.

Se cogen unos tubos de al menos 10 mL de capacidad, se rotulan, y se añaden:

5 mL (5.7 mM o 1000mg/L) + 5 mL MeOH	-----→	(500 mg/L)
5 mL (500 mg/L) + 5 mL MeOH	-----→	(250 mg/L)
5 mL (250 mg/L) + 5 mL MeOH	-----→	(125 mg/L)
4 mL (125 mg/L) + 2 mL MeOH	-----→	(84.5 mg/L)
4 mL (84, 5 mg/L) + 2 mL MeOH	-----→	(56 mg/L)
4.5 mL (56 mg/L) + 1.5 mL MeOH	-----→	(42 mg/L)
5.3 mL (42 mg/L) + 0.7 mL MeOH	-----→	(37.2 mg/L)
4.85 mL (37.2 mg/L) + 1.15 mL MeOH	-----→	(30 mg/L)
4.93 mL (30 mg/L) + 1.07 mL MeOH	-----→	(24.67 mg/L)
4.86 mL (24.67 mg/L) + 1.14 mL MeOH	-----→	(20 mg/L)
4.75 mL (20 mg/L) + 1.25 mL MeOH	-----→	(15.85 mg/L)

El valor de la capacidad antioxidante de la muestra, será el resultado de la diferencia de la absorbancia inicial (1,1) y la absorbancia final o absorbancia leída por muestra. El resultado será la absorbancia real que posee la muestra.

Para la extracción de la **vitamina C** en las hojas de lechuga,, se recolectaron 50g de hojas que son llevadas hasta un congelador (SANYO, Modelo MDF-U52V), a una temperatura de -84°C, para que el valor de vitamina C no sea alterado.

El material vegetal congelado, se trituró en un molinillo con ayuda de nitrógeno líquido hasta quedar convertido en polvo, lo más fino posible. Se utilizan 0,5 g de muestra haciendo tres repeticiones de cada concentración, poniéndolas en un Eppendorf de 14 ml, bien diferenciados y rotulados, y después se añaden 2 ml de ácido metafosfórico (14%), con una micropipeta (high tech lab). El ácido metafosfórico se prepara previamente, con 7,14g de ácido metafosfórico que están en cristales disueltos en 50 ml de agua destilada, agitando hasta que se disuelva.

Las muestras se someten a un periodo de incubación durante una hora, en una caja con hielo triturado, a una temperatura de 0°C. Terminando la incubación, se colocan las muestra en una centrifugadora Eppendorf, Modelo Centrifuge 5810R, durante 20 minutos, a una temperatura de 5°C con 4000 rpm. Por fin se coge el material limpio depositándolo un eppendorf de 2 ml. Terminada toda la extracción de material para evaluación de vitamina C, se llevan las muestras para el laboratorio SAIT, donde se procederá al análisis de los extractos por HPLC (Water. Columna 2695-2996).

### 3.3 ANÁLISIS EN POST-RECOLECCIÓN

En el momento de la recolección, las muestras, se colocaron en bolsas y se transportaron de inmediato en una caja portátil refrigerada hasta el Instituto de Biotecnología Vegetal de la UPCT.

A continuación, en una sala de desinfección en frío a 10°C, todas las hojas libres de defectos fueron desinfectados por lavado durante 2 minutos con una solución de hipoclorito sódico (100 ppm) y ácido cítrico (0,2 g L<sup>-1</sup>) (pH 6.5) a 5°C y a continuación se lavaron durante 2 minutos en agua del grifo a la misma temperatura con el fin de eliminar los residuos de NaOCl. El exceso de agua superficial se eliminó mediante el uso de una centrifugadora manual durante 30 s.



Figura 3.14: Desinfección y termosellado

### 3.3.1 Determinación de contenidos de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>

Aproximadamente 20 g de hojas se colocaron en envases de polipropileno (PP) y se procedió al termosellado de la parte superior con una película de 35 micras de espesor de tereftalato de polietileno (PET) + PP y se almacenó a 5 °C durante 7 días. Esta temperatura fue seleccionada como el límite máximo recomendado y más utilizado para vegetales recién cortados a lo largo de su distribución comercial y venta al por menor (Tomás-Callejas et al., 2011).



Figura 3.15: Almacén en cámara

Los cambios en la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> en los envases fueron medidos a diario a lo largo de la vida del producto (una semana). Una muestra de 0,5 ml de la cámara de aire fue retirado de las cestas con una jeringa hermética al gas y el O<sub>2</sub> y los niveles de CO<sub>2</sub> fueron determinados por cromatografía de gases (Tomás-Callejas et al., 2011).

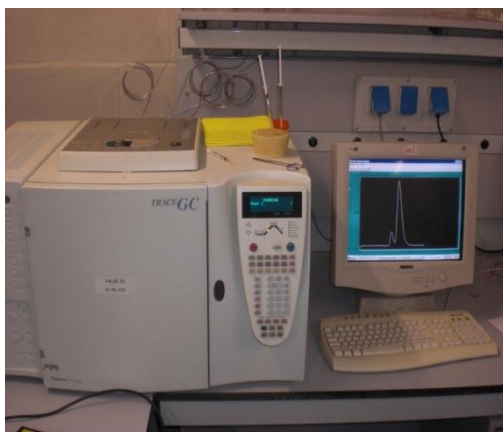


Figura 3.16: Cromatógrafo de gases



Figura 3.17: Jeringas herméticas



Se tomaron tres muestras de gases al azar por tratamiento.

Para el calibrado del cromatógrafo se introduce una muestra patrón conocido el porcentaje de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>.



**Figura 3.18:** Extracción de gas en bandeja

### 3.3.2 Análisis microbiológico

Los recuentos microbianos se llevaron a cabo en el momento de la recolección y al final del almacenamiento, después de 7 días. Para ello se pesó 1g de cada repetición y se introdujo en bolsitas stomacher; a esas bolsitas se le añadió 9ml de agua de pectona (ya preparada siguiendo las indicaciones del fabricante y posteriormente esterilizada), las cuales son trituradas durante dos minutos, al mismo tiempo se prepararon 9ml de agua de pectona en tubos de ensayo estériles. Seguidamente se realizaron tres diluciones 1:10 y de cada dilución se tomó una alícuota de un mililitro que se añadió a los tubos de ensayo. Una vez realizadas las diluciones pasamos a preparar las placas petri por duplicado para cada dilución, tanto en mesófilos como en psicrofilos para ello debemos tener preparado el medio de cultivo conforme a las indicaciones del fabricante.

Una vez rotuladas las placas petri y con el medio de cultivo preparado se echa 1 ml a cada uno de los tubos de ensayo y a continuación se le añade ese

medio de cultivo, procediendo a mezclar el extracto con el medio de cultivo y se deja secar en la misma cabina de flujo laminar donde hemos realizado todo el procedimiento.

Los mesófilos se incubaron a 26°C durante 3 días y los psicrofílicos a 4°C durante 10 días, transcurrido dicho tiempo se pasó a realizar el recuento con una lupa contadora. Los recuentos se expresaron como log UFC g-1.

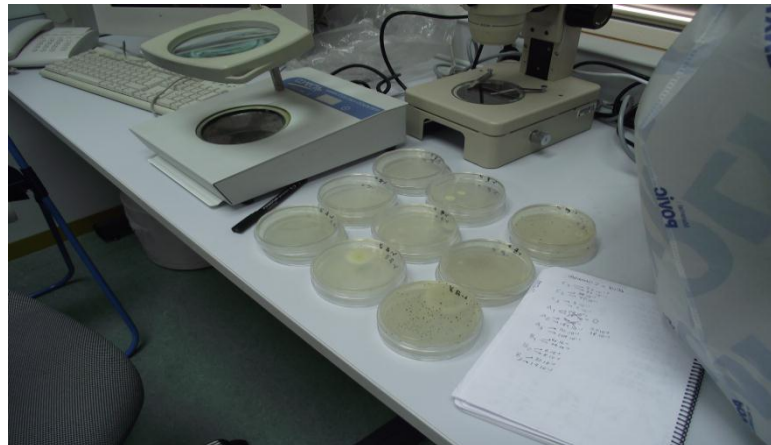


Figura 3.19: Recuento de psicrofílicos

### 3.3.3 Análisis sensorial: cata

Una vez transcurridos los 7 días de almacenamiento en refrigeración las hojas fueron examinadas en una sala de catas. Para ello partíamos de un panel de prueba como base para la evaluación sensorial de las hojas. El panel constaba de los siguientes puntos:

Apariencia visual (1-9). Color extraño (1-5). Pardeamiento del corte (1-5). Deshidratación (1-5). Aromas extraños (1-5). Sabor extraño (1-5). Calificación global (1-9).

Esta evaluación se realizó con alrededor de unas 10 personas.

La calidad general visual y la calidad global se califican en una escala hedónica de nueve puntos en la que 1 - extremadamente pobre, 3 - malo, 5 - aceptable y el límite de la usabilidad, 7 - bueno y 9 - excelente. Trastornos (color extraño, pardeamiento, deshidratación, aromas y sabores extraños) se obtuvieron de acuerdo con la siguiente escala de incidencia de daño y la

gravedad: 1 - ninguno, 2 - ligera, 3 - moderada (límite de capacidad de uso), 4 - severo y 5 - extrema (Tomás-Callejas et al, 2011.).

### **3.4 ANALISIS ESTADISTICO**

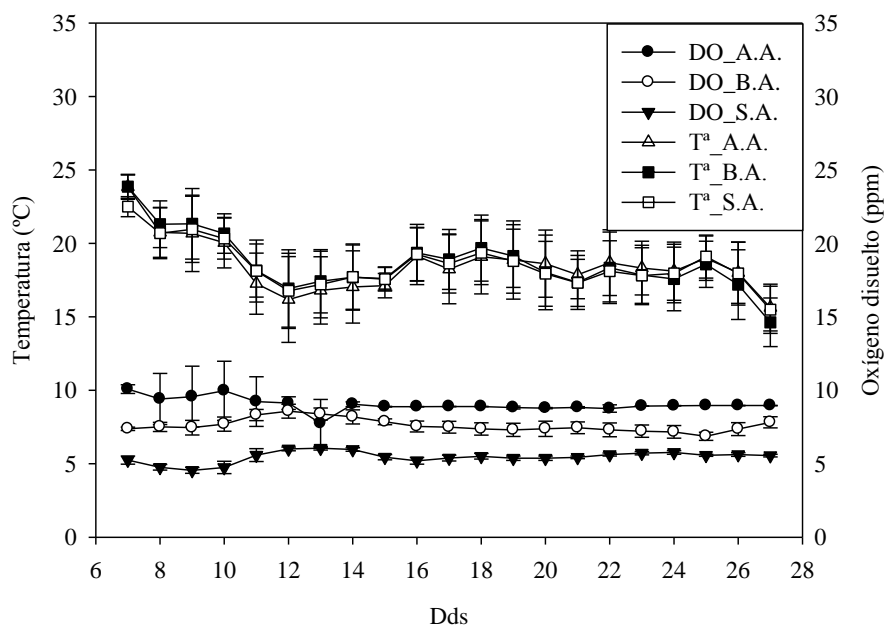
Para el diseño experimental se consideró como parcela elemental una mesa de 3 x 1,5 x 0,15 m que contenía cuatro bandejas de 0.60 x 0.41 m, con tres repeticiones por tratamiento distribuidas al azar. Los datos se analizaron con el análisis de varianza, utilizando el test de LSD ( $P < 0,05$ ) para la separación de medias con el programa StatGraphic plus.

## **CAPÍTULO 4: Resultados y discusión**

## 4.1 NIVELES DE OXIGENO Y TEMPERATURA DEL AGUA

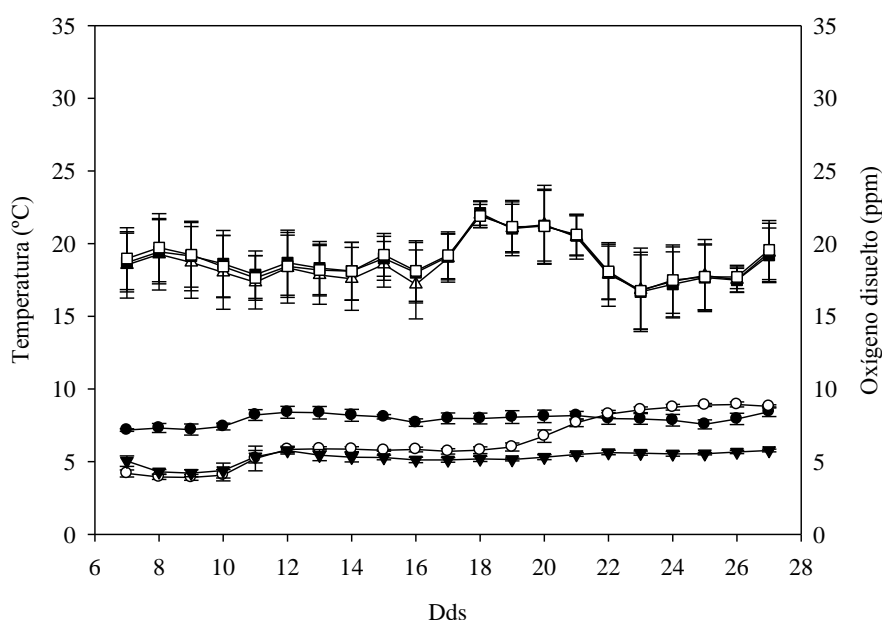
A continuación se muestran los resultados de la concentración de oxígeno disuelto en la solución nutritiva y la temperatura de dicha solución. En el ciclo de cultivo en otoño, para las variedades de lechuga *Diveria* y *Ganeria* con 3 niveles de aireación.

El oxígeno disuelto para la variedad *Ganeria*, se mantiene constante a lo largo de todo el ciclo de cultivo a partir del día 14, siendo 6 ppm para el tratamiento SA, 8 ppm para BA y 9 ppm para AA. La temperatura de la solución nutritiva fue similar para los tres tratamientos (Fig. 4.1)



**Figura 4.1:** Concentración de oxígeno y temperatura del agua para el cultivo en otoño de lechuga verde var. *Ganeria*.

El oxígeno disuelto para la variedad *Diveria*, se mantiene constante a lo largo de todo el ciclo de cultivo a partir del día 12 hasta el día 19, siendo 6 ppm para el tratamiento SA, 7 ppm para BA y 9 ppm para AA. A partir del día 20 y hasta fin de cultivo el oxígeno varió en baja aireación desde 6 ppm a 9 ppm y en AA de 9 ppm a 7 ppm, manteniéndose constante para el tratamiento SA. La temperatura de la solución nutritiva fue similar para los tres tratamientos (Fig. 4.2).



**Figura 4.2:** Concentración de oxígeno y temperatura del agua para el cultivo en otoño de lechuga verde var. *Diveria*.

La cantidad de oxígeno disuelto en la solución nutritiva depende de varios factores, siendo la temperatura la más determinante en los cultivos hidropónicos. Una concentración adecuada de oxígeno en la solución nutritiva es necesaria para garantizar la funcionalidad del cultivo.

En ambas variedades, las concentraciones de oxígeno oscilaron hasta mantenerse constantes a partir de los 13-14 días. Sin embargo, en BA, la var.

*Diveria*, sufrió un aumento en la concentración de oxígeno tras los 20 días, este aumento coincidió con las temperaturas más elevadas que se dieron en el ciclo de cultivo. Nakano et al. (2001) demostró que la concentración de oxígeno disuelto decreció hasta establecerse en un valor constante. Por otro lado, Schroeder y Lieth (2004) observaron en un cultivo de tomate, que la concentración de oxígeno disuelto en la solución nutritiva decrecía conforma avanzaba el cultivo.

## 4.2 DATOS AGRONÓMICOS

### 4.2.1 Desarrollo aéreo del cultivo

El aspecto que presentaron las lechugas var. *Ganeria* con los tratamientos aplicados se muestra en la (Fig. 4.3).



**Figura 4.3:** Lechuga verde, var. *Ganeria* en el momento de la recolección con el tratamiento alta aireación (AR1), baja aireación (BR2), sin aireación (CR3)

En cuanto a los parámetros de crecimiento aéreo para el cultivo de otoño (Tabla 4.1), los cultivos presentaron diferencias significativas en el ratio PS/PF, mostrando *Diveria* mayores valores de PS/PF que *Ganeria*, sin embargo no hubo diferencias significativas en cuanto a los diferentes niveles de aireación.

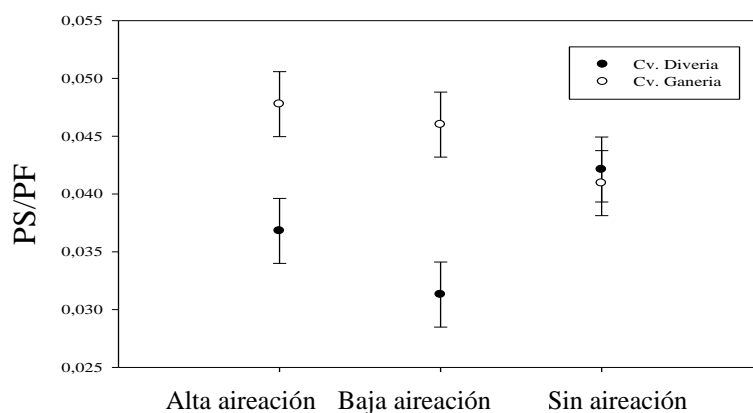
Se observó una interacción significativa entre el nivel de aireación y el cultivar, que fue evidente para el ratio PS/PF, mostrando *Ganeria* mayores valores de PS/PF en proporción que en *Diveria*, cultivadas bajo condiciones de AA y BA, mientras que en condiciones SA, no se observaron diferencias significativas entre los cultivares (Fig. 4.4).

El resto de parámetros de crecimiento no mostró diferencias significativas entre tratamientos ni entre variedades.

**Tabla 4.1:** Parámetros de crecimiento aéreo del cultivo de otoño en el momento de la recolección.

	Altura (cm)	Nº de hojas	Peso fresco (gr)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Peso seco (gr)	Ratio PS/PF
<b>Variedad</b>						
<i>Ganeria</i>	13,42	3,24	13,55	331,63	0,58	0,036 a
<i>Diveria</i>	13,32	3,35	13,41	385,25	0,48	0,043 b
<b>Tratamiento</b>						
No aireación	13,64	3,40	13,84	410,19	0,57	0,042
Baja aireación	13,18	3,27	13,18	340,92	0,5	0,039
Alta aireación	13,28	3,23	13,41	324,20	0,54	0,040
<b>Interacción</b>	ns	ns	ns	ns	ns	*

ns, \*: no significativo o significativo para  $P \leq 0.05$



**Figura 4.4:** Interacción entre los cultivares y los diferentes niveles de aireación para la relación PS/PF. Las barras verticales representan intervalos LSD ( $P < 0,05$ )



En el parámetro relativo a la altura de las plantas, se observó que no había diferencias significativas entre las variedades, pero si se observó que la var. *Ganeria* obtuvo una mayor altura. Comparando los tratamientos con distintos niveles de oxigenación, encontramos la ausencia de diferencias significativas entre ellos, aunque se destaca que el nivel de oxigenación SA obtuvo el mayor resultado de crecimiento en altura en valor absoluto, mientras que el BA presentó los valores más inferiores. Por el contrario, los resultados obtenidos por Tesi et al. (2003) en espinaca, afirmó que a mayor oxigenación, mayores valores de crecimiento.

El número de pares de hojas varió, ya que el periodo de cosecha se consideró cuando se formaron cuatro o cinco pares de hojas (Nuez y Hernández-Bermejo, 1994). El número de hojas por planta en el experimento, no estuvo influenciado por las variedades empleadas ni por los diferentes tratamientos, presentando la var. *Diveria* un mayor número de hojas, sin diferencias significativas. Entre tratamientos aunque no existan diferencias significativas, se obtuvo en SA el mayor número de hojas.

Lara et al. (2009) realizó un estudio de producción de *Portulaca oleracea* con distintos niveles de oxigenación concluyendo que el hecho de que no existieran diferencias significativas entre niveles de oxigenación en estos parámetros anteriormente descritos pudo deberse a que no se alcanzó el nivel de deficiencia del recurso oxígeno en la rizosfera, debido a los cortos ciclos de cultivo, o porque esta planta es eficiente en la utilización de oxígeno a bajas concentraciones en el medio radical, como le ocurre a otras especies. Los resultados en otras especies de hoja cultivadas en bandejas flotantes con distintos niveles de oxigenación han sido variables, manifestándose tanto un efecto positivo de la oxigenación sobre las variables de crecimiento, como de una disminución del rendimiento del cultivo, al parecer provocado por la interacción entre el oxígeno y la solubilización de algunos microelementos.

En relación al área foliar de las plantas, la var. *Diveria*, presentó mayor área que la var. *Ganeria* sin variaciones significativas. Entre tratamientos el nivel de oxigenación alto fue el responsable de los menores valores, mientras el nivel de SA obtuvo los menores resultados en el parámetro de área foliar, sin diferencias significativas.

En cuanto al peso fresco y seco, la var. *Ganeria* obtuvo los mayores valores que la var. *Diveria* sin diferencias estadísticas, mientras que en los tratamientos, fue el de SA donde se obtuvieron los mayores valores, no encontrando diferencias significativas entre tratamientos. Ochoa et al. (2008) en canónigos, confirmó que los valores de oxigenación altos favorecieron valores significativamente más elevados en estos parámetros. Estas conclusiones no coinciden con los resultados obtenidos en nuestro experimento.

#### 4.2.2 Crecimiento radicular

En cuanto el crecimiento de raíces, solamente hubo diferencias significativas en el diámetro de la raíz entre variedades (Tabla 4.2), mostrando *Diveria* raíces más gruesas que *Ganeria*, obteniendo en BA el mayor diámetro, pero sin diferencias significativas entre tratamientos. En cuanto a los distintos diámetros que se encuentran a lo largo de la raíz (de 3,5 a 4; de 4 a 4,5 y > de 4,5 mm), se observaron diferencias significativas entre los cultivos, obteniendo en la var. *Diveria* los tramos más largos que en la var. *Ganeria*. El tramo de 0 a 3,5 mm no se refleja en la tabla ya que no mostro diferencias significativas entre los cultivos. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, pero en el tratamiento SA, se obtuvo el tramo más largo entre los 3,5 y 4mm de diámetro y en BA se dieron los tramos más largos desde 4 a > 4,5mm de diámetro.

Por otro lado, se observó que con la AA se obtiene una mayor longitud y área sin diferencias estadísticas con el resto de tratamientos, presentando la var. *Ganeria* mayor longitud y área que la var. *Diveria* pero sin diferencias significativas. En la var. *Ganeria* también se observo un mayor volumen de raíces que en la var. *Diveria* sin diferencias significativas, obteniendo en el tratamiento SA el mayor volumen de raíces que con el resto de tratamientos pero sin diferencias significativas.

**Tabla 4.2:** Parámetros a nivel radicular

Variedad (V)	Longitud (cm)	Área (cm <sup>2</sup> )	Diámetro (mm)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	De 3,5 a 4 mm	De 4 a 4,5 mm	> 4,5 mm
Ganeria	629,16	34,21	0,54 a	1,74	0,50 a	0,25 a	0,26 a
Diveria	585,38	25,94	0,61 b	1,51	1,02 b	0,82 b	1,66 b
<b>Oxigenación</b>							
No aireación	591,07	34,64	0,58	1,94	0,83	0,53	0,93
Baja aireación	587,92	35,02	0,59	1,49	0,79	0,62	1,20
Alta aireación	629,32	35,56	0,57	1,45	0,67	0,46	0,76
<b>Interacción</b>	ns	ns	Ns	ns	Ns	ns	ns

Los niveles de aireación aplicados durante el ciclo de cultivo, no afectaron a la raíz, excepto al diámetro de raíces, obteniendo diferencias significativas entre variedades. Tal vez porque las plantas eran capaces de adaptarse a la reducción gradual de los niveles de oxígeno en el medio. Estos resultados pueden ser debidos a que las diferencias entre tratamientos en cuanto a concentración de oxígeno fueron mínimas. Tesi et al., (2003), en espinaca, obtuvo mayor longitud de raíces a mayor concentración de oxígeno en la solución nutritiva. Por el contrario en nuestro experimento, se observó como en BA se dieron las mayores longitudes. En cuanto a longitud, área y volumen, fue en la var. *Ganeria* donde se obtuvieron los mayores valores, sin diferencias significativas. La longitud y área fue mayor en AA, mientras que el volumen mayor se di en el tratamiento SA, no observando diferencias significativas entre tratamientos.

### 4.3 CONTENIDOS EN NITRATOS, OXALATOS Y COLOR

En cuanto al contenido en **nitratos** para la var. *Ganeria* (Tabla 4.3), se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, en el momento de la cosecha, obteniendo el tratamiento de BA el menor contenido en nitratos que el resto. Por otro lado, la var. *Diveria*, también presentó diferencias

significativas en el momento de la cosecha entre los tratamientos (Tabla 4.3), se obtuvo el mayor contenido en nitratos que el resto, en el tratamiento SA, Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en nitratos se dio en el tratamiento SA para la var. *Diveria*.

Tras 7 días de almacenamiento, hubo diferencias significativas en el contenido de nitratos en las dos variedades y en los diferentes niveles de aireación, respecto al momento de la cosecha. Para la var. *Ganeria* el menor contenido en nitratos lo obtuvo el tratamiento AA y el mayor contenido en BA. Para la var. *Diveria*, los mayores valores se mostraron con SA, significativamente diferentes a BA y AA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en nitratos se dio en el tratamiento BA para la var. *Ganeria*.

El contenido de nitratos, mostró una reducción después de 7 días de almacenamiento para ambos cultivos, mostrando diferencias significativas entre tratamientos, tanto en pre como en post cosecha, en particular el mayor contenido en nitratos se dio en la var. *Diveria*, en el tratamiento SA en pre cosecha y el menor contenido en AA en post cosecha. En cualquiera de los tratamientos aplicados, esta reducción en el contenido de nitrato después de almacenamiento en refrigeración está de acuerdo con los hallazgos de Gómez et al. (2003). Uno de los mecanismos desarrollado por las plantas para superar la hipoxia está relacionado con los niveles de  $\text{NO}^{3-}$ , aunque existe controversia respecto a la reducción de la asimilación de nitrato cuando la concentración de oxígeno disminuye (Ferreira y Sodek, 2002), parece ser que atenúa el estrés por hipoxia, aparentemente por ser aceptor último en la cadena de transporte de electrones y ocupar así el lugar del oxígeno. Gaviola, (1996) estudió los factores de manejo que inciden sobre la calidad de hortalizas, confirmando que las siembras más cercanas al invierno obtuvieron menores cantidades de nitratos, conclusión que confirma nuestros resultados. No obstante, las dos variedades presentaron concentraciones de nitratos inferiores a los 2500 mg/Kg, unos valores que no concuerdan con los estudios realizados por Corre y Breimer, (1979), en los que han incluido a la verdolaga como una especie con un alto contenido de nitratos (aprox. 2,500 mg / kg). Según Paschold (1989), el contenido de nitratos en la planta viene determinado por un conjunto de

factores ambientales (luz, temperatura, entre otros), nutricionales (nitrógeno, fósforo, potasio, entre otros) y propios del cultivo (genotipo, órgano vegetativo, edad) que interactúan entre sí.

En cuanto al contenido en **oxalatos** para la var. *Ganeria* (Tabla 4.3), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, en el momento de la cosecha, obteniendo el tratamiento de BA el mayor contenido en oxalatos que el resto. Por otro lado, la var. *Diveria*, presentó diferencias significativas en el momento de la cosecha entre los tratamientos (Tabla 4.3), se obtuvo el menor contenido en oxalatos que el resto, en el tratamiento BA, con diferencias significativas entre AA y SA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en oxalatos se dio en el tratamiento SA para la var. *Diveria*.

Tras 7 días de almacenamiento, solo hubo diferencias significativas, en la var. *Diveria* en el contenido de oxalatos y en los diferentes niveles de aireación, respecto al momento de la cosecha. Los mayores valores se mostraron con SA y AA significativamente diferentes a BA. Para la var. *Ganeria*, los mayores valores de oxalatos se dieron en BA, sin diferencias significativas entre SA y AA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en oxalatos se dio en el tratamiento BA para la var. *Ganeria*.

En los oxalatos, para la var. *Ganeria*, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, tanto en pre como en post, mientras que en la var. *Diveria*, si observaron diferencias significativas entre tratamientos. En ambas variedades, el contenido en oxalatos disminuyó tras el almacenamiento, obteniendo el mayor contenido en oxalatos en la var. *Diveria* en pre cosecha, SA, mientras que el mayor contenido en post cosecha, se dio en la var. *Ganeria* en BA, ambos valores muy inferiores a los 2000 mg/Kg de peso fresco. Palaniswamy et al., (2004) obtuvo concentraciones de oxalatos en verdolaga del orden de los 2000 mg/Kg de peso fresco.

No hubo diferencias significativas en el **color** (ángulo Hue) (Tabla 4.3), en las hojas de la var. *Ganeria* cultivadas bajo diferentes niveles de aireación en la recolección y después de 7 días de almacenamiento, mientras que las hojas de *Diveria*, presentaron diferencias significativas entre los tratamientos tanto en pre como en post cosecha, obteniendo el mayor valor en pre SA y

mayor en post BA. También se observó que se volvieron verdes después del almacenamiento, especialmente en niveles de AA y BA en post cosecha. Lara et al. (2011) observaron que las hojas de *portulaca* adquirieron un color verde más intenso en ausencia de aireación en la solución nutritiva.

**Tabla 4.3:** Contenidos en nitratos, oxalatos y color de la var. *Ganeria* Y var. *Diveria* en el momento de la recolección y transcurridos 7 días a 5°C, con distintos tratamientos de aireación.

Variedad	Tratamiento	Nitratos mg/Kg f,w	Oxalatos mg/Kg f,w	Color	Variedad	Nitratos mg/Kg f,w	oxalatos mg/Kg f,w	Color
<i>Ganeria</i>					<i>Diveria</i>			
	Sin aireación	842,7 b	30,54	164,6		1423,1 c	33,04 c	23,7 ab
<i>Pre cosecha</i>	Baja aireación	772,3 ab	32,67	163,3	<i>Pre cosecha</i>	850,9 b	26,01 bc	9,5 a
	Alta aireación	888,6 b	27,66	164,4		1016,7 b	30,59 c	15,4 a
	Sin aireación	527,3 ab	22,31	163,5		659,8 ab	19,62 ab	52,9 b
<i>Post cosecha</i>	Baja aireación	878,9 b	25,64	163,3	<i>Post cosecha</i>	337,7 a	13,37 a	129,8 c
	Alta aireación	414,7 a	21,81	163,0		403,1 a	16,51 ab	95,6 c

## 4.4 CONTENIDOS EN ANTIOXIDANTES, FENOLES Y VITAMINA C

En cuanto al contenido en **antioxidantes** para la var. *Ganeria* (Tabla 4.4), se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, en el momento de la cosecha, obteniendo el tratamiento de AA el mayor contenido en antioxidantes que el resto, con diferencias significativas entre SA y BA. Por otro lado, la var. *Diveria*, también presentó diferencias significativas en el momento de la cosecha entre los tratamientos (Tabla 4.4), se obtuvo el mayor contenido en antioxidantes que el resto, en el tratamiento SA, con diferencias significativas entre AA y BA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en antioxidantes se dio en el tratamiento AA para la var. *Ganeria*.

Tras 7 días de almacenamiento, hubo diferencias significativas en el contenido de antioxidantes en las dos variedades y en los diferentes niveles de aireación, respecto al momento de la cosecha. Para la var. *Ganeria* el mayor contenido en antioxidantes lo obtuvo el tratamiento BA, presentando diferencias significativas entre SA y AA. Para la var. *Diveria*, los mayores valores se

mostraron con SA y AA, significativamente diferentes a BA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en antioxidantes se dio en el tratamiento BA para la var. *Ganeria*.

Por otro lado hubo una reducción de antioxidantes tras 7 días de almacenamiento, respecto al momento de la cosecha, para las dos variedades, siendo más acentuado en *Ganeria* en AA, reduciéndose la capacidad antioxidante un 84%. En *Diveria*, la mayor reducción se produjo en BA con una reducción del 71%. Las plantas bajo condiciones de hipoxia despliegan una variedad de estrategias que contrarrestan los efectos adversos de la hipoxia en el crecimiento, por ejemplo el desarrollo de aerénquima en *Portulaca* (Lara et al., 2011), El fenómeno de la hipoxia es particularmente agudo en los períodos de calor, cuando el agua aumenta de temperatura, debido a que el nivel de saturación de oxígeno del agua disminuye y aumenta la tasa de respiración de las raíces (Morard and Silvestre, 1996)) Uno de ellos es el aumento de la capacidad antioxidante debido a una cierta tolerancia a esa falta de oxígeno (Bowler et al., 1992; Biemelt et al., 1998; Garnczarska et al., 2005),

En cuanto al contenido en **fenoles** para la var. *Ganeria* (Tabla 4.4), se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, en el momento de la cosecha, obteniendo el tratamiento de AA el mayor contenido en fenoles que el resto, con diferencias significativas entre SA y BA. Por otro lado, la var. *Diveria*, no presentó diferencias significativas en el momento de la cosecha entre los tratamientos (Tabla 4.4), se obtuvo el mayor contenido en fenoles que el resto, en el tratamiento SA, sin diferencias significativas entre AA y BA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en fenoles se dio en el tratamiento AA para la var. *Ganeria*.

Tras 7 días de almacenamiento, hubo diferencias significativas en el contenido de fenoles en las dos variedades y en los diferentes niveles de aireación, respecto al momento de la cosecha. Para la var. *Ganeria* el mayor contenido en fenoles lo obtuvo el tratamiento AA, presentando diferencias significativas entre SA y BA. Para la var. *Diveria*, los mayores valores se mostraron con AA, significativamente diferentes a SA y BA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en fenoles se dio en el tratamiento AA para la var. *Diveria*.

Los fenoles totales se incrementaron en ambos cultivares después de 7 días de almacenamiento, presentando diferencias significativas entre tratamientos, tanto en pre como en post cosecha y entre variedades. Se sabe que el contenido de compuestos fenólicos determinados puede aumentar durante las condiciones adecuadas de almacenamiento fresco (Kalt, 2005). En nuestro caso, se observó que el mayor contenido en fenoles, en pre cosecha, se obtuvo en la var *Ganeria* en AA, mientras que en post cosecha, se dio en la var. *Diveria* en AA. Nuestro experimento coincidió con el estudio realizado por Lim y Quah (2007) sobre distintos cultivares de *Portulaca Oleracea*, donde encontraron diferencias en la concentración de fenoles en las distintas variedades. Lim y Quah (2007) en el mismo artículo concluyó que existe una alta correlación entre el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de los diferentes cultivares. Disminuye la capacidad antioxidante conforme disminuye el contenido de fenoles totales. Esta conclusión no coincide con los resultados obtenidos en nuestros ensayos. Disminuyendo la capacidad antioxidante y aumentando los fenoles totales conforme aumenta el nivel de oxigenación. Lara et al. (2011) apuntó que el contenido de fenoles y capacidad antioxidante de *portulaca* aumentaron cuando no fue suministrada aireación en la solución nutritiva

En cuanto al contenido en **vitamina C** para la var. *Ganeria* (Tabla 4.4), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, en el momento de la cosecha, obteniendo el tratamiento de BA el mayor contenido en vitamina C que el resto, sin diferencias significativas entre SA y AA. Por otro lado, la var. *Diveria*, si presentó diferencias significativas en el momento de la cosecha entre los tratamientos (Tabla 4.4), se obtuvo el mayor contenido en vitamina C que el resto, en los tratamientos BA y AA, con diferencias significativas entre SA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en vitamina C se dio en el tratamiento AA para la var. *Diveria*

Tras 7 días de almacenamiento, no hubo diferencias significativas en el contenido de vitamina C en las dos variedades y en los diferentes niveles de aireación, respecto al momento de la cosecha. Para la var. *Ganeria* el mayor contenido en vitamina C lo obtuvo el tratamiento SA sin diferencias significativas entre AA y BA. Para la var. *Diveria*, el mayor valor se dio con AA,



sin diferencias significativas SA y BA. Comparando ambas variedades, se observó que el mayor contenido en vitamina C se dio en el tratamiento SA para la var. *Ganeria*.

En el contenido en vitamina C, se observó que transcurrido el periodo de almacenamiento para la var. *Diveria*, se produjo un aumento en el contenido de vitamina C en todos los tratamientos, sin diferencias significativas entre pre y post cosecha, obteniendo en post cosecha SA el mayor contenido en vitamina C. Por otro lado, en la var. *Ganeria*, se observaron diferencias significativas entre tratamientos, tanto en pre como en post, obteniendo en pre cosecha en BA el mayor contenido en vitamina C. También se observó, que en la var. *Diveria*, el contenido en vitamina C disminuyó transcurrido el periodo de almacenamiento, a diferencia que en la var. *Ganeria*.

Es sabido que el contenido de vitamina C en frutas y hortalizas puede estar influenciado por varios factores como los diferentes genotipos, condiciones climáticas de la pre cosecha, técnicas de cultivo, madurez y métodos de cosecha (Lee et al., 2000). También es conocido que la intensidad luminosa y las temperaturas tienen una fuerte influencia en el contenido de vitamina C (Lee et al., 2002). Reuther y Nauer (unpublished report, 1972) mostraron que algunas variedades de mandarinas contenían más vitamina C cuando crecían a bajas temperaturas (20-22°C por el día y 11-13°C por la noche) que a temperaturas altas (de 30-35°C por el día y 20-25°C por la noche).

**Tabla 4.4:** Contenidos en antioxidantes, fenoles y vitamina C de la var. *Ganeria* Y var. *Diveria* en el momento de la recolección y transcurridos 7 días a 5°C, con distintos tratamientos de aireación.

Variedad	Tratamiento	Antioxidantes (AAE)/ Kg f,w	Fenoles totales (CAA)/Kg F,W	Vitamina C	Variedad	Antioxidantes (AAE)/ Kg f,w	Fenoles totales (CAA)/Kg F,W	Vitamina C
<i>Ganeria</i>					<i>Diveria</i>			
	Sin aireación	328,72 c	319,8 a	48,92		364,76 d	354,5 a	18,57 a
<i>Pre cosecha</i>	Baja aireación	349,50 c	339,9 a	50,89	<i>Pre cosecha</i>	275,63 c	268,7 a	64,87 b
	Alta aireación	431,67 d	419,1 ab	25,5		257,02 c	250,7 a	81,29 b
	Sin aireación	70,67 a	397,3 ab	94,31		132,74 b	508,5 ab	3,29 a
<i>Post cosecha</i>	Baja aireación	177,91 b	557,0 bc	60,39	<i>Post cosecha</i>	79,38 a	433,1 a	12,95 a
	Alta aireación	68,29 a	727,3 c	73,31		146,35 b	799,7 b	21,02 a

## 4.5 MICROBIOLOGIA

En cuanto a la población microbiana (Tabla 4.5), en la var. *Diveria*, los mesophilos y psychrophilos obtuvieron diferencias significativas entre pre y post cosecha, entre los tratamientos, obteniendo en BA la mayor población de Mesophilos y en AA la de psychrophilos, en post cosecha. En la var. *Ganeria* también los mesophilos y psychrophilos obtuvieron diferencias significativas entre pre y post cosecha, entre los tratamientos, obteniendo en AA la mayor población de mesophilos y en BA y AA para psychrophilos en post cosecha. Comparando ambas variedades, en pre cosecha, se observó que la mayor población de mesophilos se dio en el tratamiento de AA para la var. *Ganeria*, mientras que para los psychrophilos, la mayor población se dio SA en la var. *Diveria*. No obstante, en post cosecha, la mayor población de mesophilos la obtuvo la var. *Ganeria* en el tratamiento AA que coincidió con la var. *Diveria* en BA, mientras que para los psychrophilos, la mayor población se dio en la var. *Diveria* en AA.

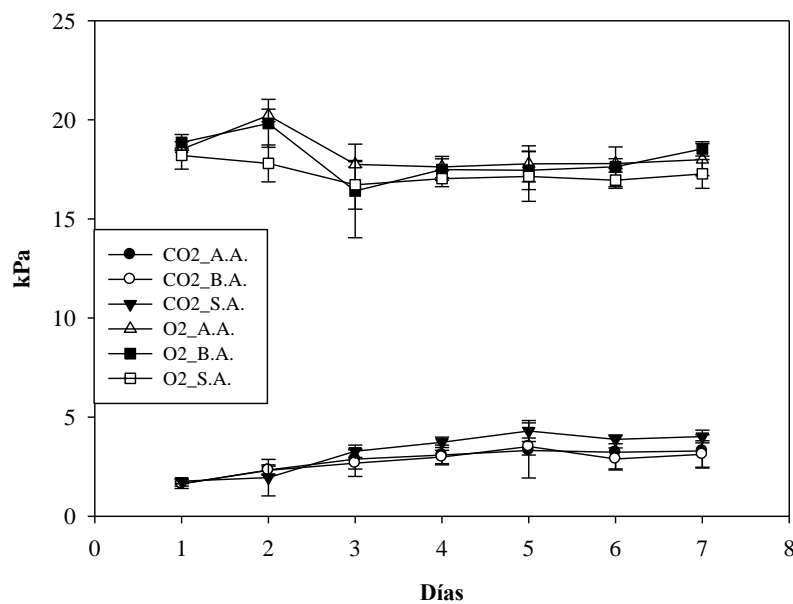
La población microbiana incrementó durante el almacenamiento, particularmente el crecimiento de psicrófilos, tanto en las hojas de *Diveria* como en *Ganeria*, el contenido era significativamente mayor después del almacenamiento, En cualquier caso, la calidad microbiana se mantuvo alta durante todo el proceso, independiente del tratamiento,

**Tabla 4.5:** Población microbiana en hojas de lechuga var, *Diveria* y var, *Ganeria* en el momento de la recolección y tras 7 días de almacenamiento,

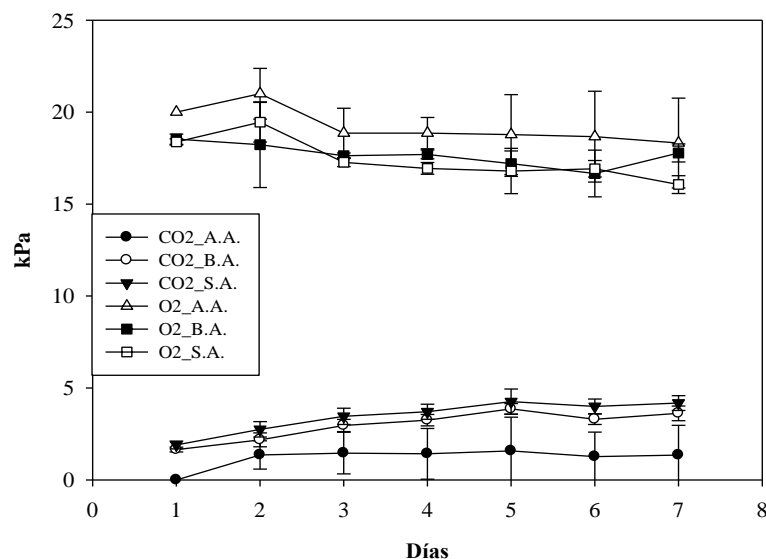
Variedad	Tratamiento	Mesophilos ( CFU)	Psychrophilos ( CFU)	Variedad	Tratamiento	Mesophilos ( CFU)	Psychrophilos ( CFU)
<i>Diveria</i>				<i>Ganeria</i>			
<i>Pre cosecha</i>	Sin aireación	1,1 x 10 <sup>3</sup> a	2,9 x 10 <sup>3</sup> a	<i>Pre cosecha</i>	Sin aireación	4,2 x 10 <sup>2</sup> a	1,1 x 10 <sup>2</sup> a
	Baja aireación	2,9 x 10 <sup>2</sup> a	2,9 x 10 <sup>2</sup> a		Baja aireación	2,5 x 10 <sup>3</sup> a	2,1 x 10 <sup>2</sup> a
	Alta aireación	4,2 x 10 <sup>2</sup> a	1,7 x 10 <sup>3</sup> a		Alta aireación	2,6 x 10 <sup>3</sup> a	6,5 x 10 <sup>2</sup> a
<i>Pos cosecha</i>	Sin aireación	7,1 x 10 <sup>4</sup> ab	1,9 x 10 <sup>5</sup> a	<i>Pos cosecha</i>	Sin aireación	6,9 x 10 <sup>4</sup> ab	1,0 x 10 <sup>5</sup> b
	Baja aireación	1,5 x 10 <sup>5</sup> b	1,5 x 10 <sup>5</sup> a		Baja aireación	6,7 x 10 <sup>4</sup> ab	1,4 x 10 <sup>5</sup> b
	Alta aireación	5,4 x 10 <sup>4</sup> ab	5,2 x 10 <sup>5</sup> b		Alta aireación	1,5 x 10 <sup>5</sup> b	1,4 x 10 <sup>5</sup> b

## 4.6 CONTENIDOS EN CO<sub>2</sub> Y O<sub>2</sub>

La atmósfera alcanzada dentro de los paquetes de hojas después de los tratamientos de aireación durante el crecimiento fueron bastante similares y oscilaron desde 16-18 kPa O<sub>2</sub> y 1-4 kPa CO<sub>2</sub> (Fig. 4,5 y 4,6), Además, los dos cultivares mostraron un patrón respiratorio muy similar. Este resultado implica que la permeabilidad de la película era relativamente alta y que la aireación suministrada al sistema hidropónico no era un factor crítico para el comportamiento de respiración en la lechuga después de la cosecha, Sin embargo, las pequeñas diferencias en la concentración de gas se pueden encontrar en *Diveria*, donde en alta aireación, el O<sub>2</sub> mostró el valor más alto (más de 18 kPa), y en consecuencia el valor de CO<sub>2</sub> fue la más baja (aproximadamente 1 kPa), esto implica una menor tasa de respiración de las lechugas bajo este tratamiento, Sin embargo, este patrón no se observó en *Ganeria*.



**Figura 4,5:** Cambios en la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> tras 7 días de almacenamiento a 5°C en var, *Ganeria*,



**Figura 4.6:** Cambios en la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> tras 7 días de almacenamiento a 5°C en var, *Diveria*

## 4.7 ANALISIS SENSORIAL

Todos los tratamientos mostraron moderada a buena calidad visual (Tabla 4.6), Deshidratación leve sólo se detectó en *Diveria* en BA, No hay sabores, colores, ni aromas extraños detectados. Por lo tanto, la calidad global obtenida después de 7 días a 5 ° C osciló de bueno a moderado, excepto para el tratamiento de baja aireación en *Diveria* que obtuvo una valoración inferior.

**Tabla 4.6:** Análisis de la calidad sensorial en hoja de lechuga *Diveria* y *Ganeria* cultivadas bajo niveles diferentes de aireación y almacenadas en cestas de PE termosellado con un film de PET + PP 35 μm de espesor después de 7 días a 5 ° C.

Variedad	Tratamiento	Apariencia visual	Color extraño	Pardeamiento	Deshidratación	Aromas extraños	Sabor extraño	Calificación global
<b>Diveria</b>	Alta aireación	6,45	1,73	1,82	2	1,36	1,73	6,55
	Baja aireación	5,45	1,82	1,73	2,64	1,18	1,91	5,91
	Sin aireación	5,91	1,91	1,91	2,55	1,45	1,91	6,45
<b>Ganeria</b>	Alta aireación	6,91	1,45	1,73	2,18	1,09	1,73	6,91
	Baja aireación	7,45	1,27	1,18	1,55	1	1,91	7
	Sin aireación	6,73	1,45	1,45	2	1,09	1,91	6,73

## **CAPÍTULO 5: Conclusiones**

En vista de los resultados obtenidos en el estudio realizado sobre, el efecto de diferentes niveles de aireación en la solución nutritiva en dos variedades de lechuga “baby leaf”, cultivadas en un sistema de bandejas flotantes, se extraen las siguientes conclusiones:

- 1.- La var. *Ganeria* mostró el mejor comportamiento agronómico respecto a los parámetros altura, peso fresco, peso seco, longitud de raíces, área y volumen de raíz. Por otro lado, la var. *Diveria* obtuvo mejores resultados en área foliar, número de hojas y diámetro de raíz, independientemente del tratamiento aplicado.
- 2.- En el momento de la recolección, la var. *Ganeria*, obtuvo los mayores valores de antioxidantes y fenoles, mientras que la var. *Diveria*, lo obtuvo en nitratos, oxalatos y vitamina C.
- 3.- Tras 7 días de almacenamiento a 5°C, la var. *Ganeria*, obtuvo los mayores contenidos en nitratos, oxalatos, capacidad antioxidante y vitamina C; la var. *Diveria* solo presentó mayores contenidos en fenoles.
- 4.- El tratamiento con el que se obtuvieron mejores resultados agronómicos (altura, número de hojas, peso fresco, peso seco, área y volumen de raíz), para las dos variedades fue SA; con el tratamiento AA se consiguieron mayor longitud de raíz y con BA mayor diámetro.
- 5.- Entre los periodos de recolección y post cosecha, se observó, como disminuía el contenido de nitratos, oxalatos y antioxidantes para ambas variedades, mientras que aumento el de fenoles. Sin embargo, el contenido en vitamina C aumento para la var. *Ganeria* y disminuyo para la var. *Diveria*.
- 6.-En lo referente al color, se observó, como la var. *Ganeria*, no sufrió apenas pérdida color tras el almacenamiento, por el contrario la var. *Diveria*, si viró de rojo a verde en, concreto en BA.
- 7.-La población microbiana incrementó durante el almacenamiento, particularmente el crecimiento de psicrófilos, tanto en las hojas de *Diveria* como en *Ganeria*, el contenido era significativamente mayor después del almacenamiento, En cualquier caso, la calidad microbiana se mantuvo alta durante todo el proceso, independiente del tratamiento.

8.-En relación a la respiración, los dos cultivares mostraron un patrón respiratorio muy similar. Este resultado implica que la permeabilidad de la película era relativamente alta y que la aireación suministrada al sistema hidropónico no era un factor crítico para el comportamiento de respiración en la lechuga después de la cosecha

## **CAPÍTULO 6: Referencias bibliograficas**



- Artemis, P., Simopoulos, A. 2004. Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants in Edible Wild Plants. *Biol Res.* 37: 263-277.
- Biemelt, S., Keetman, U., Albrecht, G. 1998. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings.- *Plant Physiol.* 116: 651-658.
- Caldwell, C.R. 2003. Alkylperoxyl radical scavenging activity of red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3426-3431.
- Cardenas-Navarro, R., Adamowicz, S., Robin, P., 1999. Nitrate accumulation in plants: a role for water. *J. Exp. Bot.* 50: 613–624.
- Castagnino, A.M., Sastre Vásquez, P., Sasale, S., Boubeé, C., MenetA. y Cardozo, J., 2005. Evolución de la eficacia de la técnica de floating system para la producción de Radicchio rosso var. Di Verona en condiciones controladas. Trabajo de investigación. Facultad de Ciencias Agrarias- UCA, Buenos Aires.
- Conesa, E., Niñirola, D., Vicente, M.J., Ochoa, J., Bañón, S. and Fernández, J.A. 2009. The influence of nitrate/ammonium ratio on yield quality and nitrate, oxalate and vitamin c content of baby leaf spinach and bladder campion plants grown in a floating system. *Acta Hort.* 843: 269-274
- Cros, V., Nicola, S., Fernández, J. A., Martínez, J. J., Carreño, S. 2003. Cultivo de hortalizas en bandejas flotantes: Sistema de riego y control de la solución nutritiva. *Revista Agrícola Vergel* 268: 20-26.
- Della Casa, R., Daltri, C. 2006. La IV gamma continua a crescere. *Informatore Agrario*, 4: 63-65.
- Gibbs, J., Greenway, H. 2003. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. *Funct. Plant Biol.* 30: 1-47.

- Gonella, M., Conversa, G., Santamaria, P., Serio, F. 2004. Production and nitrate content in lamb's lettuce grown in floating system. *Acta Hort.* 644: 61-68.
- González, A., Abellán, M. A., López, J., Fernández, J. A. 2004. Aprovechamiento de especies de hoja pequeña, baby leaf, para IV gama, en cultivo en invernadero. *Agrícola Vergel* 272: 399-408.
- Gómez, P., Artés, F. and Madrid, R. 2003. Nitrogen fertiliser rate and controlled atmospheres effects on the nitrate levels and quality of fresh processed celery sticks. *Acta Hort.* 604: 493-498
- Egea-Gilabert, C., Fernández, J.A., Migliaro, D., Martínez-Sánchez, J.J. and Vicente, M.J. 2009. Genetic variability in wild vs. cultivated *Eruca vesicaria* populations as assessed by morphological, agronomical and molecular analyses. *Sci. Hort.* 121: 260-266.
- Jampeetong, A., Brix, H. 2009. Oxygen stress in *Salvinia natans*: Interactive effects of oxygen availability and nitrogen source. *Environ. Exp. Bot.* 66: 153-159.
- Kalt, W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *J. Food Sci.* 70: 11-19.
- Kaskar C., Fernandez, J.A. Ochoa, J. Niñirola, D., Conesa, E., Tuzel, Y. 2009. Agronomic behavior and oxalate and nitrate content of different purslane cultivars (*Portulaca oleracea*) grown in a hydroponic floating system. *Acta Hort.* 807: 521-525.
- Klaring, H.P., Zude, M. 2009. Sensing of tomato plant response to hypoxia in the root environment. *Sci. Hort.* 122, 17-25.
- Lara, L.J., Egea-Gilabert, C., Niñirola, D., Conesa, E. 2011. Effect of aeration of the nutrient solution on the grow and quality of purslane (*portulaca oleracea*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology.* 86(6): 603-610.

- Maynard, D.N., Baker, A.V., Minotti, P.L., Peck, N.H. 1976. Nitrate accumulation in vegetables. *Adv. Agron.* 28: 71-118.
- Morard, P., Silverstre, J. 1996. Plant injury to oxygen deficiency in the root environment of soilless culture: A review. *Plant Soil*, 184: 243-254.
- Nicola, S., Hoeberechts, J., Fontana, E. 2007. Ebb-and-flow and floating systems to grow leafy vegetables: a review for rocket, corn salad, garden cress and purslane. *Acta Hort.* 747: 585-593.
- Palaniswamy, U. R., MacAvoy, R. J. and Bible, B.B.2002. Effect of nitrate: ammonium nitrogen ratio and oxalate levels of purslane. In: *Trends in new crops and new uses.* (Janick, J. and Whipkey, A., Eds.). ASHS Press, Alexandria, VA. 453-455.
- Rajapakse, N., He, C., Cisneros-Zevallos, L. and Davies Jr., F. T. 2009. Hypobaric and hypoxia affects growth and phytochemical contents of lettuce. *Sci. Hort.* 122: 171-178.
- Santamaria, P., Gonnella, M., Elia, A. Parente, A., Serio, F. 2001. Ways of reducing rocket salad nitrate content. *Acta Hort.* 548: 529-536.
- Santamaria, P., Elia, A., Gonnella, M., Serio, F., Todazo, E. 1997. I fattori che influenzano l'accumulo dei nitrati negli ortaggi. *L'Informatore agrario* 40: 117-121.
- Santamaria, P., Elia, A., Serio, F. 2002. Effect of solution nitrogen concentration on yield, leaf element content, and water and nitrogen use efficiency of their hydroponically-grown rocket salad genotypes. *J. Plant Nutr.* 25: 245-258.
- Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and Ec regulation. *J. Sci. Food Agric.* 86: 10-17.

- Tesi, R., Lenzi, A., Lombardi, P. 2003. Effect of different O<sub>2</sub> levels on spinach grown in a floating system. *Acta Hort.* 614: 631-637.
- Tomás-Callejas, A., Martínez-Hernández, G.B., Artés, F. and Artés-Hernández, F. 2011. Neutral and acidic electrolyzed water as novel sanitizers on fresh-cut mizuna baby leaves. Effects on safety and quality attributes. *Postharvest Biol. Technol.*, 59: 298–306.
- Veen, B.W. 1988. Influence of oxygen deficiency on growth and function of plant roots. *Plant Soil*, 111: 259-266.
- Yang Z, Zheng YN, Xiang L. 2007. [Study on chemical constituents of *Portulaca oleracea*]. *Zhong Yao Cai*. 30(10):1248-50.
- Zheng, Y., Wang, L. and Dixon, M. 2007. An upper limit for elevated root zone dissolved oxygen concentration for tomato. *Sci. Hort.* 113: 162-165.