

Tesis de Posgrado

Aplicación del método de factores combinados a la conservación de frutillas : características textuales

Vidales, Susana Leontina

1997

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Vidales, Susana Leontina. (1997). Aplicación del método de factores combinados a la conservación de frutillas : características textuales. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2972_Vidales.pdf

Cita tipo Chicago:

Vidales, Susana Leontina. "Aplicación del método de factores combinados a la conservación de frutillas : características textuales". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1997.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2972_Vidales.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS

"Aplicación del método de factores
combinados a la conservación de
frutillas"

Características texturales

Susana Leontina Vidales

Tesis presentada para optar al
Título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires

Directora de tesis: *Dra. Stella Maris Alzamora*

1997

Nº 2972

h. 2

ABSTRACT

The objective of this thesis was to study the textural characteristics of minimally processed strawberries.

The fruits were preserved by applying a combined factors technology. Hurdles used include: a slight reductions of water activity (a_w) to values ranging 0,93-0,97; the control of pH ($\approx$ 3,0-3,1) and the addition of preservatives and antioxidant agents (1000 ppm potassium sorbate, 400 ppm ascorbic acid, 150 ppm sodium bisulphite) and a mild heat treatment.

The changes of the maximum force of extrusion (determined with Universal INSTRON Testing Machine) of strawberries subjected to the following treatments were studied:

- blanching (in boiling water or in saturated vapor)
- solute impregnation to a_w 0.93, 0.95 and 0.97 using glucose, sucrose or glucose syrup as humectants
- addition of calcium lactate (0.1 or 0.5 % p/p)

The instrumental texture changes were related to structural and ultrastructural modifications of cell tissues examined by optical, transmission

A good agreement was found between cell membranes and walls alterations and the texture of preserved fruits.

The contents of pectins (water soluble, oxalate soluble and insoluble fractions) and calcium, humidity, solids gain, weight loss, water loss, weight reduction and sucrose, glucose and fructose perfils was also determined in orden to have a better understanding of the texture alteration.

The results will permit to optimize the combined preservation system for obtaining strawberries with good mechanical characteristics.

Keywords/phrases: Texture of strawberries, structural and ultrastructural changes, blanching, osmotic dehydration, calcium addition, combined preservation method, pectins, texture.

RESUMEN

El objetivo de esta Tesis fue el estudio de las características texturales de frutillas mínimamente procesadas.

Las frutas fueron preservadas por aplicación de la tecnología de factores combinados. Los obstáculos utilizados incluyen: una leve disminución de la actividad de agua (a_w) dentro del rango de valores 0,93-0,97, el control de pH ($\approx$ 3,0-3,1) y la adición de preservativos y agentes antimicrobianos (sorbato de potasio, 1000 ppm; ácido ascórbico, 400 ppm; bisulfito de sodio, 150 ppm) y un tratamiento térmico leve.

Fueron estudiados los cambios de la fuerza máxima de extrusión (determinada con un Universal INSTRON Testing Machine) de las frutillas sujetas a los siguientes tratamientos:

- escaldado (en agua en ebullición o en vapor saturado)
- impregnación con soluto hasta a_w 0,93, 0,95 y 0,97, usando glucosa, sacarosa o jarabe de glucosa como humectantes
- adición de lactato de calcio (0,1 o 0,5 % p/p)

Los cambios instrumentales de textura fueron relacionados con las modificaciones estructurales y ultraestructurales del tejido celular examinado por microscopía óptica, electrónica de transmisión y electrónica de barrido. Fue observado un buen ajuste entre las membranas celulares y las alteraciones celulares y la textura de la fruta preservada.

También fueron determinados a los efectos de un mejor entendimiento de la alteración de la textura, el contenido de pectinas (fracciones soluble en agua, soluble en oxalato e insoluble), humedad, sólidos ganados, pérdida de peso, pérdida de agua, reducción de peso y perfiles de sacarosa, glucosa y fructosa.

Los resultados permitieron optimizar el sistema de preservación combinado para obtener frutillas con buenas características mecánicas.

Palabras claves/frases: textura de frutillas, cambios estructurales y ultraestructurales, escaldado, deshidratación osmótica, adición de calcio, método de preservación combinado, pectinas.

AGRADECIMIENTOS

- ◊ A la Universidad Nacional de Luján, Secretaría de Ciencia y Tecnología, a la Universidad de Buenos Aires, al Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), a la OEA y al Programa STD3 de la Unión Europea por el apoyo financiero brindado para la realización de esta tesis.
- ◊ Al Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires por facilitar el uso de sus instalaciones.
- ◊ A la Dra. Stella Maris Alzamora, quien dirigió este trabajo, por su extrema atención, dedicación y estímulo y el apoyo profesional que siempre recibí.
- ◊ A la Dra. Sara Closa, quien siempre me brindó su apoyo y entusiasmo para la realización de esta tarea.
- ◊ A la Dra. Lía Gerschenson por su apoyo.
- ◊ A todos mis compañeros y colegas de la Universidad Nacional de Luján, especialmente al Ing. Carlos A. Almada.
- ◊ A la Dirección de Sistemas de la UNLu, especialmente a su director, Lic. Jorge A. Peri por su apoyo en el tratamiento de los temas de su área.
- ◊ A las Dras. Sandra Guerrero y Ana Rojas por su asesoramiento en el desarrollo de la técnica de determinación de pectinas y a la Lic. Andrea Nieto por su apoyo en el área de determinación de azúcares.
- ◊ A la Dra. Carmen Campos, con quien pude discutir y aclarar temas estadísticos de este trabajo.
- ◊ A las Dras. Elena Ancíbor y María Agueda Castro por su asesoramiento y apoyo en los temas relacionados con la morfología vegetal.
- ◊ A todos mis compañeros del Departamento de Industrias quienes me ayudaron y acompañaron durante todo este tiempo.
- ◊ A Refinerías de Maíz S.A., que proveyó la totalidad de la cerelese utilizada en esta tesis.
- ◊ A mi familia, por su apoyo y comprensión.

Susana Leontina Vidales

A mi familia
A Victoria y a Leticia.

INDICE GENERAL

- 1 - OBJETIVOS p. 1
- 2 - INTRODUCCION p. 7
- 3 - MATERIALES Y METODOS p.81
- 4 - RESULTADOS Y DISCUSION p. 104
- 5 - CONCLUSIONES p. 155
- 6 - ANEXO 1 p.158
- 7 - ANEXO 2 p. 184
- 7 - BIBLIOGRAFIA p.195

INDICE

- 1- OBJETIVOS p.1
- 2- INTRODUCCION p.7
 - 2.1 La textura en los alimentos p.7
 - 2.2 Métodos instrumentales de medición de la textura en alimentos sólidos p.19
 - 2.2.1 Introducción p.19
 - 2.2.2 Ensayos de textura p.20
 - 2.2.2.1 Análisis de perfil de textura p.21
 - 2.2.2.2 Ensayo de compresión simple p.22
 - 2.2.2.3 Ensayo de penetración p.24
 - 2.2.2.4 Ensayo de cizallamiento p.26
 - 2.2.2.5 Ensayo de extrusión p.28
 - 2.3 El tejido vegetal p.34
 - 2.3.1 La estructura celular p.34
 - 2.3.2 Las sustancias pécticas p.45
 - 2.3.2.1 Estructura de las pectinas p.45
 - 2.3.2.2 Propiedades de las disoluciones de pectinas p.48
 - 2.3.2.c Acción de los sistemas enzimáticos sobre las pectinas p.48
 - 2.4 Procesamiento y textura p.59
 - 2.5 Tecnologías de preservación por métodos combinados p.63

- 2.5.1 Introducción p.63
- 2.5.2 Selección de los factores en la conservación de frutas de alta humedad p.66
- 2.6 Técnicas microscópicas en el estudio de la estructura y ultraestructura celular de frutas p.70
- 2.7 La frutilla o fresa p.74
 - 2.7.1 Características botánicas p.74
 - 2.7.2 Cambios de la frutilla relacionados con las características texturales p.77

3- MATERIALES Y METODOS

- 3.1 Materia prima p.81
- 3.2 Preparación de las muestras p.81
 - 3.2.1 Tratamiento térmico p.82
 - 3.2.2 Deshidratación e impregnación con azúcares p.83
 - 3.2.3 Adición de aditivos p.84
 - 3.2.4 Ajuste de pH p.84
- 3.3 Determinación de actividad de agua p.86
- 3.4 Determinación de humedad p.87
- 3.5 Determinación de pH p.87
- 3.6 Determinación de azúcares p.88
 - 3.6.1 Preparación de las muestras y determinaciones realizadas p.88
 - 3.6.2 Técnica de extracción p.88

3.6.3	Características del equipo de cromatografía líquida de alta presión	p.89
3.6.4	Condiciones de trabajo	p.89
3.7	Determinación de calcio	p.89
3.8	Técnicas microscópicas	p.90
3.8.1	Materia prima	p.90
3.8.2	Microscopía Optica	p.91
3.8.3	Microscopía Electrónica de Transmisión	p.92
3.8.4	Microscopía Optica de Barrido	p.92
3.8.5	Localización de polisacáridos	p.92
3.8.5.1	Técnica de coloración de PAS	p.92
3.8.5.2	Otras coloraciones	p.94
3.9	Medición instrumental de textura	p.94
3.10	Determinación de pectinas	p.97
3.11	Cálculo de la pérdida de agua, la pérdida de peso, la ganancia de sólidos y la reducción de peso	p.102
3.12	Análisis estadístico	p.103

4- RESULTADOS Y DISCUSION

4.1	Enfoque experimental	p.104
4.2	Efecto del escaldado, de la impregnación con glucosa y de la adición de calcio en las características texturales	p.105
4.2.1	Análisis instrumental de la textura	p.105

4.2.2	Análisis estructural del tejido vegetal	p.112
4.2.2.1	Efecto del escaldado	p.112
4.2.2.2	Efecto de la adición de calcio	p.116
4.2.2.3	Efecto de la impregnación con glucosa	p.120
4.2.2.4	Estudio adicional de la pared celular por coloración con fast green, azul de cresil y técnica de PAS	p.127
4.3	Efecto del tipo de humectante y el nivel de a_w , la adición de calcio y el tratamiento térmico	p.132
4.3.1	Análisis instrumental de la textura	p. 132
4.3.2	Análisis de la ganancia de sólidos, la pérdida de agua y la reducción de peso	p.142
4.3.3	Análisis de los contenidos de pectinas, sólidos insolubles en alcohol y calcio	p. 143
4.3.4	Análisis de la pérdida de peso, variación de humedad, contenido de azúcar, ganancia de sólidos y pérdida de agua de las frutillas durante la impregnación con glucosa y con sacarosa	p.146
4.3.4.1	Pérdida de peso	p.147
4.3.4.2	Contenido de azúcar	p. 150
4.3.4.3	Ganancia de sólidos, pérdida de agua y contenido de humedad	p.152
5	CONCLUSIONES	p.155

6 - ANEXO 1: TABLAS DE DATOS

Tablas 1.1. Ensayos de retroextrusión p.158

1.1.A Muestras procesadas y almacenadas
durante 102 días p.158

1.1.B Muestras congeladas y enlatadas p.158

1.1.C Muestras impregnadas con distintos
azúcares y a tres niveles de a., p.165

Tabla 1.2. Humedad y pérdida de peso de las muestras de
1.1.B a los seis días de tratamiento p. 173

Tabla 1.3. Sólidos insolubles en alcohol en muestras
impregnadas con glucosa p.174

Tabla 1.4. Contenido de pectinas en muestras impregnadas
con glucosa p.175

Tabla 1.5. Contenido de calcio en las frutillas
impregnadas con glucosa p.178

Tabla 1.6. Reducción de peso, ganancia de sólidos y
pérdida de agua de las muestras impregnadas
con glucosa, sacarosa y jarabe de glucosa
p.179

Tabla 1.7 Muestras impregnadas con glucosa y sacarosa
1.7.1 Contenido de humedad y pérdida de
peso p.180

1.7.2 Concentración de azúcares p.181

1.7.3 Reducción de peso, ganancia de sólidos y
pérdida de agua p.182

7 - ANEXO 2: ANALISIS ESTADISTICO. PROCEDIMIENTOS

- 1- Estimadores estadísticos p.184
 - 1.1 Estadígrafos de posición p.184
 - 1.2 Estadígrafos de dispersión p.184
 - 1.2.a La varianza p.184
 - 1.2.b La desviación estandar p.185
 - 1.2.c El error estándar de la media p.185
 - 1.2.d Intervalo de confianza p.185
- 2- Test de Hipótesis p.186
 - 2.1 Significación estadística p.186
 - 2.2 Prueba de t p.187
 - 2.3 Correlación p.189
- 3- Análisis de varianza p.190
 - 3.1 Bloques completamente aleatorizados p.190
 - 3.2 ANOVA multifactor p.192
 - 3.3 Prueba de Tukey p.194

8 - BIBLIOGRAFIA p.195

1 - OBJETIVOS

La producción de frutillas en la República Argentina ha tenido un gran auge en los últimos años. Esto ha colocado al país en primer lugar en potencial frutillero dentro de Sudamérica, apoyado por la concreción de utilización de técnicas de cultivo particulares como plantaciones tempranas y de buen rendimiento, "mulching" y fertiriego por goteo y utilización de túneles y cámaras de frío (INTA-San Pedro, 1996).

Las zonas de producción más importantes se observan en el **Cuadro 1** y en el mismo se detalla además la superficie cultivada, el rendimiento por hectárea (kg/Ha) y la producción (kg) para el año 1992. Estas zonas proveen de fruta a la Capital Federal de enero a abril y de setiembre a diciembre, por lo cual en los meses de menor oferta (mayo a agosto) se producen importaciones fundamentalmente de Brasil y Chile. En el año 1993 se importaron 5000 Tn y en 1994 8000 Tn (INTA San Pedro, 1996).

Zona	Superficie (Ha)	Rendimiento (kg/Ha)	Producción (kg)
Tucumán	300	8.000	2.400.000
Coronda	550	14.000	7.700.000
Buenos Aires	220	10.000	2.200.000
Corrientes	100	12.000	1.200.000
Otros NEA	10	10.000	100.000
Otros NOA	10	10.000	100.000
Mendoza	10	12.000	120.000
Bariloche sud	10	12.000	120.000
Total	1.210		13.940.000

Cuadro 1: Producción de frutilla. Argentina. Año 1992.
Fuente: AVIFRUAR (Asociación de Viveristas de Frutilla)

Las variaciones de precio de la frutilla en el Mercado Central de la Ciudad de Buenos Aires, a través de los años 1984-1994 y teniendo en cuenta la estacionalidad del producto, puede observarse en el **Cuadro 2**.

Precios	promedio	mensuales	(en u\$s/kg frutilla)	
	Promedio 1985/92	1993	1994	1995
ENERO	1,31	2,20	5,57	5,39
FEBRERO	1,38	3,89	5,55	4,68
MARZO	1,74	3,45	4,98	4,84
ABRIL	2,28	5,74	7,01	6,18
MAYO	2,92	6,94	5,35	7,25
JUNIO	2,88	5,88	4,99	6,05
JULIO	2,76	4,79	4,40	4,20
AGOSTO	2,23	4,89	4,48	2,76
SETIEMBRE	1,80	2,89	1,97	1,53
OCTUBRE	1,49	1,92	2,12	1,28
NOVIEMBRE	1,45	2,90	2,29	1,62
DICIEMBRE	1,41	3,34	2,46	2,58
Promedio	1,98	4,15	4,26	4,03

Cuadro 2: Precios promedio mensuales (en U\$S/kg) de frutilla en el Mercado Central de Buenos Aires (INTA San Pedro, 1996).

Se estima un aumento de la cantidad de hectáreas cultivadas y de la producción por Ha desde 1992 a 1995. Esta estimación estaría corroborada por el ingreso promedio anual de fresco (en cantidad de bultos) al Mercado Central de la Ciudad de Buenos Aires, que fue de 144.356 bultos para el año 1992 y 189.258 bultos para el año 1995 (INTA San Pedro, 1996). Este aumento fue provocado en parte por la irrupción de la industria en la demanda. El 40 a 60 % de la producción tiene como destino el uso en las industrias alimentarias. Los productores de dulces y helados conforman un grupo demandante muy fuerte al que se suma los elaboradores de pulpa para yogur y para congelado.

La República Argentina en realidad podría llegar a tener más de 4.000 Ha cultivadas con frutilla (contra 1.210 Ha del año 1992). Se trata de una actividad que es gran generadora de trabajo rural. Son importantes las nuevas regiones de San Rafael (Mendoza), el Alto Valle y el Noroeste Argentino, ya que extienden los periodos de producción pues tienen posibilidad de cosechar durante más de 8 ó 9 meses al año (INTA San Pedro, 1996).

La industrialización de frutas presenta dos serios factores condicionantes: la estacionalidad de la producción agrícola y el carácter perecedero de la materia prima. Esto obliga a un procesamiento más o menos acelerado de las mismas y a una acumulación de stocks de precio elevado (producto terminado + envase). Es por esto necesario aplicar técnicas de preconservación que actúen como un factor regulador de la

producción extendiendo el período post-cosecha y conservando la fruta.

El procesamiento de frutas tiene como finalidad aumentar la vida media del producto y/o detener el deterioro de la calidad. Los métodos clásicos de preservación son:

- Aplicación de calor (cocción, escaldado, pasteurización, esterilización)
- Reducción de la temperatura (refrigeración, congelación)
- Reducción de la actividad de agua (concentración y deshidratación)
- Uso de productos químicos (benzoatos, sorbatos, etc.)
- Irradiación
- Almacenamiento en atmósfera controlada-modificada y refrigeración.
- Combinación de algunos de ellos

Estas tecnologías de preservación aplicadas a frutas modifican en mayor o menor grado la microestructura del tejido vegetal y estas modificaciones influyen en el comportamiento mecánico y los cambios fisicoquímicos así como en los fenómenos de transporte involucrados en el procesamiento y posterior almacenamiento.

Los consumidores de fruta están poniendo un mayor énfasis no sólo en la conveniencia y estabilidad sino también en la calidad y en las propiedades de "frescura" en lo que hace a la textura, "flavor" y apariencia del producto. Esto ha determinado que desde algunos años atrás se estén desarrollando técnicas de preservación para generar productos mínimamente procesados, de mayor vida media que la de la fruta fresca pero con mejor calidad que las frutas procesadas por algunos métodos tradicionales (por ej. deshidratación, esterilización).

Estas frutas mínima o ligeramente procesadas son productos que tienen una calidad similar a la fruta fresca y pueden ser clasificadas de dos formas, dependiendo del estado del tejido celular. Un producto mínimamente procesado puede ser fresco y en consecuencia el tejido vegetal está vivo y respira. Por otro lado las células pueden no estar vivas debido, por ejemplo, a la aplicación de un tratamiento térmico. En el primer caso sucede un deterioro debido fundamentalmente al desarrollo microbiano y a cambios fisiológicos y bioquímicos, siendo la fruta mínimamente procesada más perecedera que el material crudo del cual se parte. En el segundo caso, el tratamiento mínimo aplicado va a generar cambios considerables por diversas reacciones fisicoquímicas en el color, la textura y la pérdida de nutrientes. En este caso puede realizarse el diseño de tal

manera que resulte un producto estable microbiológicamente y al mismo tiempo que mantenga su cualidad de "fresco".

En la última década se han desarrollado tecnologías innovativas de mínimo procesamiento para obtener productos de fruta estables de alta humedad (PFAH), almacenables en muchos casos por períodos de 3 a 8 meses sin refrigeración. Estas tecnologías se basan en la combinación de varios factores, aplicados cada uno de ellos a niveles subinhibitorios, para impedir o retardar el deterioro por desarrollo de microorganismos y disminuir la pérdida de calidad organoléptica.

Los factores seleccionados han sido generalmente una leve reducción de la actividad acuosa (a_w 0,93 - 0,98), control del pH (3,0 - 4,1), tratamientos térmicos suaves (escaldado en vapor a presión atmosférica o en agua en ebullición) y agregado de antimicrobianos (concentraciones $\leq$ 1500 ppm) y de aditivos para prevenir el desarrollo de cambios fisicoquímicos indeseables. En particular, estas tecnologías han mostrado dar origen a productos de muy superior calidad textural que aquellos conservados por un solo factor de conservación aplicado en forma severa (i.e. congelación, esterilización).

Es de gran interés en la Ciencia de los Alimentos el análisis y cuantificación del comportamiento mecánico de los mismos y la investigación de las causas estructurales y químicas que lo determinan. Su importancia rebasa el aspecto estrictamente académico, por su incidencia económica y comercial.

El análisis estructural de los alimentos ha avanzado rápidamente en los pasados 20 años. La microscopía óptica se usó inicialmente en la ciencia de los alimentos para detectar la contaminación y/o la adulteración de alimentos. Ello fue seguido por el interés en la microestructura misma del alimento y en cómo la misma está relacionada a otras propiedades del alimento específico. Por ejemplo, los estudios estructurales juegan un rol importantísimo en la elucidación de las relaciones entre los atributos sensoriales de los alimentos, incluyendo la textura, y la estructura de los mismos.

Las técnicas de imagen son imprescindibles para evaluar los cambios estructurales y ultraestructurales en término de morfología y composición. Es así que las distintas áreas de ciencia de alimentos más avanzadas a nivel mundial han empezado a incluir estudios de estructura de alimentos en sus líneas de investigación. Es importante entender que el procesamiento de alimentos (i.e. la incorporación de una cantidad de material y/o energía en un alimento) es realmente una operación de reestructuración. Como resultado del procesamiento, se obtiene una estructura fabricada que ha sufrido cambios a varios niveles.

Las técnicas microscópicas son las más apropiadas para conocer el comportamiento de los materiales alimenticios ante el estrés mecánico y otros tratamientos (calentamiento, deshidratación, etc) y poder definir y evaluar la aceptación por parte del consumidor y mejorar su procesamiento. Estas técnicas son los únicos métodos que producen resultados en forma de imágenes mas que datos numéricos, lo cual da una visión real de los cambios estructurales producidos.

En este contexto el objetivo del presente trabajo fue el estudio de los cambios instrumentales de la calidad textural en frutillas mínimamente preservadas por un método de factores combinados debido al procesamiento y almacenamiento y su relación con los cambios estructurales y ultraestructurales del tejido vegetal. El conocimiento de la relación textura-estructura permitirá un mejor diseño del método de preservación, tanto en la selección de los factores a combinar como en sus niveles, para lograr características texturales óptimas en el producto final conservado.

Se siguieron las siguientes etapas:

⇒ Aplicación de la tecnología de preservación por métodos combinados, variando los distintos factores de conservación y/o sus niveles (reducción de a_w , control del pH a valores en el rango 3.0-3.5, escaldado durante 2' y agregado de antimicrobianos).

⇒ Se estudió la influencia en las características texturales de los siguientes factores:

- * Nivel de a_w (0,93 ó 0,95)
- * Tipo de humectante (glucosa, sacarosa, jarabe de glucosa)
- * Adición de iones calcio
- * Escaldado en agua o en vapor

⇒ Análisis instrumental de las características texturales mediante el ensayo de retroextrusión.

⇒ Análisis microscópico estructural y ultraestructural (microscopía óptica, de transmisión y de barrido) del tejido vegetal y en especial de la pared celular.

⇒ Cuantificación de las sustancias pécticas del tejido vegetal.

⇒Cuantificación de iones calcio del tejido vegetal.

⇒Cuantificación de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), ganancia de sólidos, pérdida de peso y pérdida de humedad durante el tratamiento de impregnación con glucosa y sacarosa.

Los principales aspectos sobre la frutilla (composición, descripción del tejido vegetal, características estructurales) así como los métodos instrumentales de medición de textura de alimentos y los métodos ópticos y electrónicos empleados de estudio de la estructura y ultraestructura celular, se describen en el Capítulo 1 (Introducción). Además, se presenta una revisión de los antecedentes publicados en la literatura sobre distintos factores de conservación que modifican la estructura celular generando variaciones en la textura de la frutilla y de otros frutos.

La metodología combinada de conservación y las técnicas utilizadas en cada etapa se detallan en el Capítulo 2 (Materiales y métodos).

Los datos obtenidos por la aplicación de las técnicas experimentales, los resultados y la discusión se incluyen en el Capítulo 3 (Resultados y discusión).

En el Anexo 1 se consignan los datos experimentales obtenidos en las distintas experiencias.

En el Anexo 2 se desarrollan las técnicas estadísticas aplicadas para el análisis de los datos obtenidos a fin de definir las significancias estadísticas de los mismos.

2- INTRODUCCION

2.1 La textura en los alimentos

Los cuatro principales factores de calidad de un alimento son:

Apariencia: comprende color, forma, tamaño, brillo, etc. Está basada en las propiedades ópticas y es una manifestación visual de la forma y el tamaño.

"Flavor": comprende sabor (percibido sobre la lengua) y olor (percibido en los centros olfativos). Es la respuesta de los receptores en la boca a los estímulos químicos.

Textura: es la respuesta de los sensores táctiles a los estímulos físicos como resultado del contacto de alguna parte del cuerpo y el alimento.

Nutricion: es el aporte de sustancias nutritivas y minerales necesarios para el desarrollo y mantenimiento humano.

De la lista de los factores de calidad, los tres primeros son directamente perceptibles por el consumidor, por lo cual son llamados "factores de aceptabilidad sensorial". El aporte nutricional es un factor de calidad pero no de aceptabilidad por no ser percibido sensorialmente (Bourne, 1982).

Dentro del contexto de los alimentos, el término "textura" se refiere a un espectro de propiedades mecánicas pero también geométricas y de superficie perceptibles por mediciones mecánicas y táctiles. Existen casos en que la complejidad de la medición objetiva es tal que se utilizan receptores visuales y auditivos (Peleg, 1993).

La importancia de la textura sobre la aceptabilidad varía ampliamente, dependiendo del tipo de alimento. Según Bourne (1982), el efecto de la textura puede ser:

Crítico, para aquellos alimentos en que la textura es la característica predominante, por ejemplo, carnes y chips de papa.

Importante, para aquellos alimentos en los cuales la textura es altamente significativa pero no el factor dominante de calidad, sino que colabora en forma equitativa con el "flavor" y la apariencia. Es el caso de muchas frutas, vegetales, panes y dulces.

Menor, para aquellos alimentos en que la textura tiene una contribución insignificante sobre la calidad; tal es el caso de muchas bebidas y sopas en lata.

Existe un cierto grado de confusión respecto a la nomenclatura del atributo textura para su aplicación en alimentos. Según Kramer (1973), los términos viscosidad y consistencia de alimentos fueron tratados de acuerdo con los conceptos de la reología clásica, aplicándose a líquidos newtonianos y no newtonianos y a materiales semisólidos respectivamente, mientras que el término textura fue reservado para alimentos sólidos en los cuales la estructura compleja causa dificultades para referirlos a los sistemas modelo de la reología clásica.

Dado que no existe una definición enteramente satisfactoria del término *textura*, puede decirse con un cierto grado de exactitud que el término *textura* de los alimentos tiene las siguientes características:

1. Es un grupo de propiedades físicas que derivan de la estructura propia del alimento.
2. Dentro de las propiedades físicas, comprende las mecánicas o reológicas (quedan excluidas las ópticas, eléctricas, magnéticas o térmicas).
3. Consiste en un grupo de propiedades, no en una sola propiedad.
4. Sensorialmente, es detectada por la cavidad bucal, pero pueden ser utilizadas otras partes del cuerpo (manos).
5. Las mediciones objetivas pueden ser función de masa, distancia y tiempo únicamente.

Puesto que la textura consiste en un número diferente de sensaciones físicas, es más correcto hablar de "propiedades texturales", mientras que "textura" se refiere a un parámetro único (Bourne 1982).

Algunas palabras son utilizadas relacionando la textura con el estado de un alimento. La Organización Internacional para la Estandarización, Standard 5492/3, 1979, ha desarrollado las siguientes definiciones:

- **Consistencia:** Es toda sensación resultante de la estimulación mecánica de los receptores táctiles, especialmente de la boca y varía con la textura del producto.
- **Dureza (adjetivo):** Como una característica de textura, describe un producto cuyo comportamiento muestra una resistencia sustancial a la deformación o el quiebre.

- Blando (adjetivo): Como una característica de textura, describe un producto que muestra una leve resistencia a la deformación.
- Terneza (adjetivo): Como una característica de textura, describe al producto que, durante la masticación, presenta una pequeña resistencia a la ruptura.
- Firmeza (adjetivo): Como una característica de textura, describe al producto que, durante la masticación, presenta una resistencia moderada al corte o quiebre.

En el caso de los alimentos, el comportamiento reológico (deformación y fluidez) está directamente relacionado con sus características texturales. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los alimentos son materiales complejos, tanto desde el punto de vista estructural como reológico. Los estudios sobre caracterización y medida del comportamiento reológico de los alimentos sólidos son posteriores a 1970. Las causas principales son: a) la gran variedad y complejidad de la composición y estructura de los alimentos, b) la dificultad de adaptar y utilizar los modelos reológicos teóricos para explicar el comportamiento de los materiales reales y c) falta de instrumentación adecuada. Estas dificultades explican la aplicación de métodos de medida empíricos y su utilización masiva en la industria de los alimentos (Szczesniak, 1972).

En un sólido elástico, isotrópico y homogéneo, la tensión o fuerza aplicada se reparte uniformemente entre los enlaces interatómicos y la relación entre ésta y la deformación producida se mide por el valor del módulo de elasticidad. En los materiales reales la distribución de la fuerza no es uniforme y los enlaces se distorsionan, produciéndose una deformación progresiva y no totalmente recuperable: la incidencia de la componente viscosa en el comportamiento mecánico de la mayoría de los alimentos llamados sólidos no es despreciable y debe tenerse en cuenta al caracterizarlos reológicamente (Fiszman y col, 1983).

Existen conceptos preliminares que deben tenerse en cuenta para luego adecuar las investigaciones que se realicen sobre la textura de los alimentos.

Los **sólidos** y los **líquidos**, dentro del área de alimentos, son los más estudiados. Los **sólidos** son capaces de retener un definido tamaño y forma y una dada resistencia (bajo ciertos límites) cuando se aplica una fuerza que tiende a deformarlos. Los **líquidos** por otro lado, son sustancias incapaces de soportar la aplicación de una fuerza. Ellos fluyen y tienden a asumir la forma del recipiente que los soporta. Muchos alimentos no son perfectamente sólidos ni líquidos, pero existe un estado de agregación que puede ser

definido como estado **semisólido**. Muchos alimentos pueden ser considerados **sólidos blandos**, es decir, no fluyen como un líquido pero soportan sin deformarse fuerzas externas muy pequeñas. Otra categoría es la de **alimentos compuestos**, que comprende aquellos que son predominantemente líquidos y que contienen una cantidad perceptible de partículas no líquidas. Es el caso de las sopas, salsas, etc. (Kramer y col, 1973).

Es conveniente considerar los conceptos de **fuerza** y **deformación** en forma simultánea porque los dos fenómenos coexisten, dado que la deformación es la respuesta de un cuerpo a la aplicación de una fuerza. La **fuerza** es una influencia que causa un movimiento en el estado original del material o en el caso de un material elástico lo mantiene en una configuración deformada. El movimiento consiste en una traslación o rotación que no incluye cambios en la posición relativa de las partículas de la masa (movimiento de un cuerpo rígido) o un cambio donde ocurre una variación en la posición relativa de las partículas en el interior del cuerpo. **Deformación** es el término que se utiliza para sólidos en este caso y **flujo** es una relación dependiente del tiempo de la deformación que se utiliza comúnmente para el movimiento de fluidos. La deformación puede ser conservativa o disipativa con respecto a la energía mecánica dentro del material deformado. Ejemplos clásicos de estos dos tipos de comportamiento son: **deformación elástica** (recuperable) y **deformación viscosa** (no recuperable). Entre los dos extremos existe el concepto de **viscoelástico** (no es enteramente disipativo ni conservativo, pero combina estos dos efectos) (Kramer y col, 1973).

Cuando una fuerza externa actúa sobre un cuerpo, este experimenta una deformación. Además de sufrir cortes y cizallas superficiales, el cuerpo también desarrolla estos efectos en forma interna. El **esfuerzo** o **tensión** es la intensidad en un punto dado o sobre la superficie de un cuerpo, de la componente de la fuerza que actúa en un dado plano a través de un determinado punto. Se expresa en términos de fuerza por unidad de área. Se puede hablar de esfuerzo de tensión (σ), de compresión (ϵ) o de corte o cizalla (τ), dependiendo si los componentes del esfuerzo son aplicados en forma continua y tensando, hacia o tangencialmente al plano sobre el cual las fuerzas actúan (**Figura 1**) (Andersson y col, 1994). El esfuerzo aplicado es la expresión matemática de un cambio de forma o tamaño de un cuerpo con referencia a sus valores originales. Por ejemplo, en un ensayo de tensión, la deformación, ϵ , es $\Delta L/L$, donde L es la longitud. Es un parámetro no dimensional (es una relación o porcentaje), pero frecuentemente puede ser expresada en cm/cm. Al igual que para

la tensión, existen tres clases de deformaciones: de extensión, de compresión y de corte o cizalla.

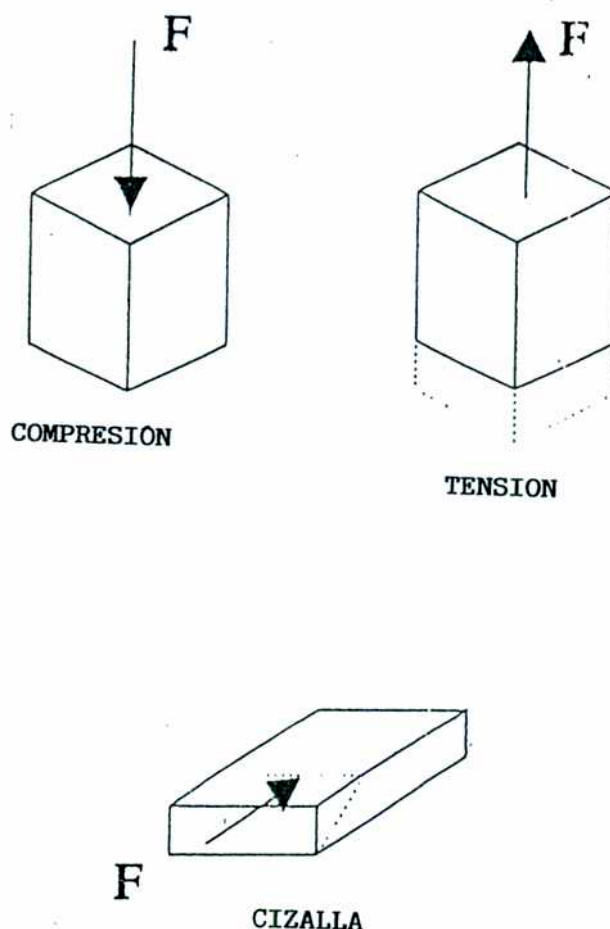


Figura 1: Acción de las fuerzas aplicadas sobre los sólidos

La resistencia a la tensión o compresión de un material es la máxima tensión o compresión que puede soportar el material antes de la ruptura. Se calcula la máxima carga de fuerza durante la tensión o compresión y el área del espécimen. En forma similar, la máxima resistencia al corte que puede soportar un espécimen se calcula desde la máxima carga durante un test de esfuerzo (por ejemplo torsión) y la geometría del espécimen (Kramer y col, 1973).

Desde el punto de vista de la reología, existen diferentes tipos de cuerpos o materiales que reflejan distinto comportamiento, por ejemplo elástico, plástico, viscoso y viscoelástico (deMan y col, 1976).

Aunque pocos materiales son perfectamente elásticos, viscosos o plásticos las teorías de elasticidad, viscosidad o plasticidad son muy importantes en los estudios que se realizan sobre el comportamiento de los materiales.

Un cuerpo es perfectamente **elástico** si la deformación ocurre instantáneamente con la aplicación de la fuerza y si desaparece completa e instantáneamente cuando esa fuerza se retira (**Figura 2**) (Muller, 1973).

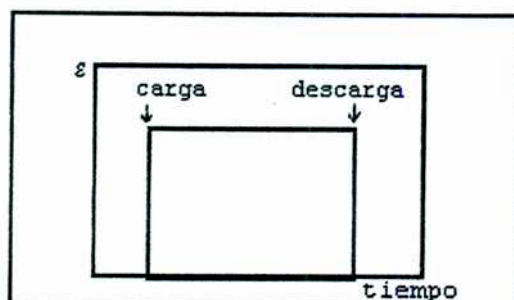


Figura 2: Curva deformación-tiempo de un sólido hookiano.

En los **cuerpos elásticos** la relación entre tensión y deformación está representado por una línea recta que pasa por el origen hasta el llamado límite de elasticidad, de acuerdo con la ley de Hooke

$$\sigma = E \varepsilon$$

donde σ = tensión

ε = deformación relativa

E = módulo

El factor de proporcionalidad E se denomina módulo de elasticidad o módulo de Young cuando la carga es uniaxial y módulo de Coulomb (G) cuando la tensión es de corte o cizalla.

Cuando un cuerpo presenta elasticidad retardada la deformación es función del tiempo. La curva tensión-deformación se observa en la **Figura 3** (deMan y col, 1976).

La parte superior de la curva representa el aumento de los valores de tensión. Cuando la tensión se reduce (a un tiempo T) las deformaciones correspondientes son mayores sobre la parte inferior de la curva. Cuando la tensión llega a 0 la

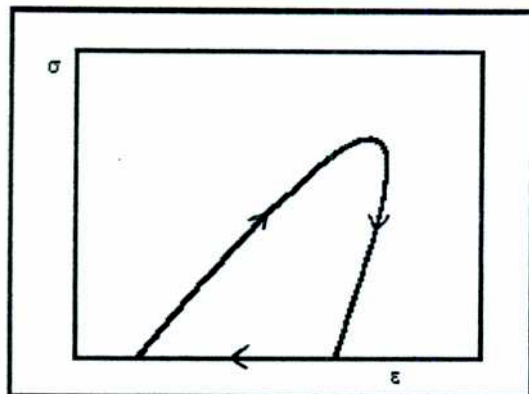


Figura 3: Curva tensión-deformación de un cuerpo con elasticidad retardada.

deformación tiene aún un valor finito que lentamente retorna a 0. Esta deformación no es permanente sino que existe un retardo para recuperar su forma (**Figura 4**) (deMan y col, 1976).

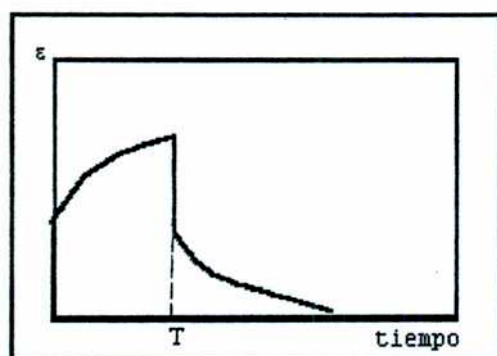


Figura 4: Curva deformación-tiempo para un cuerpo con elasticidad retardada.

Un líquido viscoso o newtoniano es aquel que muestra una proporcionalidad directa entre la tensión de cizallamiento (τ) y la intensidad de cizallamiento (D) (**Figura 5**) (deMan y col, 1976).

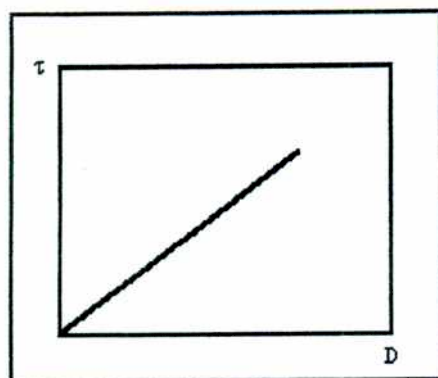


Figura 5: Representación gráfica de la tensión de cizallamiento en función de la intensidad de cizallamiento o gradiente de velocidad.

Su comportamiento está representado por

$$\tau = \eta D$$

donde η es la constante de proporcionalidad y es denominada coeficiente de viscosidad. η depende de la temperatura y suele también designarse como viscosidad dinámica (Muller, 1973).

El líquido newtoniano carece de propiedades elásticas, es incompresible, isótropo e irreal. Sin embargo muchos líquidos reales ofrecen comportamiento newtoniano dentro de un amplio rango de tensiones de cizallamiento.

Un material **plástico** es definido como aquel producto que fluye cuando la tensión excede un valor límite. A este valor se lo denomina tensión de deformación plástica (τ_0). Para fines prácticos, las sustancias plásticas se distinguen de los líquidos en que no fluyen bajo la fuerza de gravedad (**Figura 6**) (Muller, 1973; deMan y col, 1976).

Cuando la tensión es retirada, el material retiene totalmente la deformación. Por debajo del valor de τ_0 existen dos componentes. Uno de ellos es constante y está representado

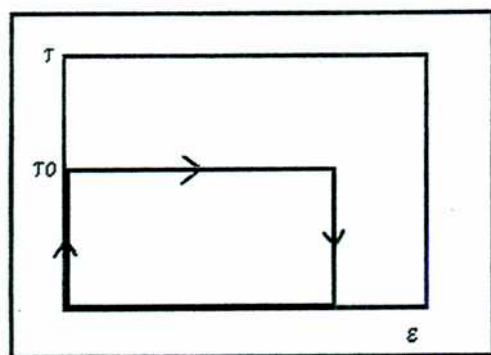


Figura 6: Curva tensión-deformación de un material plástico ideal.

por el elemento fricción y el otro es proporcional al efecto de corte y representa el efecto del flujo viscoso. Al remover el esfuerzo, la deformación decrece instantáneamente y después permanece constante. La disminución representa el componente elástico y la deformación plástica es equivalente.

Cuando el esfuerzo de corte es mayor que τ_0 , la deformación se incrementa en un tiempo similar al del cuerpo de Maxwell (**Figura 7**) (deMan y col, 1976).

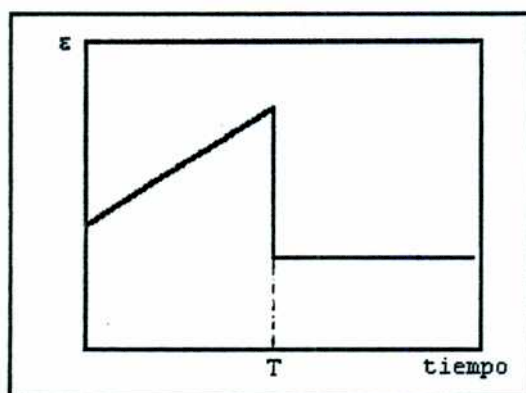


Figura 7: Curva deformación-tiempo de un material plástico

Se habla de cuerpos **viscoelásticos** cuando los mismos combinan las propiedades viscosas y elásticas (Fiszman y col, 1983). El cuerpo elástico puede ser de elasticidad parcialmente retardada. Los cuerpos viscoelásticos puede fluir lentamente y en forma no reversible bajo la aplicación de fuerzas muy pequeñas. Tal es el caso de los alimentos y en general de los materiales biológicos. No se comportan como sólidos, sino que incluyen en su composición una matriz sólida

más o menos elástica y una fase líquida que aporta el elemento viscoso.

El material puede comportarse con viscoelasticidad lineal cuando la relación entre la tensión aplicada y la deformación resultante es sólo función del tiempo. Sin embargo, en general, el comportamiento de los materiales también suele variar con la magnitud de la fuerza aplicada. En este caso se dice que presenta viscoelasticidad no lineal. Usualmente la caracterización reológica de los materiales viscoelásticos se realiza en condiciones que permitan la aplicación de las bases teóricas que definen el fenómeno de viscoelasticidad lineal.

Dada la complejidad del comportamiento de los materiales reales, se recurre a modelos mecánicos para explicar su respuesta ante la aplicación de una fuerza externa. Cada modelo permite explicar un determinado comportamiento y permite definirlo con ecuaciones matemáticas.

En el diseño de los modelos mecánicos intervienen dos elementos simples que representan los diferentes comportamientos. Ellos son: a) el elemento elástico ideal que se representa mediante un muelle y cuyo comportamiento queda definido por la constante elástica E y b) el elemento viscoso que se representa mediante un amortiguador en el que el pistón se mueve holgadamente dentro de un líquido newtoniano y cuyo comportamiento queda definido por su viscosidad.

Los modelos que se utilizan para la interpretación y clasificación del comportamiento viscoelástico son el Modelo de Maxwell y el Modelo de Kelvin.

El **modelo de Maxwell** representa el comportamiento de un material cuya primera fase de respuesta ante la fuerza externa aplicada es la de un sólido elástico. Mecánicamente el muelle (M) y el amortiguador (η) están dispuestos en serie (**Figura 8A**). La deformación total (ϵ) del sistema, para un tiempo t , es la suma de las deformaciones de los dos elementos,

$$\epsilon(t) = \epsilon_{\eta} + \epsilon_E$$

y la tensión (σ) que soportan ambos es de igual magnitud

$$\sigma = \sigma_{\eta} = \sigma_E$$

Si se analiza el diagrama tensión-deformación para dos velocidades de deformación distintas, ϵ_1 y ϵ_2 , se observa que, inicialmente, toda la fuerza que recibe la utiliza el

componente elástico (el muelle se estira) y la primera porción de la curva responde a la ley de Hooke (zona I) (Figura 8B). Al alcanzar tensiones mayores intervienen ambos elementos: el elemento viscoso disminuye la deformación correspondiente a la constante E (Módulo de elasticidad) del muelle hasta que alcanza su máxima elongación (zona II). A partir de este valor de tensión, la deformación es absorbida por el elemento viscoso y se produce en el sistema un flujo newtoniano; las pendientes de las curvas disminuyen hasta anularse (zona III) (Fizman y col, 1983).

En un diagrama deformación-tiempo la Figura 8C representa la respuesta del modelo frente a una acción de carga y descarga (σ constante). Al ser aplicada la tensión, el componente elástico se deforma instantáneamente hasta alcanzar el valor que fija su módulo E , a partir del cual la deformación es regida por el componente viscoso y se establece un flujo newtoniano. En el momento de la descarga el sistema recupera instantáneamente la cantidad que corresponde al elemento elástico.

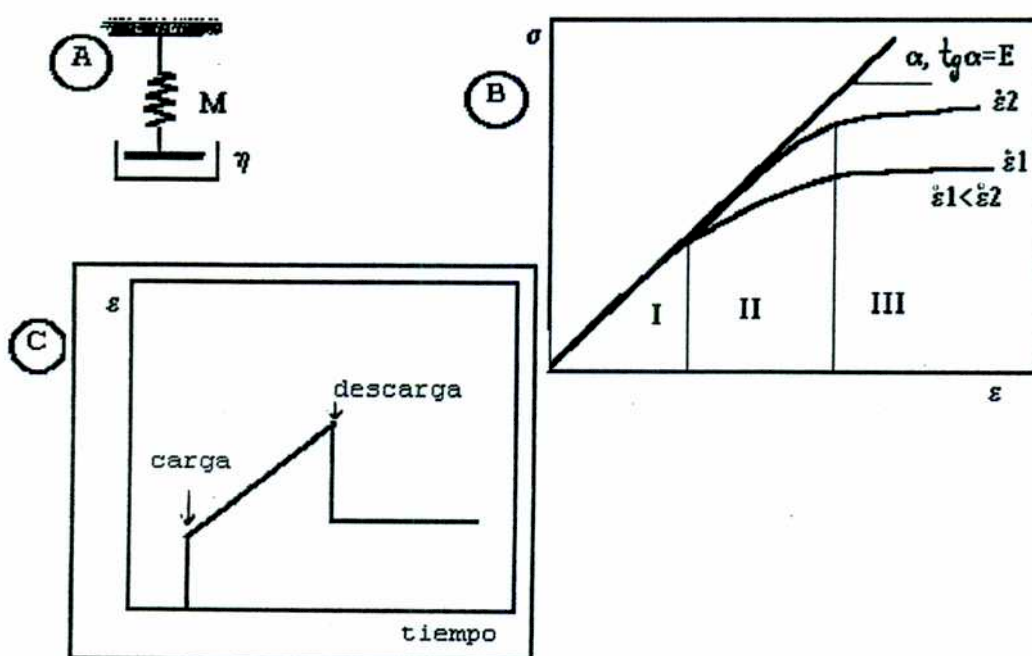


Figura 8: A:representación mecánica del modelo de Maxwell
B:diagrama tensión-deformación
C:diagrama deformación-tiempo

El modelo de Kelvin representa el comportamiento de un material en el que, al aplicarle una fuerza, sus elementos

viscosos y elásticos actúan en forma simultánea. Mecánicamente se compone de un muelle y un amortiguador dispuestos en paralelo (Figura 9A) (Fiszman y col, 1983).

La tensión total (σ) se reparte entre ambos elementos:

$$\sigma = \sigma_e + \sigma_\eta$$

mientras que la deformación es igual en todo momento, tanto en el muelle como en el amortiguador:

$$\varepsilon = \varepsilon_e = \varepsilon_\eta$$

Si se analiza el diagrama tensión-deformación para dos velocidades de deformación distintas, se puede ver que el sistema alcanza instantáneamente el valor de tensión correspondiente al componente viscoso y luego, mientras se mantiene constante, la tensión sobre el componente elástico va aumentando gradualmente (Figura 9B).

Cuando se aplica una tensión constante (σ_0), la deformación del sistema aumenta gradualmente con el tiempo (Figura 9C). Cuando se retira la fuerza aplicada, a partir de la deformación alcanzada, el sistema tiende a recuperar su estado inicial en un tiempo infinito.

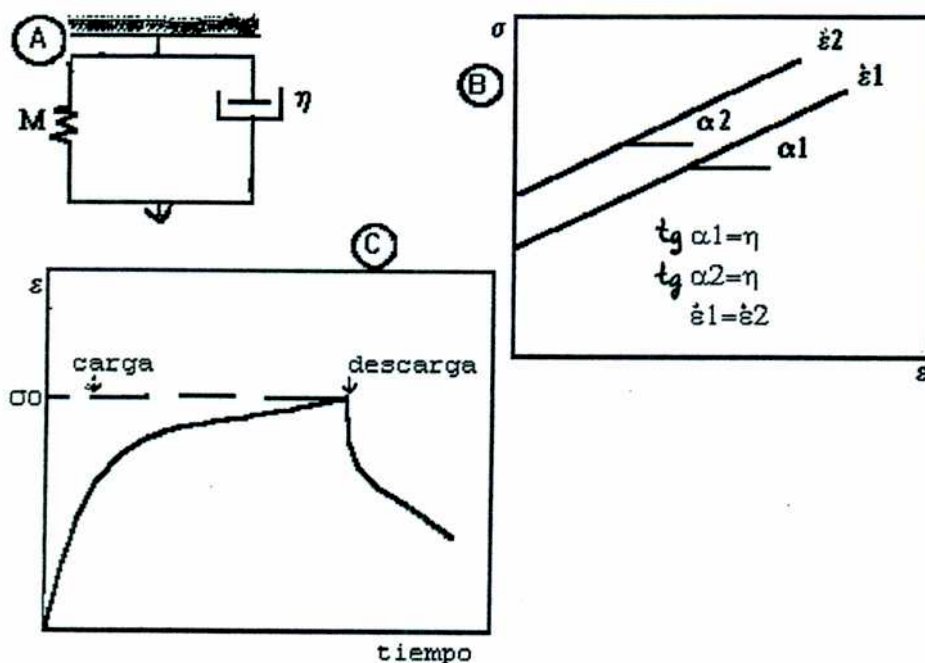


Figura 9: A: representación mecánica del modelo de Kelvin
B:diagrama tensión-deformación
C:diagrama deformación-tiempo

2.2 Métodos instrumentales de medición de la textura en alimentos sólidos.

2.2.1 Introducción

Dentro de los principios de la reología, se asume que en las situaciones de medición de la textura debe incluirse el conocimiento de la geometría del material. Una de las mayores dificultades en la reología de los alimentos es el problema de relacionar las condiciones prácticas del ensayo con las unidades básicas de tensión y deformación. Para alimentos líquidos en los cuales las mediciones se realizan con un viscosímetro, el problema es relativamente menor. Sin embargo muchos de los alimentos son sólidos o semisólidos y deben ser analizados por compresión, tensión o cizalla y usualmente las deformaciones son muy grandes. En estos casos se presentan dificultades para interpretar los resultados en términos de las unidades básicas y las teorías sirven entonces para realizar aproximaciones para la interpretación de los fenómenos que se observan. En la práctica, las mediciones instrumentales se realizan sometiendo a los alimentos a esfuerzos de compresión, tensión, cizalla y fluidez (de Man y col ,1976).

Todos los materiales vegetales exhiben comportamiento viscoelástico, esto es, su respuesta textural está gobernada por características elásticas y viscosas y es dependiente del tiempo. Por ello deben tenerse en cuenta las condiciones fijadas para la realización del ensayo a aplicar. Si estas varían, variará la respuesta textural (Jackman y Stanley, 1995).

Según Lin y Pitt (1986), existen tres formas en que se deteriora el tejido vegetal por compresión: ruptura de la pared celular, separación intercelular y relajación de la célula por la migración de los fluidos celulares fuera de ella. De cualquier modo el deterioro dominante va a estar determinado por la fuerza relativa de las uniones y la pared celular, por la presión de turgor, por la fuerza aplicada, por el tipo de variedad y el grado de madurez del tejido y la forma en que el pretratamiento a que ha sido sometido afecte al tejido vegetal.

Por todas las dificultades que se presentan y como se mencionó anteriormente, los métodos instrumentales usados en la medición de las propiedades texturales son de naturaleza empírica. Los resultados de estas mediciones se expresan en

términos de fuerza, energía, dureza, consistencia, viscosidad, fragilidad, firmeza, etc.

Muchos de los métodos instrumentales de textura de alimentos están basados en ensayos mecánicos que miden la resistencia del alimento a la aplicación de una fuerza mayor que la fuerza de gravedad. En general están compuestos de cuatro elementos básicos:

a) Un dispositivo de contacto con la muestra. Puede ser una punta, un cono de penetración, una cuchilla para corte, un grupo de alambres de corte, etc.

b) Un mecanismo de conducción para impartir movimiento (horizontal, vertical, rotacional o de elevación). Puede tener velocidad constante o variable.

c) Un elemento sensor para detectar la resistencia que ofrece la muestra a la fuerza aplicada.

d) Un sistema de lectura-salida que puede ser un dial, un display, un graficador de las curvas de fuerza-distancia o fuerza-tiempo, etc.

Muchos, pero no todos, de los instrumentos de medición tienen una plataforma para soportar la muestra sólida o un recipiente para los productos semilíquidos

La mayoría de los mecanismos de medición son destructivos, por lo cual no pueden realizarse varias pruebas en un mismo espécimen.

Existen distintos tipos de equipo para realizar mediciones de textura en alimentos. Estos pueden ser enumerados como: penetrómetros, viscosímetros, compresímetros, equipos para corte, masticómetros, equipos para extrusión, etc. Algunos, como la máquina de ensayos INSTRON, por medio de distintos dispositivos, pueden realizar casi todos los ensayos citados. Otros, son específicos para un dado ensayo (por ejemplo, los viscosímetros) (Kramer y Szczesniak, 1973).

2.2.2 Ensayos de textura

Los ensayos instrumentales para la medición de la textura en alimentos deben ser aplicados de acuerdo con el tipo de material, teniendo en cuenta su forma, tamaño, necesidad de un recipiente contenedor, composición, etc. Estos ensayos generan información que debe ser analizada e interpretada para la obtención de parámetros que caracterizarán al alimentos. Se describen brevemente a

continuación los ensayos más comúnmente utilizados para medir la textura de los alimentos.

2.2.2.1 Análisis de Perfil de Textura (APT)

Este ensayo mide la fuerza necesaria para realizar una mordida en una pieza de alimento. Un cubo de aproximadamente 1 cm de lado es comprimido hasta el 25% de su altura original (75% de compresión) en dos tiempos, imitando la acción de la boca cuando se produce la masticación. De este ensayo se obtiene una curva fuerza-tiempo, que permite obtener parámetros texturales que pueden correlacionarse muy bien con las evaluaciones sensoriales de esos parámetros (Bourne, 1976).

Existen varios instrumentos para la realización de este ensayo. Una curva típica se observa en la **Figura 10** (Andersson y col, 1994).

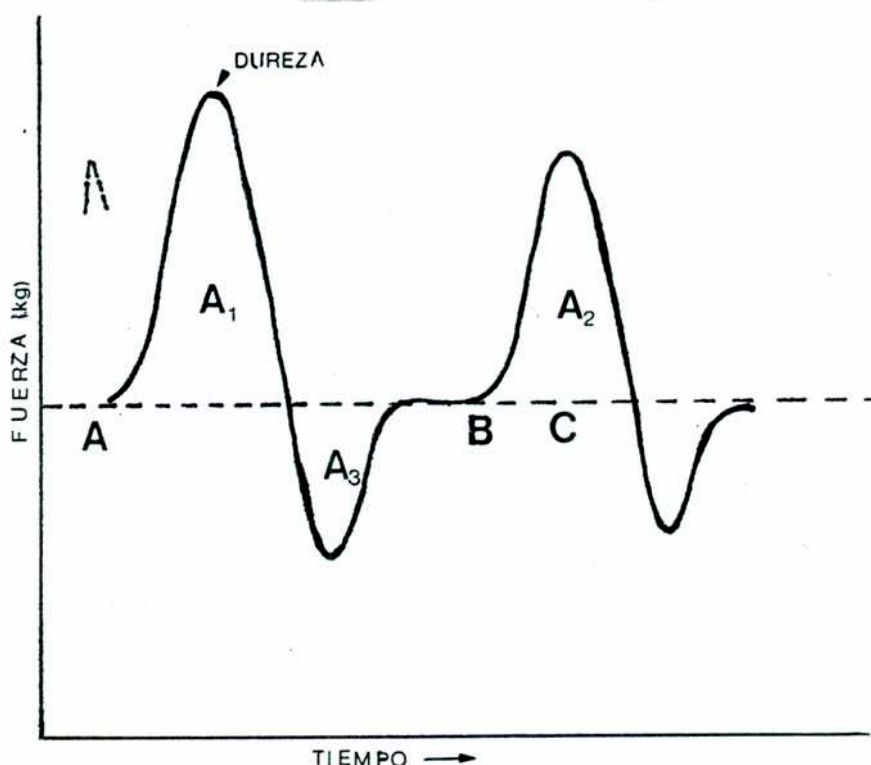


Figura 10: Perfil generalizado de un ensayo APT, obtenido con un equipo Instron.

La altura del pico de fuerza del primer ciclo de compresión (primer mordida) se define como *dureza*. La *fracturabilidad* (originalmente llamada fragilidad) es definida

como la fuerza a la cual ocurre el primer "quiebre" significativo del material en la curva durante la primer mordida. La relación de áreas bajo las fuerzas positivas de la primera y segunda compresión (A_2/A_1), se define como *cohesividad*. El área de la fuerza negativa (A_3) representa el trabajo necesario para separar el dispositivo de compresión de la muestra y se denomina *adhesividad*. La distancia en que el alimento recobra su altura durante el tiempo que transcurre entre el final de la primera compresión y el inicio de la segunda (B-C) se define como *fuerza elástica* (originalmente llamada elasticidad). Existen otros dos parámetros que derivan de cálculos que se realizan con los obtenidos de la curva. La *gomosidad* se calcula a partir del producto de dureza y cohesividad. La *masticabilidad* se define como el producto de la gomosidad y la fuerza elástica (dureza x cohesividad x fuerza elástica).

Una contribución importante de este ensayo al análisis de la textura de alimentos es la conclusión que la textura es un parámetro que posee varios componentes y que no puede ser definido sólo con uno. Dado que el procesamiento de la información y la obtención de los datos insume bastante tiempo, se utiliza para trabajos de investigación y no para controles de calidad industriales.

2.2.2.2 Ensayo de Compresión Simple

Tal como su nombre lo indica, la compresión simple es un ensayo de la resistencia del alimento a la compresión. Consiste en aplicar una fuerza a un producto alimenticio hasta un dado valor de deformación o aplicar una fuerza conocida y observar el comportamiento del alimento a la misma. Durante muchos años la mayor aplicación de este ensayo fue para medir la terneza de panes. El envejecimiento del pan genera un aumento de la firmeza del mismo. Cuando se comprime por la aplicación de una carga constante, se tiene la medida del índice de blandura y la fuerza requerida para generar una deformación conocida se toma como índice de firmeza. (Kramer y col, 1973).

La observación en forma simultánea de una muestra que ha sido comprimida y la representación gráfica obtenida en ese ensayo, permite obtener una correcta interpretación de la curva. Si se considera, por ejemplo, la compresión de una manzana entera entre dos superficies planas, se obtienen las Figuras 11 y 12.

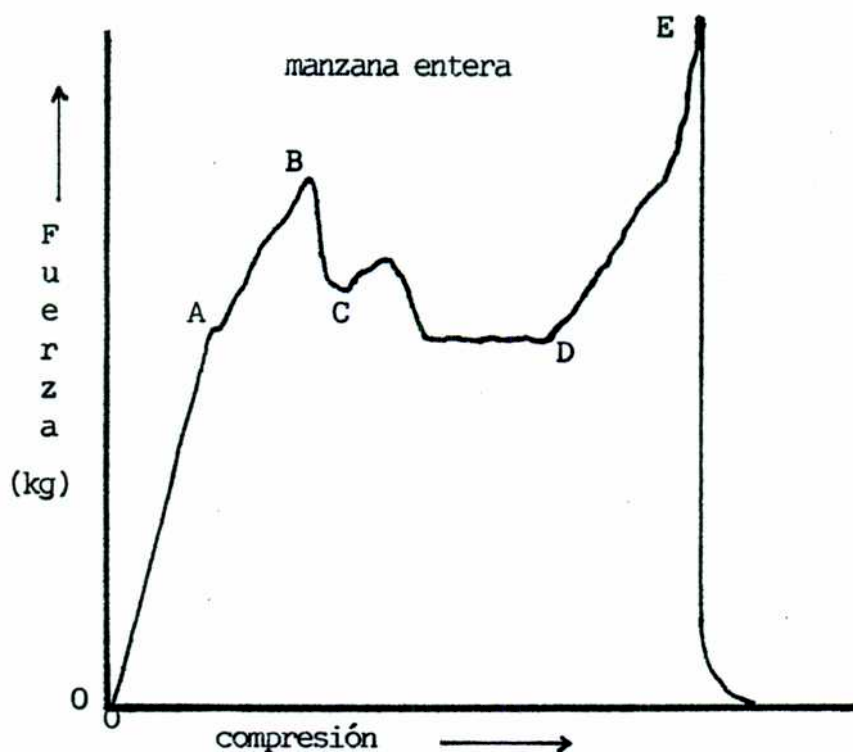


Figura 11 : Curva fuerza-distancia para un ensayo de compresión de manzana entera en un equipo Instron.

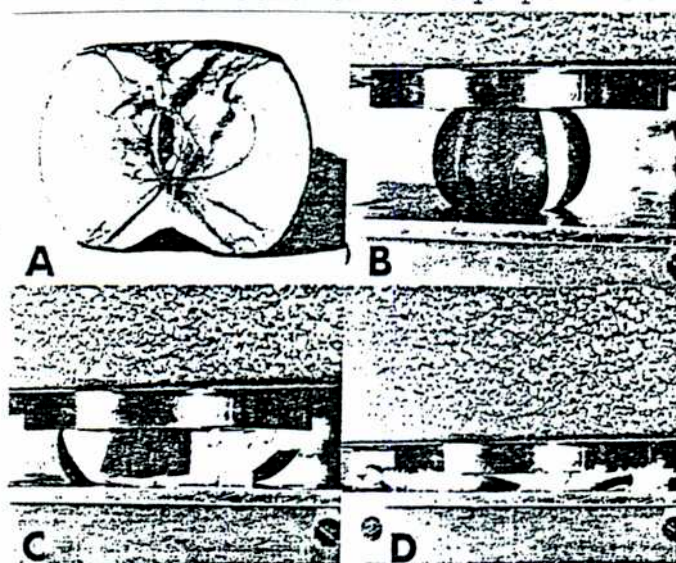


Figura 12 : Fotografías de una manzana en distintos estadios de la compresión correspondientes a la figura 11. A:fractura interna de la manzana antes de la ruptura, B:ruptura, C:apertura de la fruta cuando la compresión continúa y D:final del ensayo y desintegración.

En el paso inicial (punto A) se genera una deformación de la fruta. No existe ruptura en este punto del ensayo. La manzana a la que se ha aplicado una fuerza antes de este punto y luego se la retira, no muestra signos de daños físicos y puede ser almacenada por largo tiempo. Un salto marcado en la pendiente de la curva (punto A) indica que algo ha sucedido, sin embargo no se observan signos externos de algún cambio físico. Si en este momento se corta la fruta, se pueden observar fracturas internas, que normalmente toman forma de cono a través del tejido fresco (**Figura 12, Foto A**). Poco tiempo después hay una caída aguda en la curva de fuerza. Esto ocurre cuando la piel de la fruta revienta. El punto B es el punto de ruptura de la fruta entera. Si se continúa con la compresión se produce la ruptura a lo ancho de la fruta y la manzana quebrada queda contenida entre las placas planas del ensayo. Esta fase queda representada por la fuerza entre los puntos CD del gráfico. Como el ensayo continúa el material queda eventualmente desintegrado. El aumento de la fuerza desde D hasta E es necesario para pulverizar la manzana en pequeñas partículas. En el punto E, al colocar en reverso a la fuerza se produce un rápido retroceso hasta cero (Bourne, 1976).

2.2.2.3 Ensayo de Penetración

El ensayo de penetración consiste en la medición de la fuerza requerida para introducir una punta de prueba dentro del alimento hasta una profundidad que causa una rotura irreversible. Imita el movimiento del pulgar sobre una superficie para hendirla, y es ampliamente usado para medir la firmeza de frutas como pera y manzanas. Existen numerosos instrumentos que miden y grafican la trayectoria de la punta hasta el punto final del ensayo. Los gráficos que se obtienen de fuerza-distancia pueden presentar distintas formas según el tipo de material de que se trate. En la **Figura 13** pueden observarse los tres tipos básicos de gráficos que se obtienen con productos vegetales (Bourne, 1980).

En cada caso hay un aumento rápido de la fuerza a una corta distancia del movimiento de la punta sobre el material. Durante este estado, el producto se deforma bajo la carga aplicada pero no se produce la penetración del mismo. Este estado termina bruscamente cuando la punta penetra el alimento y se manifiesta por un súbito cambio en la pendiente del gráfico y se denomina *punto de cesión* (Y_p).

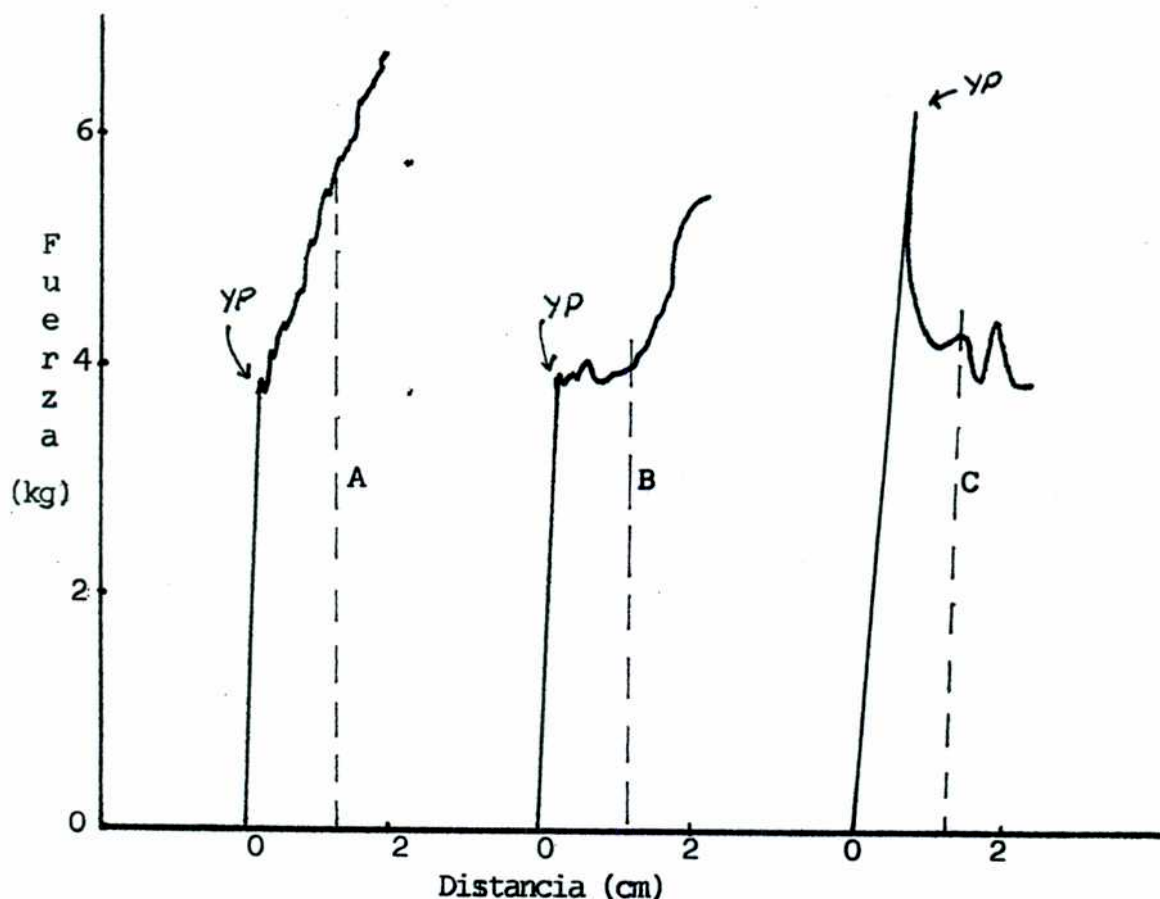


Figura 13: Curvas características de fuerza-distancia obtenidas mediante un ensayo de penetración. YP: punto de cesión.

El punto de cesión marca el instante en que la punta de ensayo penetra el alimento causando un daño irreversible. La tercer parte del ensayo está dada por la dirección de la fuerza de carga luego de la penetración. La dirección de la fuerza cambia después del Yp y durante la penetración dentro del alimento. Esto da origen a tres tipos de curva básicos: tipo A, la fuerza continúa incrementándose después del Yp y es una curva típica de manzana fresca; tipo B: la fuerza es aproximadamente constante luego del Yp y es típica de frutas blandas y que han sido almacenadas refrigeradas durante largos

períodos ; tipo C, la fuerza decrece después del Yp y se da principalmente en vegetales y frutas con textura leñosa (Bourne, 1976).

Bourne (1980) muestra que la fuerza en el punto de cesión es directamente proporcional al área y al perímetro de la punta de prueba y propone la siguiente ecuación:

$$F = K_c A + K_s P + C$$

donde:

F: fuerza en el punto de cesión
A: área de la punta de prueba
P: perímetro de la punta de prueba
K_c: coeficiente de compresión del alimento
K_s: coeficiente de cizalla del alimento
C: constante.

2.2.2.4 Ensayo de cizallamiento

El deslizamiento o cizallamiento es la deformación causada por una fuerza tangencial cuando sólo produce pequeñas deformaciones. La deformación relativa se expresa adecuadamente como un ángulo (α). Al módulo de este tipo de deformación se lo denomina módulo de rigidez, de tensión o de cizalla (G) (Muller, 1973) Por ello,

$$\tau = \alpha * G$$

donde:

τ = es la tensión o presión tangencial o de cizallamiento.

α = es el ángulo de deformación

G = módulo de cizalla.

Sin embargo se utiliza usualmente para describir la acción que causa la división del producto en dos piezas. Esta acción de corte no es la misma que la de cizallamiento verdadero. La diferencia entre ambas puede observarse en la Figura 14.

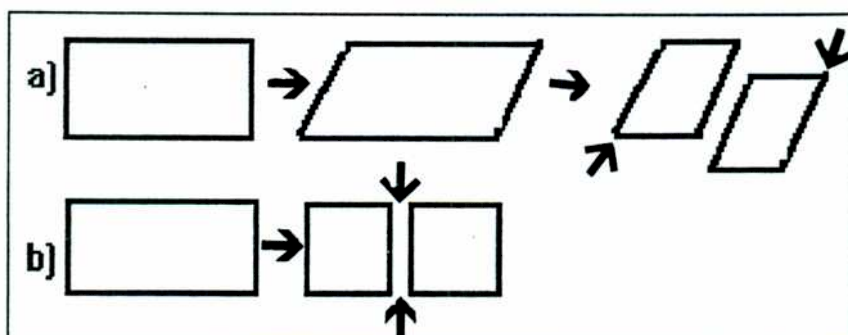


Figura 14: Comparación de a) ruptura por cizallamiento verdadero y b) ruptura por corte.

Los equipos para ensayos de cizallamiento utilizan normalmente una cuchilla simple o un dispositivo de múltiples cuchillas. Este ensayo se ha usado frecuentemente para carnes y más recientemente para vegetales, frutas, postes y otros productos (Kramer y Szczesniak, 1973).

La **Figura 15** muestra, a modo de ejemplo, las curvas características de fuerza-distancia que son obtenidas en un ensayo de cizallamiento en papas fritas francesas sometidas a distintos tratamientos. Los tres puntos que ofrecen mayor interés al estudio, son los tres picos que aparecen en cada gráfico.

El primer quiebre (punto 1) es el punto de cesión, el segundo quiebre (punto 2) es el punto de quiebre de la corteza y la máxima fuerza (punto 3) representa el corte por cizallamiento de la corteza (Bourne, 1976).

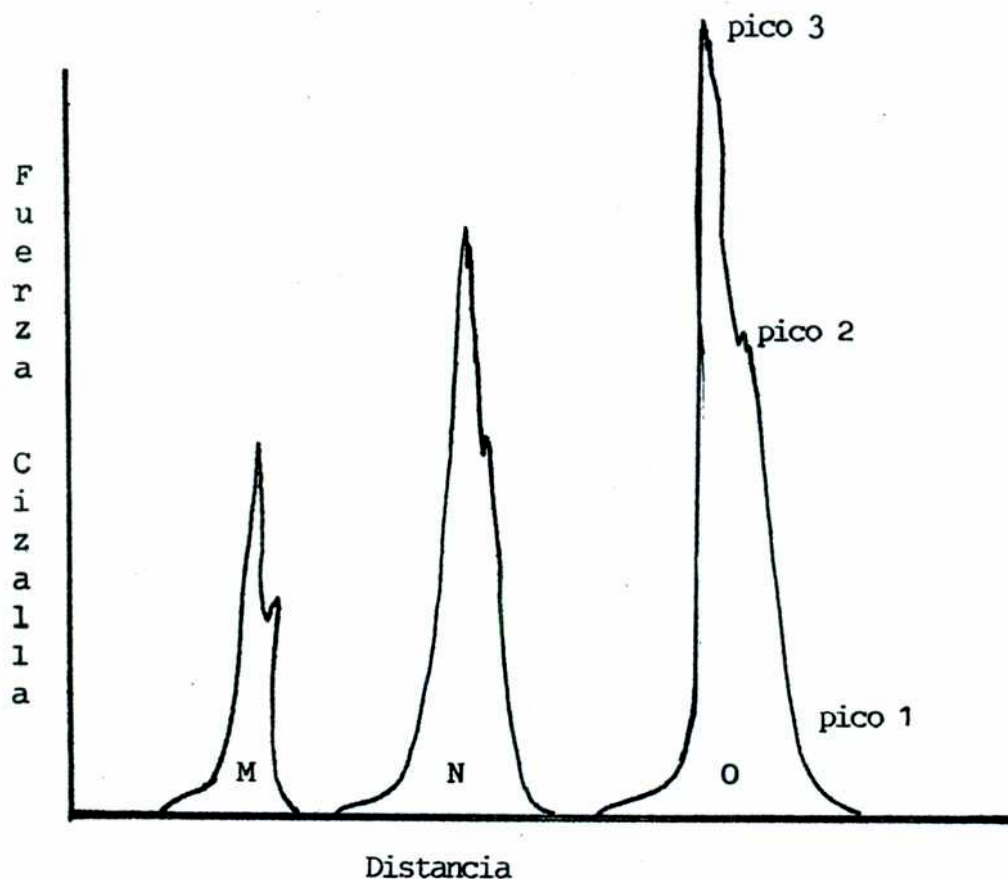


Figura 15 : Curvas fuerza-distancia de ensayos de cizallamiento para distintos procesamientos de papas fritas francesas. M:escaldadas por 6 minutos antes de un fritado de 3 minutos, N:idem A y fritadas durante 5 minutos y O: idem A y fritadas durante 7 minutos.

2.2.2.5 Ensayo de extrusión

Este ensayo consiste en la aplicación de una fuerza a un alimento que está contenido dentro de un recipiente resistente. Al aplicar la fuerza a una velocidad determinada, el alimento se compacta, deforma y finalmente fluye por el espacio que queda entre el dispositivo de aplicación de la fuerza (émbolo) y la pared del recipiente que lo contiene. (Figura 16) (Bourne, 1982).

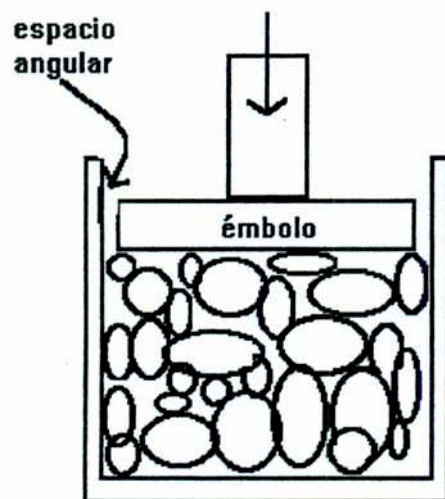


Figura 16: Dispositivo de aplicación del ensayo de extrusión.

Este espacio se denomina *espacio angular*. Durante esta operación la estructura del alimento es destruida. Se utiliza en alimentos como frutas, vegetales, productos semisólidos, geles, líquidos viscosos y grasas. Es necesario que el material sea capaz de fluir bajo la presión de la fuerza aplicada.

Usualmente se mide la *máxima fuerza* aplicada necesaria para completar la operación y se utiliza como índice de calidad de textura.

La **Figura 17** muestra un ensayo de extrusión para arvejas. En **A** las arvejas han sido colocadas en el recipiente contenedor y el émbolo se ubica justo encima de la muestra haciendo apenas contacto con la superficie. En **B** ya se ha iniciado el ensayo y las arvejas son compactadas dentro del recipiente, dado lo cual existe ruptura de las mismas y parte del líquido celular ocupa los espacios vacíos. En **C**, se puede observar el proceso de extrusión propiamente dicho, donde las arvejas son forzadas a fluir entre el espacio existente entre la pared interna del recipiente y el émbolo de compresión.

Una curva típica fuerza-distancia puede observarse en la **Figura 18**. De **A** hasta **B**, las arvejas son compactadas y comprimidas, disminuyendo el espacio libre entre ellas. No existe ruptura del material, sólo son comprimidas. En un punto cercano a **B** o inmediatamente después, el alimento está compactado y es sólido salvo por una pequeña cantidad de aire atrapado. La fuerza aumenta de **B** a **C** generando la expulsión de

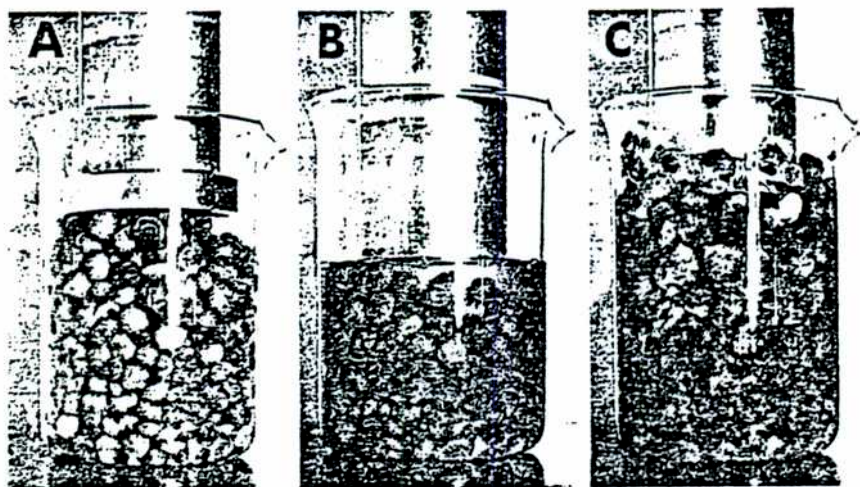


Figura 17: Fotografía de un ensayo de extrusión de arvejas.
A:compactación, B:compresión, C:extrusión (Bourne, 1982).

los jugos celulares que ocupan los intersticios entre las arvejas. En el punto C las arvejas se rompen y comienzan a fluir a través del espacio angular; este proceso continúa hasta el punto D, en el cual el émbolo de compresión que aplica la fuerza es retirado y la fuerza vuelve a cero. El punto C es la fuerza necesaria para iniciar la extrusión del material y el tramo CD muestra la fuerza necesaria para continuar con la extrusión hasta un punto determinado por el ensayo (Bourne, 1982). El equipo puede ser automáticamente fijado para iniciar el retroceso cuando el émbolo llega a 5 mm del fondo del recipiente. La fuerza máxima indicada en el gráfico (punto C) se utiliza para la evaluación de la prueba.

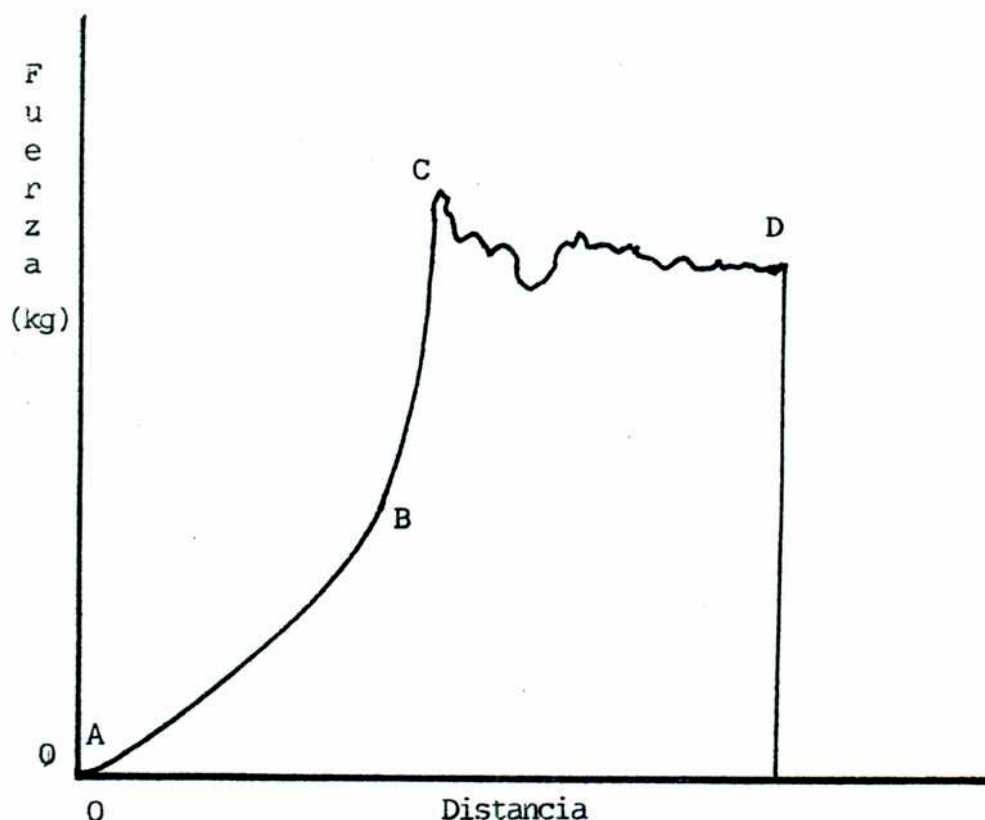


Figura 18: Curva fuerza-distancia obtenida mediante el ensayo de extrusión para arveja.

La forma y magnitud de la curva de extrusión es influenciada por la elasticidad, viscosidad, tamaño de la muestra, comportamiento de ruptura de la muestra, velocidad de deformación, temperatura y homogeneidad de la muestra. Con muchas frutas y vegetales procesados y muchos productos frescos, el tramo CD es horizontal o casi horizontal. Esta irregularidad es causada por variaciones en la firmeza o la resistencia que ofrece el material a fluir a través del espacio angular en un determinado tiempo. En general la curva durante la extrusión es casi horizontal, pero existen ocasiones en que muestra un incremento o disminución de la inclinación.

Según Voisey y col (1972), la variación de la curva de extrusión puede deberse a distintos comportamientos del material en estudio y combina adhesión, extrusión y cizallamiento.

Bourne y col (1968) realizaron estudios respecto de la influencia de distintos factores al realizar los ensayos de extrusión a productos alimenticios. Ellos son: espacio

angular, velocidad de movimiento del émbolo de ensayo, tamaño de la muestra y cantidad de agua presente.

Existe una relación inversa entre la fuerza de extrusión y el tamaño del espacio angular. Cuando el espacio angular es muy grande (por ejemplo 20 mm) la fuerza de extrusión es muy pequeña, pero cuando va disminuyendo su tamaño la fuerza de extrusión aumenta considerablemente (Bourne y col, 1968). El cálculo de las pendientes de un ensayo de arvejas con distinto contenido de sólidos insolubles y a distintos espacios angulares y con la fuerza a aplicar estandarizada, indica, por ejemplo, que en el valor de 4 mm es cuando se producen las mayores diferencias en las fuerzas registradas para este alimento (**Figura 19**). Este valor de espacio angular (4 mm) sería el más apropiado cuando se estandarizan las condiciones del ensayo.

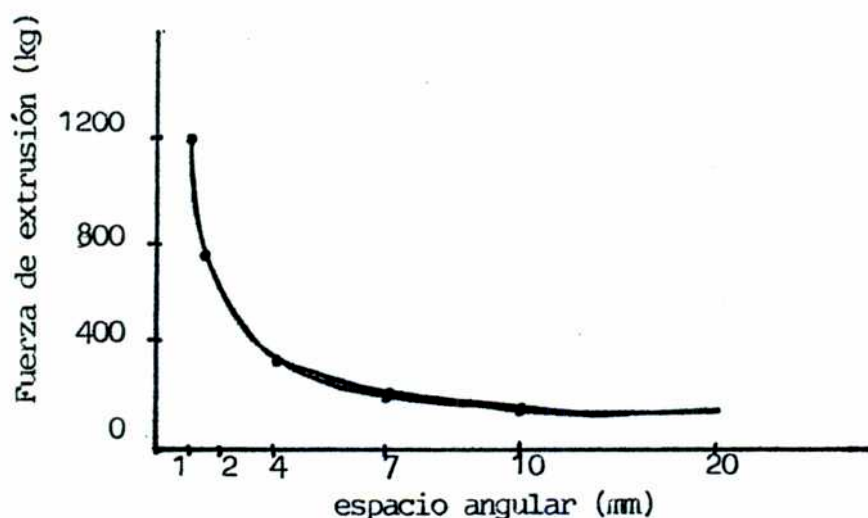


Figura 19 : Fuerza de extrusión vs. espacio angular.

Respecto de la **velocidad** predeterminada para el movimiento del émbolo, debe tenerse en cuenta que la fuerza aumenta con un aumento de la velocidad. Sea que la fuerza aumente o disminuya, un espacio angular pequeño es más sensible a los cambios de velocidad que un espacio angular grande. En el caso de arvejas, las velocidades a las cuales la fuerza de extrusión es insensible a las variaciones oscila entre 20 y 50 cm/min.

Respecto del **tamaño de la muestra**, la **Figura 20** muestra curvas de fuerza-distancia para un lote uniforme de arvejas,

utilizando un recipiente con un espacio angular de 4mm y cambiando el peso de las muestras para cada ensayo. El tamaño de las muestras varía el comportamiento de la curva pero no afecta la máxima fuerza de extrusión. Mientras el diámetro del recipiente se mantenga constante, lo único que se obtiene colocando más peso de muestra es aumentar la altura ocupada del mismo (Bourne y col, 1968).

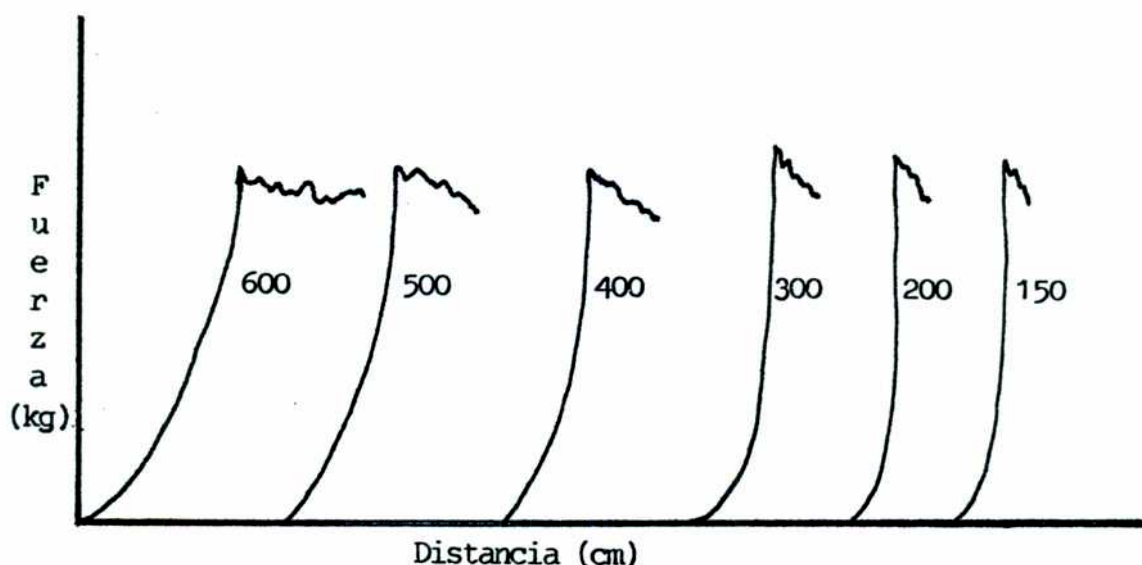


Figura 20: Relación entre F (kg) y el tamaño de la muestra (peso en gramos).

Asimismo, la **adición de agua** a la muestra genera una muy baja variación en la fuerza de extrusión obtenida en el ensayo. En la **tabla 1** puede observarse este efecto. Esto debe tenerse en cuenta dado que existen materiales (como las frutas) que cuando son comprimidos y extruídos liberan alta cantidad de jugos celulares (Bourne y col, 1968)

Tabla 1: Efecto de la adición de agua sobre la fuerza de extrusión.

Peso arvejas (g)	Peso agua adicionada (g)	Fuerza extrusión (Kg*)
250	0	1.020
250	50	1.040
250	100	1.006
250	150	1.053
250	200	1.073
250	250	1.086

* promedio de tres determinaciones

Por otra parte, ante la incorporación de pequeñas cantidades de agua (por lavado del material, insuficiente drenado, etc), las variaciones de la fuerza de extrusión no serán significativas.

2.3 El tejido vegetal

2.3.1 La estructura celular

Son variados los órganos de las plantas que pueden ser consumidos como alimentos por el ser humano. En la **Figura 21** se esquematizan las diversas partes que son comestibles. Estas diferentes estructuras están formadas por un dado número y tipo de células, que, de acuerdo con su distribución y organización determinan el tipo de tejido formado (Jewell, 1979).

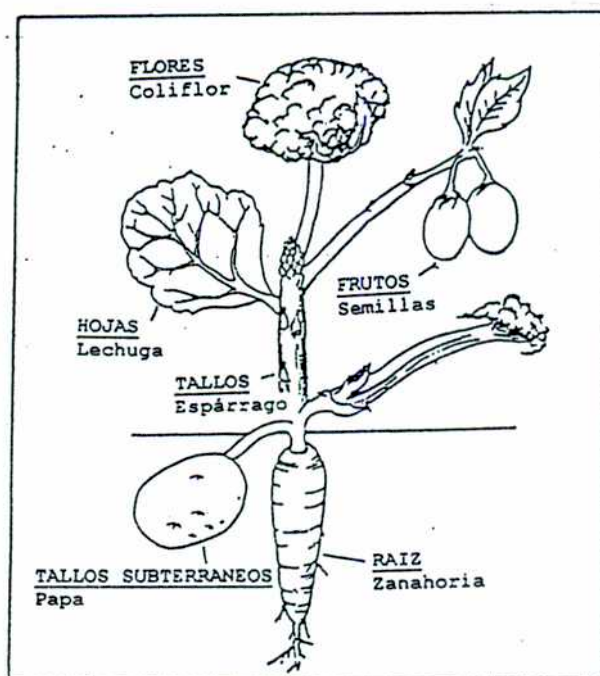


Figura 21: Representación esquemática de las distintas partes de la planta que pueden ser consumidas como alimento.

Epidermis, xilema, floema, colénquima, esclerénquima y parénquima son los tejidos mayoritarios que conforman las plantas y cada uno de ellos tiene funciones específicas (Jewell, 1979).

La **epidermis** es un sistema de células variable en estructura y función que constituye el recubrimiento del cuerpo primario de la planta. Está formada generalmente por una sola capa de células. Muchas de las características estructurales de la epidermis pueden relacionarse con los papeles que desempeña este tejido como capa de células en contacto con el ambiente externo de la planta. La función de la epidermis es proteger los tejidos internos del medio ambiente externo y ello sirve para la defensa contra daños mecánicos y el ataque de microorganismos patógenos y/o deteriorativos. En los tallos y raíces con crecimiento secundario, la epidermis es reemplazada generalmente por la peridermis (Esau, 1985).

Las células del **xilema** forman parte del tejido vascular de las plantas. Su principal función se encuentra relacionada con el transporte de agua e iones disueltos. Las paredes celulares son gruesas y están lignificadas. Las formas de estas paredes son diversas, por ejemplo, en espiral, reticuladas, angulares, etc, y ello permite realizar diagnósticos de identificación microscópica del tejido vascular (Jewell, 1979).

El **floema** también contribuye a la formación del tejido vascular pero está relacionado con el transporte de productos orgánicos. Los dos principales tipos de células que se encuentran en este tejido son tipo conductos-tamiz (tubos cribosos) y células acompañantes que activan el transporte de moléculas solubles hacia dentro y fuera de los elementos del tubo criboso. Los conductos son células alargadas y unidas unas con otras. Las paredes son relativamente finas por cuanto el final de la pared se engrosa y modifica formando láminas de tamices. Estas láminas dan su característica principal a los conductos tamices. Cada poro está tapizado con calosa, un carbohidrato que origina glucosa por hidrólisis (Esau, 1985). A un cierto tiempo estas láminas de tamices y la capa dentro de los poros se engrosa y la capa de calosa aumenta. Aunque la calosa es un componente característico del tejido, cuando las células funcionan, esta sustancia está presente en poca cantidad o no existe. Además se sintetiza muy rápidamente. La presencia excesiva de cantidades de calosa puede causar problemas durante el procesamiento del vegetal (Esau, 1985).

El **colénquima** está compuesto por células que se encuentran debajo de la epidermis de muchos tallos. Un buen ejemplo de este tipo de tejidos es el tallo del apio. Las células que lo componen son usualmente alargadas, de cinco a diez veces más largas que anchas y las paredes celulares gruesas, por lo cual imparten resistencia mecánica al producto. Estas paredes engrosadas son ricas en sustancias pécticas.

El **esclerenquima** como el colénquima, tiene funciones de refuerzo y soporte. Son células muertas y está compuesto por dos tipos de células, llamadas fibras y escléridas (células de las pepitas de las frutas). Las fibras pueden encontrarse en forma de haces o capas pero pueden también estar en forma individual. Estas fibras individuales son células alargadas que tienden a unirse con otras fibras del mismo haz. La pared celular es normalmente gruesa y lignificada. La pared tiene frecuentemente perforaciones ("pits") y la presencia de perforaciones cruzadas es una característica de las fibras del esclerenquima. Se ha observado que estas fibras tienen un comportamiento elástico, es decir, al dejar de aplicar una fuerza sobre ellas, vuelven a su estado original. Las escléridas o células de los carozos y semillas tienen forma isodiamétrica pero pueden presentarse ligeramente alargadas. La pared celular es gruesa, estratificada y fuertemente incrustada con materiales como lignina o hemicelulosa.

El tejido **parenquimático** es uno de los más comunes que se encuentran en las plantas y tejidos comestibles. La observación de un corte transversal de este tejido muestra que las células que lo componen son en general redondas u ovales y que sus paredes son finas. La forma y contacto entre células adyacentes genera espacios intercelulares que pueden llegar a ser grandes, dando apariencia de tejidos aireados. Estos espacios intercelulares poseen una cantidad significativa de aire (1-25%) y pueden tener una considerable influencia sobre la textura (Jackman y Stanley, 1995). Las células parenquimáticas normalmente se relacionan con la nutrición por síntesis o almacenamiento de materiales nutrientes. Las células parenquimáticas pueden impartir fuerza y soporte al tejido cuando son túrgidas (Jewell, 1979).

Las **células eucarióticas** son las unidades constitutivas del tejido parenquimático vegetal. Una representación esquemática de una célula vegetal eucariótica se observa en la **Figura 22** (Vaughan, 1979).

En este esquema se pueden observar: amiloplastidos (AP), cloroplastos (C), cloroplastos en vías de diferenciación (Ca), cromatina (Cr), aparato de Golgi (G), lisosomas (L), laminilla media (LM), mitocondrias (M), microtúbulos (MT), nucleolo (N), núcleo (Nu), plasmodesmos (P), pared celular (PA), plasmalema (PL), proplástidos (PP), ribosomas (R), retículo endoplasmático liso (RE), retículo endoplasmático rugoso (Rer), tonoplasto (T) y vacuola (V).

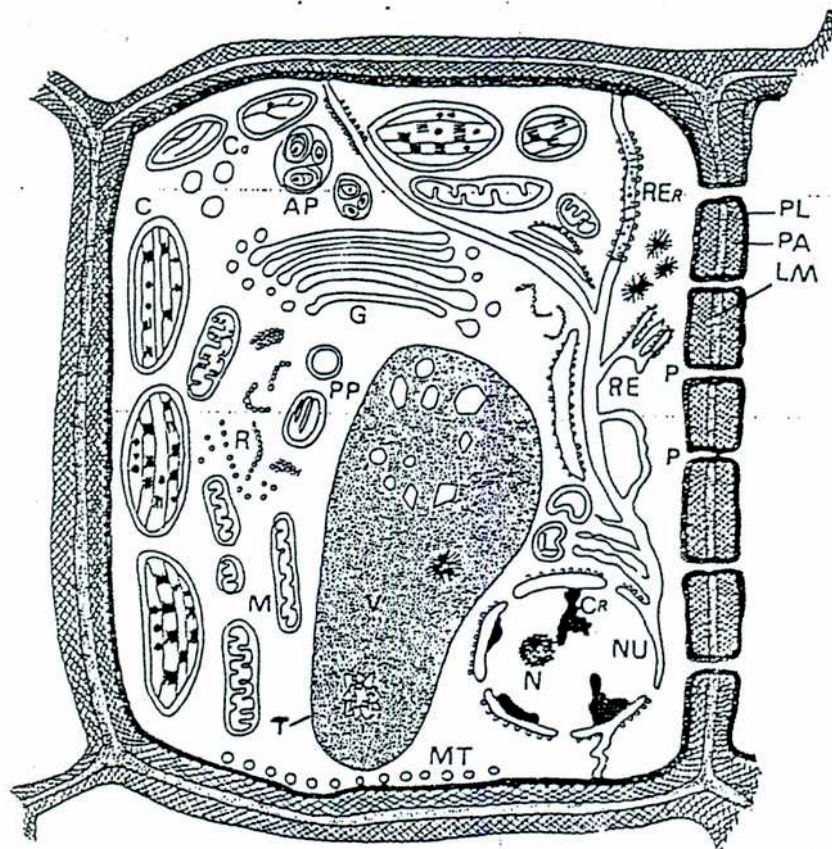
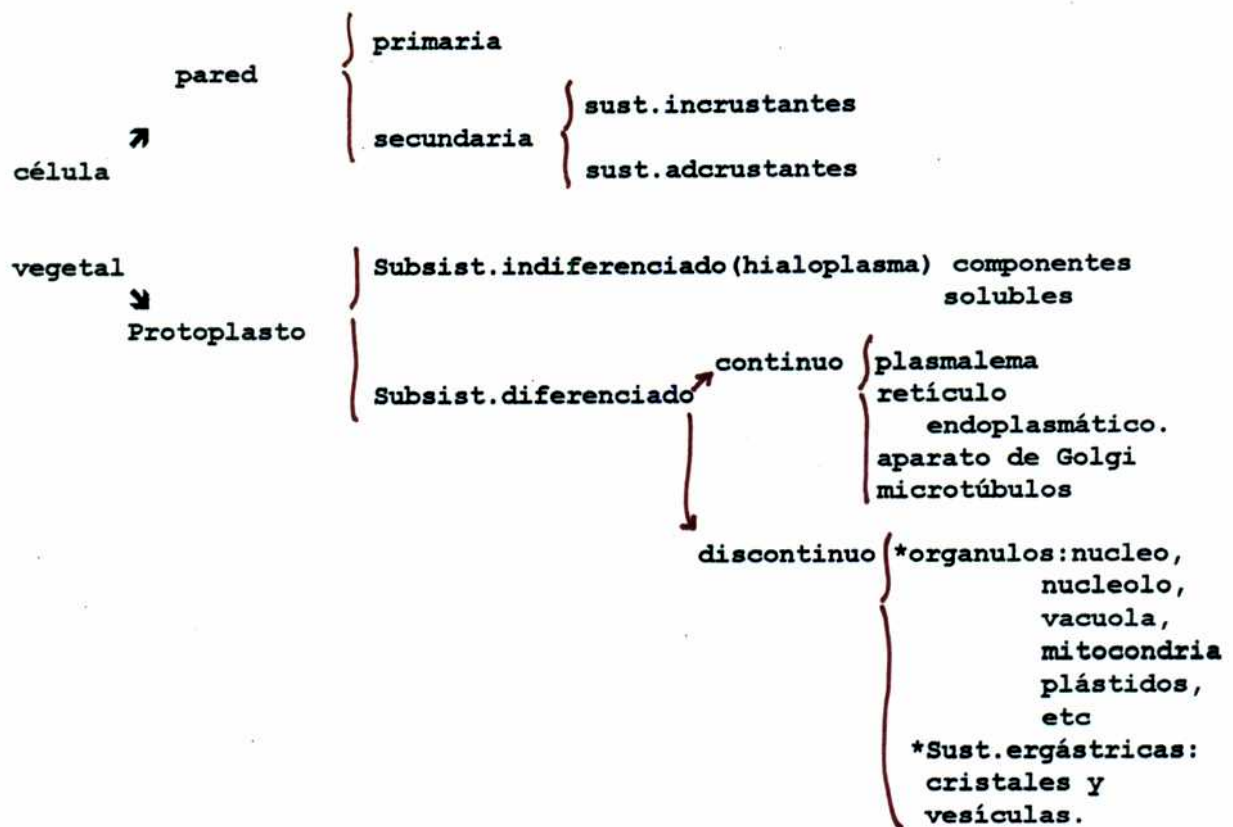


Figura 22: Esquema de una célula eucariótica vegetal.

Toda célula vegetal eucariótica está constituida por un *protoplasto* recubierto por una *pared*. El *protoplasto*, considerado como un sistema, comprende un *subsistema indiferenciado* formado por una masa coloidal, viscosa y elástica llamada *hialoplasto*, en el cual se halla inmerso un *subsistema diferenciado* que está constituido por *estructuras continuas* (membranosas o laminares) y *discontinuas* (corpusculares o informes). Estas últimas se denominan *orgánulos* (Cuadro 1).



Cuadro 1 : Conformación de una célula vegetal de tejido parenquimático.

Además de estos dos subsistemas, algunas células contienen acumulaciones de sustancias insolubles resultantes del metabolismo celular, que no toman más parte activa en él o que, por el contrario, permanecen en forma transitoria y luego desaparecen por utilización en los procesos de síntesis. Estas inclusiones se denominan *ergástricas* y comprenden vesículas de lípidos, cristales de oxalato de calcio, etc.

El límite externo del protoplasto está constituido por una *membrana*, denominada *plasmalema*. La misma es de gran importancia en las relaciones entre la célula y el medio que la rodea.

La estructura de una célula no es estática, sino dinámica. Con el microscopio de contraste de fases se pueden observar cambios rápidos en la configuración del contorno celular y en la posición de las membranas y orgánulos, que se desplazan con un movimiento llamado *ciclosis*. Por lo tanto no existe un citoesqueleto rígido sino un movimiento incesante de los componentes celulares que conservan las interrelaciones funcionales, es decir, mantienen una organización dinámica (Sívori y col, 1993).

La **pared celular** forma una envoltura semielástica que le otorga a la célula cierta rigidez e impide que la fuerza que ejerce el protoplasto cuando aumenta su turgencia desgarre la membrana que la envuelve (plasmalema). Si bien aparece como una estructura inerte, la presencia de enzimas indica que es un sitio metabólicamente activo. Su constitución debe permitir el crecimiento y diferenciación de la célula y facilitar el intercambio de gases y soluciones con el exterior.

Cuando la célula de un organismo se divide por mitosis se deben formar dos paredes delimitantes de cada célula hija, que quedarán unidas por un material cementante, la *laminilla media*. Al comienzo de la formación, las paredes y la laminilla media sólo están compuestas por sustancias pécticas y hemicelulosas que poseen una estructura amorfa o paracristalina. A medida que esta masa aumenta de espesor, se van incorporando cristallitos de celulosa. Estas fibras elementales se disponen al azar hacia ambos lados del tabique divisorio y con mucha separación entre ellas. La inclusión de la celulosa en la pared confiere resistencia a la estructura, sin que pierda por ello sus propiedades elásticas. Este sistema constituye la *pared primaria*. Ciertas células poseen solo este tipo de pared durante toda su vida (ejemplo: células de frutilla) (Sívori y col, 1993).

Como constituyentes de la pared celular de los vegetales (pared primaria y laminilla media), se encuentran tres tipos de componentes mayoritarios: celulosa, pectina y hemicelulosas. En los últimos 15 años se han desarrollado técnicas que han permitido el análisis detallado de la disposición de cada uno de estos componentes.

Así, la pared celular de todas las plantas contiene los cuatro componentes que se listan a continuación:

- a. Polisacáridos pécticos
 - ramnogalacturonanos I
 - homogalacturonanos
 - arabinanos
 - galactanos
 - ramnogalacturonanos II
- b. Hemicelulosas
 - xiloglucanos
 - glucoarabinoxilanos
- c. Celulosa
- d. Glicoproteínas (ricas en hidroxiprolina)

Dentro de estos grupos se puede observar una diferencia en la cantidad de cada azúcar presente en la pared celular.

Además varían los tipos de unión, composición de los azúcares dentro de las moléculas de polisacáridos y tamaño de molécula. En el caso de las sustancias pécticas existe una gran variación en el grado de metilación de la molécula. (McFeeters, 1985).

Un modelo desarrollado recientemente para el crecimiento de la pared celular (Carpita y Gibeaut, 1993) propone la existencia de tres estructuras independientes cuyos dominios interactúan formando una fina lámina; luego, varias de ellas van a formar la pared celular primaria final (**Figura 23**). En este modelo las hemicelulosas constituyen el principal componente de unión. Poseen muchas ramificaciones de conformación lineal que conducen a la orientación de las microfibrillas de celulosa ligándolas por uniones puente hidrógeno. Esto resulta en un dominio de hemicelulosa-celulosa que representa el 50-60% del peso seco de la pared; dicho dominio es embebido en un segundo dominio constituido por sustancias pécticas, que constituye el 30% adicional de la masa de la pared. Los enlaces cruzados de las pectinas pueden ocurrir como resultado del acoplamiento oxidativo de los constituyentes fenólicos como el ferulato. Sin embargo, el mecanismo más frecuente de enlace de las cadenas helicoides de homogalacturonano de pectina de-esterificada es por medio de puentes Ca^{2+} para formar las zonas de unión. No todos los sitios de-esterificados forman uniones cruzadas. La ramnogalacturonano I (RG I) representa una porción del polímero rica en arabinogalactano a los lados de la cadena e interrumpe las uniones con iones calcio. Un tercer dominio estructural contiene unidades de extensina que forma enlaces cruzados covalentemente y están orientadas radialmente con la matriz de pared.

El **plasmalema**, membrana que rodea al protoplasto, es desde el punto de vista funcional un límite entre dos medios. Presenta una estructura estratificada y densa, constituida en su mayor parte por proteínas y fosfolípidos. Está formada por una sola unidad de membrana al igual que el tonoplasto mientras que el núcleo, los cloroplastos, mitocondrias, etc. están rodeados de dos unidades de membrana.

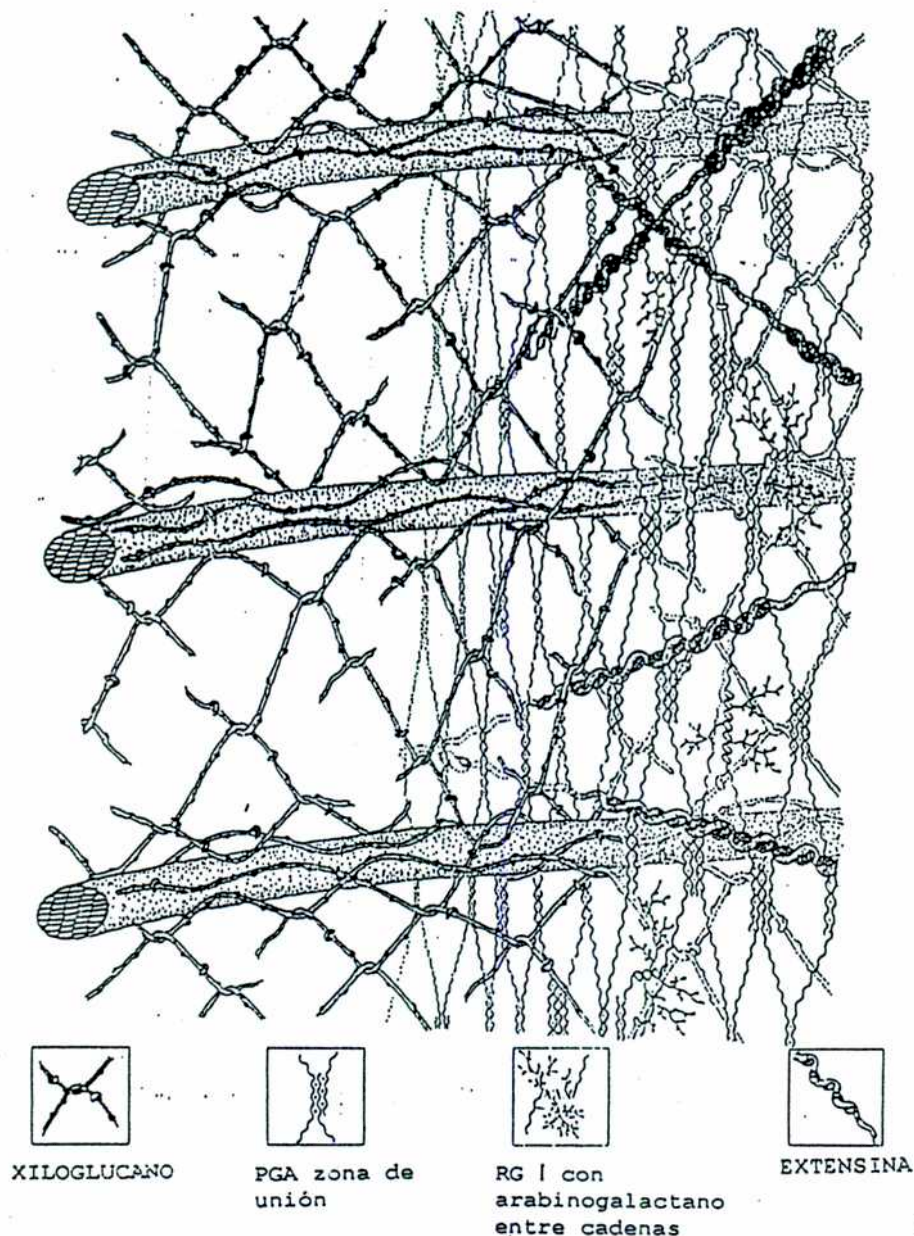


Figura 23: Representación de la pared celular primaria de la mayoría de las plantas (Carpita y Gibeaut, 1993).

Respecto de su estructura, no existe certeza absoluta de la misma dado que es difícil de visualizar aún con métodos ópticos. A pesar de ello, a lo largo del tiempo se han propuesto varios modelos: a) el modelo de Danielli o de la doble capa, en el año 1935, b) el modelo de Robertson, que define la unidad de membrana, en el año 1964, c) el modelo de Singer and Nicolson, que define un mosaico fluido, en el año 1972 y d) el modelo de Cullis, que define el mosaico metamórfico, en el año 1980 (**Figura 24**) (Stanley, 1991).

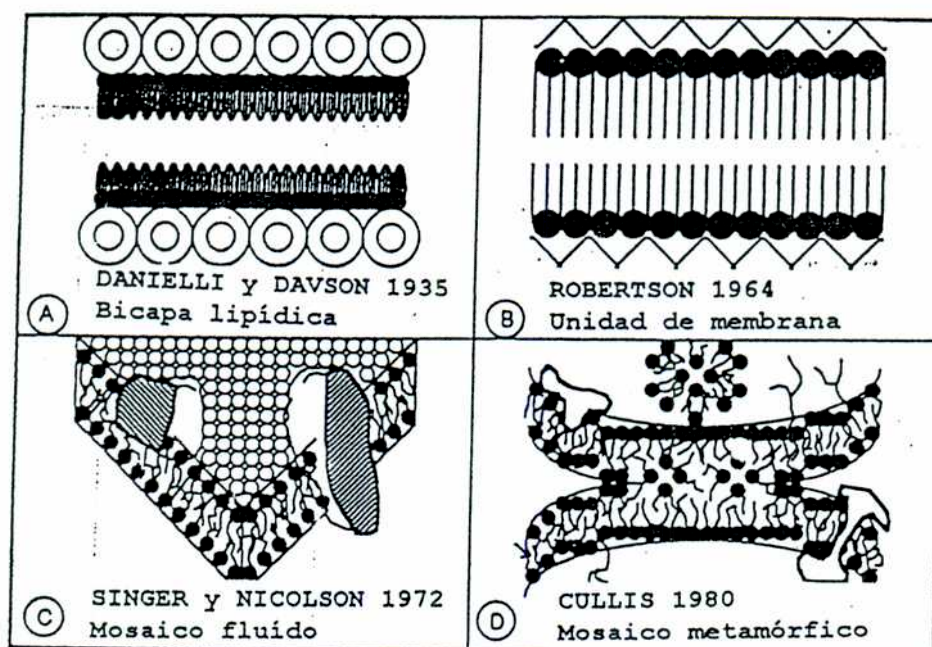


Figura 24: Evolución de los modelos de membrana.

La forma en que los lípidos y proteínas (componentes mayoritarios de la membrana) se organizan determina la estructura de la membrana. (Stanley, 1991). Un ejemplo de la estructura de una membrana es la descrita por Danielli y Davson en 1935. Estaría formada por dos capas de moléculas enfrentadas por sus grupos hidrofóbicos no polares. Los grupos polares, en posición opuesta, formarían dos superficies, una interna y otra externa, recubiertas de moléculas proteicas con sus grupos hidrofóbicos orientados hacia la capa lipídica. Otros investigadores (Robertson, 1964) han encontrado además macromoléculas de carbohidratos en la cara externa de la membrana. También se ha postulado la presencia de poros fisiológicos, no estructurales, que le darían a la membrana una estructura dinámica y no estática (Sívori y col, 1993). El modelo de Singer y Nicolson de 1972, considera que la estructura es fluida. Las moléculas lipídicas estarían dotadas de movimiento y podrían desplazarse lateralmente en el plano de la bicapa o transversalmente a ella. Esta estructura poseería una consistencia de gel cristalino que a temperaturas elevadas se transformaría en líquido-cristalina. No se descarta la posibilidad que a temperatura ambiente coexistan ambas condiciones (Stanley, 1991). Cullis y col (1986) notaron una gran diversidad de especies moleculares de las membranas lipídicas y una tendencia de muchas de ellas para asumir una estructura miscelar, sin formación de bicapa, en equilibrio reversible con una conformación de bicapa. Esto sugeriría que esta estructura miscelar tiene una función biológica en la membrana (Stanley 1991).

Las membranas son elásticas y extensibles, pero la propiedad más importante es la **permeabilidad**. Se la define como la intensidad con que las sustancias pasan a través de la misma. Por medio de la medición de la velocidad de pasaje de sustancias radiactivas, se mide el *flujo* o cantidad de un compuesto que pasa a través de la membrana durante un determinado tiempo. Las membranas poseen *permeabilidad selectiva*, o sea que tienen la propiedad de seleccionar las sustancias que pasan a través de ellas. De ello depende la vida de la célula, dado que la membrana es el sitio que controla la entrada y salida de sustancias. Cuando facilita el ingreso de un metabolito, lo impulsa hacia el interior de la célula con consumo de energía. Cuando una célula muere, esta propiedad desaparece.

Normalmente la célula mantiene su fluido bajo condiciones de presión hidrostática, llamada **turgor o presión de turgor**, y su magnitud depende de la humedad del medio a que esté expuesto el tejido. La diferencia de permeabilidad permite a la célula mantener una concentración interna de solutos, lo cual permite a su vez mantener el turgor. El estado en el cual una célula se encuentra en equilibrio con el medio es determinado por el potencial de agua ψ de las soluciones inter y extracelulares. El potencial de agua es la suma de dos componentes:

$$\psi = P + \pi$$

donde P es la presión de turgor y π es el potencial osmótico de la solución celular. El ultimo está determinado por

$$\pi = -MRT$$

$$\pi = v_w RT \ln(a_w)$$

donde M son los moles de soluto por unidad de volumen, R es la constante universal de los gases, T es la temperatura absoluta, v_w son los moles por unidad de volumen y a_w es la actividad de agua. Para agua pura $a_w = 1$ y $\pi = 0$; para una solución, $0 < a_w < 1$ y $-\infty < \pi < 0$. (Lin y Pitt, 1986)

Aunque ψ dentro de la célula está gobernado por la primera ecuación, fuera de la célula la presión P es igual a 0 y por lo tanto $\psi = \pi$. Si los valores de ψ dentro y fuera de la célula son diferentes, el agua pasará a través de la membrana desde la región de mayor ψ a la de menor ψ con una velocidad proporcional a la diferencia $\Delta\psi$ (Lin y Pitt, 1986).

Cuando se aplica una tensión por compresión a un tejido vegetal, tiene lugar un proceso de deformación que incluye tanto a la célula como a la laminilla media. Las células se deforman en la dirección en que fue aplicada la fuerza generando un cambio de forma en cada una de ellas. Aunque los contenidos celulares son incompresibles, la relación superficie celular a volumen aumenta a causa de la distensión de la pared celular y existe un incremento de la tensión de la pared. Estas deformaciones son resistidas por la presión de turgor del contenido celular. De acuerdo a la primera ecuación un incremento en P genera un incremento en el potencial de turgor interno y el flujo de agua ocurre hasta que la ψ interna y externa se igualan. La laminilla media también se deforma como efecto de la aplicación de la tensión generando reorientación celular y los espacios intercelulares se hinchan (Lin y Pitt, 1986).

Considerando que las estructuras subcelulares (mitocondrias, protoplastos, etc) constituyen subsistemas diferenciados envueltos en membranas, se los puede concebir como compartimientos físicos donde las reacciones bioquímicas se llevan a cabo sin interferencias de metabolitos de otros sitios.

Los **plasmodesmos** son finas comunicaciones protoplasmáticas entre las células que componen los distintos tejidos. Fundándose en estudios con microscopía electrónica, se ha sugerido recientemente que en los canales intercelulares de los plasmodesmos, el plasmalema de las dos células colindantes es continuo y que por el centro pasa un túbulo (denominado desmotúbulo) que se interpreta derivado del retículo endoplasmático y que se ha observado como prolongación del mismo. Los espacios entre el desmotúbulo y la cara interna del plasmalemma se denominan anillo citoplasmático (Fahn, 1985). El diámetro de los plasmodesmos oscila entre 25-80 nm. El número de plasmodesmos que une un protoplasto con otro varía de 1000 a 100.000. Se pueden distinguir plasmodesmos de diámetro grande o macroplasmodesmos (200 nm) y de diámetro menor o microplasmodesmos (25 nm). La existencia de estas conexiones determina un continuo de protoplasma (simplasma) en el cual se realiza el pasaje de sustancias y de estímulos. En las células con paredes primarias muy delgadas, el pasaje de materiales entre los protoplastos puede realizarse también a través de la pared celular (Sívori y col, 1993).

En las células epidérmicas expuestas a la atmósfera, la pared externa posee **ectodesmos** en lugar de plasmodesmos. Son poros diminutos, llenos de una sustancia altamente reductora, que quedan cubiertos por la cutícula. Se considera que no son

prolongaciones del protoplasto, pero, a través de ellos es posible la conexión entre éste y el medio externo. Por ello sustancias como fertilizantes, reguladores del crecimiento, etc. pueden incorporarse a la planta.

Las **vacuolas** están presentes en la célula vegetal y son vesículas envueltas por una unidad de membrana llamada **tonoplasto**. Pueden ser una o varias. Estos compartimientos contienen sustancias disueltas como ácidos orgánicos, sales, azúcares, taninos, pigmentos, gotas de lípidos, cristales de distintas sustancias en estado coloidal, en emulsión o en forma de cristales insolubles. Al contenido de la vacuola se lo denomina **jugo celular**. La vacuola es un compartimiento donde se acumulan reservas y donde se excretan sustancias no necesarias en el metabolismo. La función del tonoplasto es similar a la del plasmalema, aunque mecánicamente es más resistente. Debido a la permeabilidad selectiva del tonoplasto y del plasmalema y a las sustancias osmóticamente activas de las vacuolas, la célula funciona como un osmómetro.

2.3.2 Las sustancias pécticas

2.3.2.1 Estructura de las pectinas

La pectina es un coloide natural siempre presente en el mundo vegetal ya que forma parte de las paredes celulares.

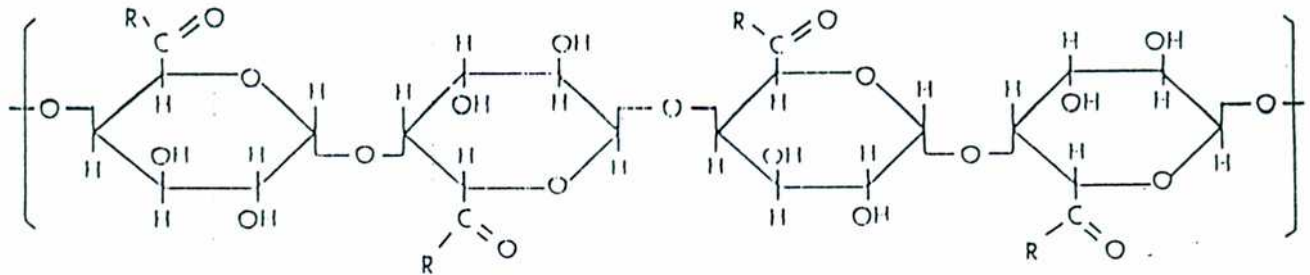
Las frutas son unas de las materias vegetales más ricas en pectinas. Estas se encuentran bajo diversas formas en función del grado de madurez del fruto:

- ♦ **Protopectina:** Insoluble en agua por estar ligada a los componentes celulósicos de las paredes celulares.
- ♦ **Acidos pectínicos esterificados o pectinas:** Son pectinas con un alto grado de grupos metoxilo (HM), solubles en agua.
- ♦ **Acidos pectínicos debilmente esterificados:** Son solubles en oxalato de amonio, poseen un bajo grado de metoxilación (LM).
- ♦ **Acidos pécticos totalmente desesterificados o insolubles.**

La transformación progresiva de las protopectinas en pectinas solubles tiene lugar a lo largo del proceso de

maduración, en el que ocurren complejos mecanismos enzimáticos que tienden a la destrucción de la estructura celular.

La molécula de pectina puede esquematizarse en forma de una macromolécula lineal de ácido polihidrogalacturónico parcialmente metilado (**Figura 25**) (Van Buren, 1991).



Si $R=OH$, ácidos pécticos
 $R=OH$, OCH_3 , pectinas
 $R=OH$, OCH_3 , NH_2 , pectinas amidadas
 Si $COOCH_3 \geq 50$, pectinas alto metoxilo (HM)
 Si $COOCH_3 \geq 50$, pectinas bajo metoxilo (LM)

Figura 25: Esquema de una cadena péctica.

Los eslabones formados por unidades de ácido α ,D-galacturónico ligados en $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y dispuestos en hélice son interrumpidos por enlaces con β ,L-ramnosa. La presencia de ramnosa en la cadena principal tiene como consecuencia una desviación de 90° en el eje de la hélice vecina, llamada codo péptico. Esta particularidad facilita la formación de una estructura tridimensional gelificada.

Algunas veces pueden ligarse a las funciones hidroxílicas de los carbonos 2 y 3 de la estructura principal, azúcares neutros poliméricos (arabanos, galactanos, xilanos.) o bien grupos acetilo (**Figura 26**).

*Amidación NH_2
 *Esterificación: CH_3OH

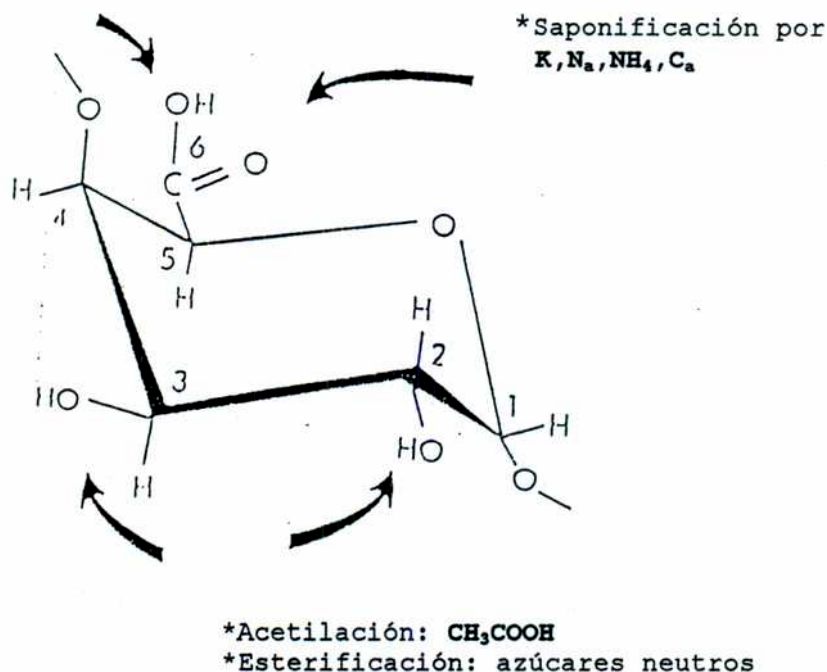


Figura 26: Sustituciones del ácido α -D-Galacturónico

Después de la hidrólisis de la protopectina pueden subsistir algunas ramificaciones cortas sobre la cadena lateral principal. Suelen localizarse en zonas denominadas zonas rugosas por contraposición a las zonas lisas en las cuales su presencia es rara o nula.

Las propiedades gelificantes de las pectinas dan pautas para su clasificación en dos grupos, según su **grado de esterificación (DE)**. Este se define como el número de unidades de ácido galacturónico esterificado por cada cien unidades de la cadena:

$$\text{Grado de esterificación (DE)} = 100 \times \frac{\text{número de grupos ester}}{100 \text{ u ac. galacturónico}}$$

Si DE es mayor que 50%, son pectinas de alto metoxilo (HM)
 Si DE es menor que 50%, son pectinas de bajo metoxilo (LM)

Las pectinas de bajo metoxilo, a su vez, pueden ser amidadas ($\leq 25\%$) o no amidadas ($= 0$). La amidación es una técnica industrial a efectos de modificar el grado de

esterificación y obtener de esta forma una variación en las propiedades de la pectina. Se define como:

$$\text{Grado de amidación (DA)} = 100 \times \frac{\text{número de grupos amida}}{100 \text{ u ac.galacturónico}}$$

El grado de esterificación varía según el tipo de fruta, siendo los siguientes algunos valores promedio: frutilla, 60%; pera, 51%; manzana, 72% y mango 78% (SBI, 1996).

2.3.2.2 Propiedades de las disoluciones de pectina

A temperatura ambiente y a su propio pH (2,8-3,2), las pectinas son tanto más solubles en agua cuanto mayor es su grado de esterificación. Las disoluciones que se obtienen presentan un carácter aniónico.

Los disolventes orgánicos normales precipitan la pectina en las soluciones; lo mismo hacen los cationes divalentes (Ca^{+2} , Cu^{+2}) por formación de pectatos insolubles, formación más favorecida cuanto menor sea el grado de esterificación de la pectina (Van Buren, 1991).

Las disoluciones de pectina son estables en medio ácido (pH 2,4-4,5), incluso a temperaturas elevadas. Por el contrario sufren una rápida degradación en medio alcalino, aún en frío, por saponificación y por ruptura de enlaces glicosídicos.

Una degradación similar pero más lenta, se produce en caliente a pH cercanos a la neutralidad este hecho provoca una pérdida correlativa del poder gelificante.

2.3.2.3 Acción de sistemas enzimáticos sobre las pectinas

Las enzimas pécticas constituyen el único grupo de enzimas que catalizan la ruptura de las sustancias pécticas de las paredes celulares de las plantas. Se clasifican de acuerdo con el tipo de enlace sobre el que actúan (**Figura 27**) (Van Nostrand, 1989) :

1. Pectinesterasa (PE) (pectihidrolasa, EC 3.1.1.11): cataliza la desesterificación de las pectinas.

2. Poligalacturonasa (PG): cataliza la ruptura de las uniones hidrolíticas α -1,4-glicosídicas próximas a grupos carboxilos libres. La *exo*-PG (poli (1,4- α -D-galacturónido) galacturonohidrolasa, EC 3.2.1.67) ataca enlaces terminales no reductores, mientras que la *endo*-PG (poli (1,4- α -D-galacturónido) glicanohidrolasa, EC 3.2.1.15) ataca uniones de las cadenas de pectinas en forma aleatoria.
3. Pectatoliasa (PL): cataliza la ruptura de las uniones glicosídicas cercanas a grupos carboxílicos libres via β -eliminación. Existen las *exo*(poli (1,4- α -D-galacturónido) *exo*-liasa, EC 4.2.2.9) y *endo* (poli (1,4- α -D-galacturónido) liasa, EC .2.2.2.) y el sustrato más favorable son los pectatos.

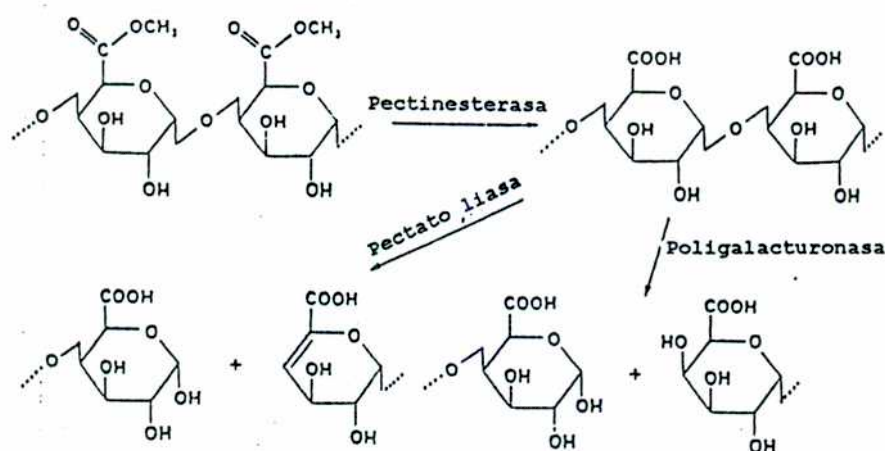


Figura 27: Acción de las enzimas pécticas.

Pectinesterasa (PE)

La enzima pectinesterasa, también llamada pectinhidrolasa y pectinmetilesterasa, juega un rol muy importante en el desarrollo de las frutas y vegetales, como así también en la industria que involucra estos productos.

Esta enzima es sintetizada por plantas, hongos y bacterias. La primer investigación que la identifica fue realizada por Freymy en 1840 en zanahoria, pero recién en 1925 se descubre que su único requerimiento es que existan sales alcalinas en el medio. Esta enzima desesterifica en forma

consecutiva monómeros de ácido galacturónico a lo largo de la cadena.

Análisis de la composición de pectinesterasa realizados sobre tomate y naranja muestran la presencia de altas concentraciones de alanina, glicina, ácido aspártico, ácido glutámico, y ausencia de cisteína, ácido cisteico e hidroxiprolina. La asociación de la enzima con lipo y glicoproteínas en la membrana plasmática o en las paredes celulares primarias y secundarias dificultan bastante el estudio de su composición (Sajjaanantakul y col, 1991).

El pH óptimo de activación varía según el origen de la PE. En el caso de las PE de origen vegetal se encuentra en el rango de pH de 6.5 a 9.5. Si son de origen fúngico el rango óptimo está entre 6.0 y 7.5 (Van Nostrand, 1989).

Dentro de las propiedades que posee la PE, una de las más importantes es la generación de metanol cuando actúa sobre las pectinas. La cantidad que se genera durante la fermentación de frutas y vegetales depende del contenido de pectina, variedad y nivel de actividad de la PE en el sustrato. La acumulación del metanol que se genera no es peligrosa para el ser humano (**Figura 28**). El tratamiento con altas temperaturas antes de la fermentación inactiva la PE y previene la acumulación de metanol. El escaldado a bajas temperaturas no es suficiente para la inactivación de esta enzima.

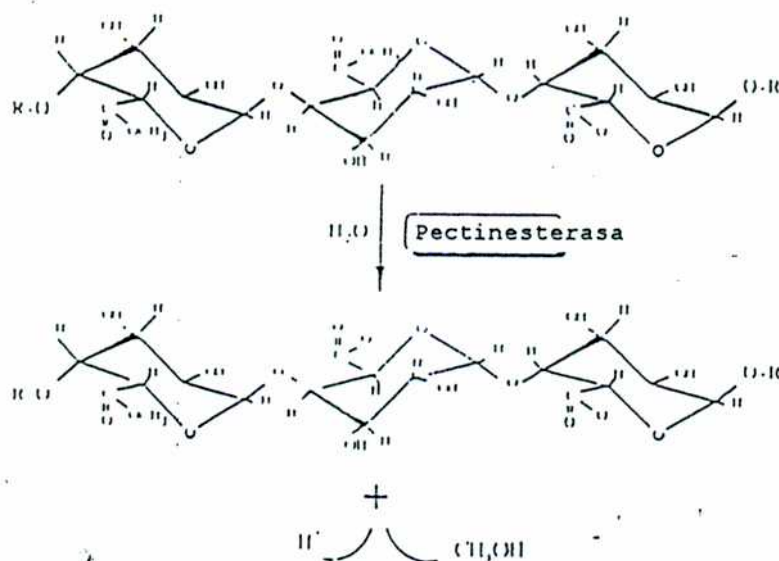


Figura 28: Reacción de demetilación catalizada por la PE (Sajjaanantakul y Pitifer, 1991).

La acción hidrolítica de la PE es específica para los grupos metilester de ácido galacturónico, pero no ataca otros poliuronidos ni pectinas altamente esterificadas. Tiene alta actividad en pectinas con grados de esterificación entre 65 y 70%. El tamaño de las moléculas puede ser importante en la acción de desesterificación enzimática de las pectinas.

La acción de PE de plantas produce la desesterificación de las pectinas linealmente, creando bloques de grupos carboxilos libres, resultando una pectina sensible a los iones calcio. La acción secuencial se inicia sobre los grupos metilester cercanos a grupos carboxilos libres (Sajjaanantakul y Pitifer, 1991).

La cinética de la reacción de desesterificación por la PE obedece la ecuación de Michaelis-Menten, pero tiene isoenzimas con distintos pH óptimos y parámetros cinéticos. La constante de Michaelis (K_m) y la constante de inactivación (K_i) disminuyen con el incremento de pH. En naranjas, la PE tiene una $K_m = 1.5-4.0$ mM galacturonato, similar al límite superior de la K_m de PE de tomate, 2.5 mM. Es necesario recordar que la actividad de PE es afectada por un cierto número de factores como pH, cationes, temperatura y pureza de la enzima (Sajjaanantakul y Pitifer, 1991).

El efecto de **activación** de la PE por presencia de sales en el medio ha sido reportado para cationes mono o divalentes, pero no para aniones. Existen condiciones óptimas de concentración de cationes para la activación bajo determinadas condiciones específicas. La activación es mayor a pH bajos y es independiente de la concentración de enzima y de sustrato. Los cationes activan la enzima, pero no son requerimiento para su actividad. Altas concentraciones de sal disminuyen la actividad de la enzima (Sajjaanantakul y Pitifer, 1991).

Se ha encontrado que la presencia de cationes divalentes es más efectiva en la activación de la PE que los cationes monovalentes (5 a 20 veces mayor). Según Godlbert y col (1984), K_m en presencia de Mg^{2+} es aproximadamente 15 veces menor que en presencia de Na^+ y K^+ y la presencia de Mg^{2+} aumenta la afinidad de la enzima por las moléculas de pectinas.

Según la temperatura aplicada, ésta puede **activar o inactivar** la PE. A pH ácidos y bajo contenido de pulpa de la fruta se genera un mayor grado de inactivación ante la aplicación de temperatura. Owusu-Yaw et al (1984) reportan que la PE se inactiva completamente en jugo de naranja cuando se baja su pH hasta valores de 2,0. Esto genera ventajas en el tratamiento térmico del producto, pero produce pérdidas en los

contenidos de ácido ascórbico y en sus características sensoriales.

La PE en tejidos vegetales se activa a temperaturas relativamente bajas (50-76°C). Esto fue observado en zanahoria, coliflor, papa y puré de arvejas. La PE de papa se empieza a inactivar a valores cercanos a 50°C y por encima de 70°C se destruye totalmente. En las **tablas 3 y 4** pueden observarse las condiciones de activación e inactivación respectivamente de la enzima PE para distintos productos vegetales.

Tabla 3 : Activación térmica de la PE (Sajjaanantakul y Pitifer, 1991).

Fuente	temp. (°C)	tiempo (min)	pH
zanahoria	76	10	6,2
coliflor	70	15	6,0
arvejas verdes	71	9,5	---
arvejas (lata)	76	2-4	6,5 ^b
tomate	100	30 ^a	---

^a segundos

^b pH natural promedio

Tabla 4: Inactivación térmica de PE (Sajjaanantakul y Pitifer, 1991).

Fuente	temp. (°C)	tiempo (min)	pH
manzana	80	10	6,5
jugo manzana	80	15	3,8
jugo uvas	90,5	3 ^a	3,5
jugo naranjas			
5% pulpa	90,5	15a	4,1
10% pulpa	90,5	1	4,1
arvejas (lata)	75	15	5,0
jugo tomate	80	45 ^a	4,4
	55	2	2,5

^a segundos

Se ha reportado que la baja temperatura de escaldado en zanahorias enlatadas genera como resultado una mayor firmeza que cuando se trabaja con altas temperaturas (Lee y col, 1979). Estos resultados indican que con altas temperaturas se inactiva la enzima PE en el tejido de zanahoria mientras que

con bajas temperaturas se activa la enzima, lo cual libera grupos metoxilos y aumenta el contenido de metanol. Los grupos carboxilos libres forman uniones con iones metálicos divalentes como el calcio y resulta un aumento de la firmeza del producto.

Un doble escaldado realizado sobre zanahorias deshidratadas, que consistió en aplicar durante largo tiempo bajas temperaturas seguido de un tratamiento por corto tiempo a alta temperatura, generó un significativo aumento de la firmeza en el producto final, sin mayores efectos sobre la capacidad de rehidratación. Quintero-Ramos y col. (1992) han reportado que cuando las temperaturas aplicadas en el escaldado son de 55°C; 60°C ó 65°C por 45 minutos se incrementa la firmeza, mientras que temperaturas a de 50°C con un mismo tiempo de tratamiento el valor de la firmeza del producto se mantiene similar a la de la muestra control. Para los mismos ensayos, y partiendo de una muestra cocida durante 8 minutos a 100°C, los datos de firmeza siguen la misma tendencia pero con valores iniciales menores que para muestras crudas.

El calcio es un efectivo agente para mejorar la firmeza del tejido vegetal cuando el grado de metilación de las sustancias pécticas es pequeño. Forma de esta manera complejos insolubles. Existe una tendencia al incremento de formación del gel cuando el DE de la cadena péctica decrece. Las uniones de calcio incluyen otros grupos funcionales además del grupo carbonilo. Existe una fuerte interacción entre los iones Ca^{2+} y otros átomos de oxígeno de las pectinas. También forma complejos con azúcares neutros o ácidos. Las uniones para formar pectato de calcio se disponen en la forma llamada "caja de huevo", en las cuales los iones calcio interactúan y se coordinan con el oxígeno de dos cadenas adyacentes (Figura 29) (Van Buren, 1991).

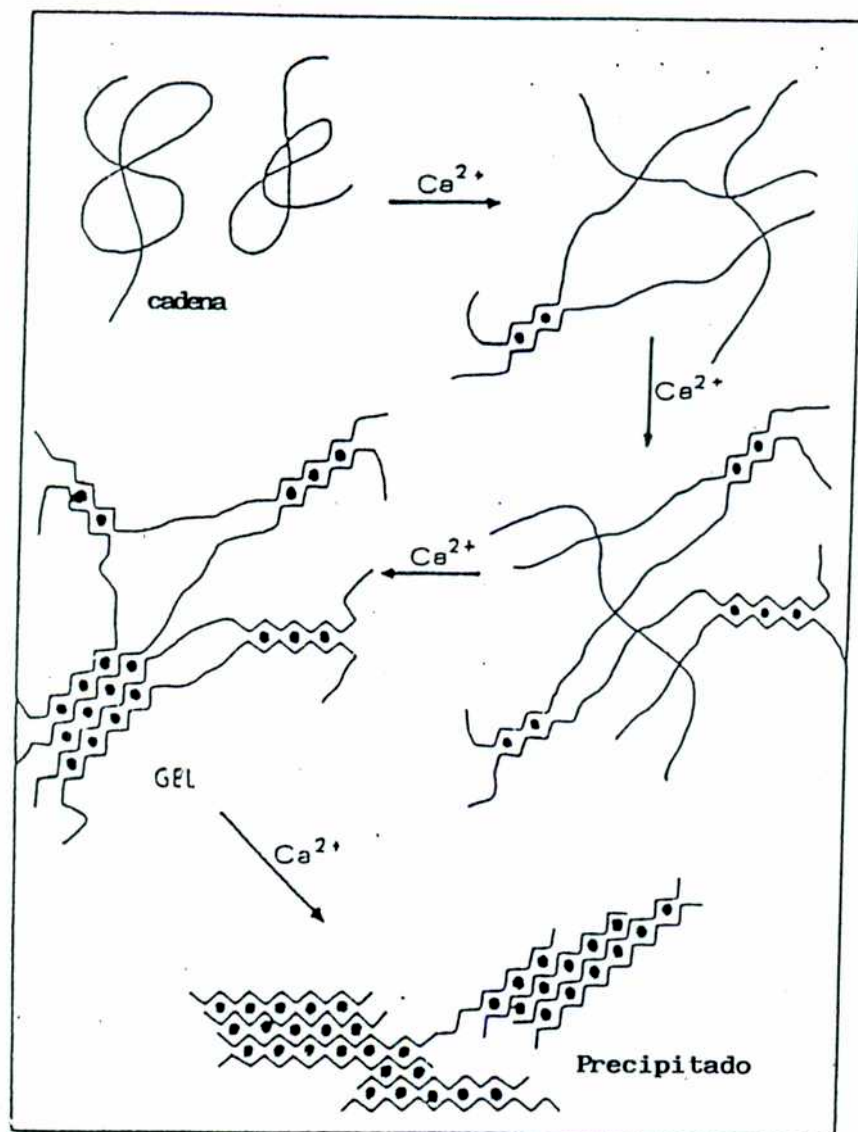


Figura 29: Formación de pectato de calcio (Rinaudo, 1989).

En el tejido de las plantas aproximadamente el 90% del calcio está comprometido o en forma insoluble. Cuando los iones calcio son desplazados por agentes quelantes, existe una pérdida de firmeza y solubilización de las proteínas. Por ejemplo, cuando se aplica oxalato de amonio, EDTA, y/o hexametáfosfato de sodio a un tejido vegetal puede observarse una marcada pérdida de cohesividad. Esto demostraría que las uniones Ca^{2+} -pectina son los principales factores que contribuyen a la adhesión celular (Van Buren, 1991).

La demetilación de las pectinas puede ser causada por tres fenómenos: a) debido a la reacción de β -eliminación; b) debido a la actividad de la pectinesterasa y c) por el proceso de congelado-descongelado. En el caso de frutillas congeladas

la β -eliminación no es probable que ocurra porque un descongelado lento causa la disrupción celular y baja el pH de la laminilla media (Main y col, 1986). Para otros productos hortícolas respecto de la actividad de la PE, el congelado y el tratamiento térmico a temperaturas de 55 a 70°C generarían la activación de la enzima, demetilando la pectina y favoreciendo la unión de las sustancias pécticas con los iones Ca^{2+} . Esto fue observado para zanahoria a 76°C (Lee y col, 1979), coliflor a 70°C (Hoogzand y col, 1961) y arvejas en lata a 60°C (Van Buren y col, 1969). Es posible que la demetilación de las sustancias pécticas aumente la posibilidad de incremento de la firmeza. Para el mecanismo c), el proceso destructivo de congelado y descongelado disminuiría la posibilidad de demetilación de las pectinas con la consiguiente disminución de la firmeza. La cantidad de grupos carboxilos no metilados no sería la suficiente.

En arvejas, se ha observado que una precocción de las mismas genera un aumento en la firmeza, que estaría en concordancia con la acción de la PE sobre las sustancias pécticas y resultaría en una desesterificación de las moléculas y la consiguiente formación de uniones con iones calcio entre las moléculas de pectinas adyacentes (Chi-Yue Chang y col, 1996). Esto estaría avalado por el grado de esterificación de las pectinas analizadas en las muestras. La cantidad de pectina contenida en los sólidos insolubles en alcohol no sería significativamente diferente pero si su DE.

Javeri y col (1991) observaron que la firmeza de duraznos a los cuales había tratado con infusión a vacío de Ca^{2+} y enzima a distintos tiempos, no mostraba diferencias significativas entre el tiempo inicial y la media hora de tratamiento pero se incrementaba considerablemente después de la hora de tratamiento. Las muestras no mostraron diferencias significativas a 1,0; 1,5 y 2,0 horas. Cuando, luego del tratamiento de infusión a tiempos superiores a 1 hora, fueron sometidos a un tratamiento térmico a alta temperatura (104°C, 12 minutos), se observó diferencia significativa en la firmeza respecto de las que sólo fueron sometidas a infusión. El contenido de calcio de las piezas escaldadas y con infusión en vacío aumentó de 278 mg/kg a 432 mg/kg antes de las dos horas de tratamiento.

Según Mc Feeters y col (1985), los complejos cambios de textura que ocurren en el tejido de pepinos encurtidos son el resultado del escaldado, el almacenamiento en medio ácido y la adición de iones calcio. Sin embargo no encontraron una relación directa entre el grado de metilación de las pectinas y los cambios de firmeza. El calcio fue efectivo para prevenir el ablandamiento de los tejidos durante el almacenamiento sin

tener en cuenta el grado de metilación. La efectividad del calcio también sería importante a través de interacciones de calcio/galactosa.

Mc Feeters y Fleming (1991) reportaron de que el efecto del calcio sobre el índice de ablandamiento del tejido vegetal se debe a la formación de pectato de calcio, la que varía según el pH del medio. El mayor efecto relativo del calcio en tejido de pepinos cuando el pH decrece es debido a que existe un mayor número de grupos carboxilo ionizados que proveen mayor cantidad de sitios activos para la acción del calcio. A los efectos de la comprensión de la relación entre la velocidad de ablandamiento y la variación de pH deben tenerse en cuenta los mecanismos por los cuales se produce el ablandamiento. A $\text{pH} < 4$ el mecanismo que predomina en el ablandamiento es el fenómeno de hidrólisis, si el $\text{pH} \approx 7$ se produce por β -eliminación y cuando el pH es cercano a 4 pueden ocurrir ambos mecanismos.

French y col (1989) proponen una hipótesis del ablandamiento de damascos enlatados por formación de complejos entre los ácidos orgánicos presentes en la fruta y los iones calcio presentes en la pared celular del tejido vegetal. Se formarían uniones calcio:ácido. Este efecto es mayor en frutos verdes que en los maduros dado que el contenido de ácidos en este estado es mayor. De acuerdo con esta hipótesis la adición extra de calcio como tratamiento para impartir firmeza se basaría en que, al saturar el quelante presente, el calcio residual actuaría formando las uniones necesarias para mantener la estructura celular del tejido.

Poligalacturonasa (PG)

La degradación de la PG puede ser al azar (endo-poligalacturonasa) o terminal (exo-poligalacturonasa). Con tiempos de reacción cortos, la acción de la PG al azar resulta en una gran disminución de la viscosidad con un pequeño porcentaje de uniones glicosídicas hidrolizadas. En el caso de hidrólisis terminal los cambios de viscosidad son muy pequeños para un porcentaje de hidrólisis significativo (Burns, 1991).

El sustrato óptimo para la acción de la **endo-Poligalacturonasa (endo-PG)** es el poligalacturonano y en general prefiere sustratos con bajo grado de esterificación. Por ello se considera que la acción de la PE, generando pectinas con bajo DE, provee sustrato para la endo-PG. Pectinas con alto grado de metilación y el ácido polimetilpoligalacturónico no son hidrolizados. Cuando el

grado de esterificación aumenta (> 20%), la $V_{\text{máx}}$ disminuye y K_m aumenta.

Los polímeros de alto peso molecular son hidrolizados a velocidades mayores que los sustratos de bajo peso molecular. La afinidad de la enzima es mayor hacia sustratos de cadena larga, tal como lo indica la disminución de K_m y el incremento de $V_{\text{máx}}$. Se han observado pequeñas variaciones en la velocidad de reacción cuando el grado de polimerización del sustrato es de 24 y superiores, pero por debajo de este valor, la velocidad de hidrólisis decrece (Burns, 1991).

Se ha reportado que el pH óptimo de la endo-PG está en el rango 3.6 - 5.5 y debe ser más ácido a medida que el peso molecular del sustrato decrece. En tomate, la hidrólisis del ácido poligalacturónico tiene un pH óptimo de 4.2, para oligómeros pequeños está por debajo de 2.0; en papaya el pH óptimo es 4-6 y para durazno la endo-PG actúa a pH 5,5.

La endo-PG no tiene **requerimiento de metales** para actuar sobre el sustrato. El efecto del Na^+ ha sido atribuido a que incrementa la viabilidad del sustrato por dispersión del mismo en la solución. Cationes como el Ca^{2+} , que interactúan con las cadenas de poligalacturonanos formando agregados, son inhibidores a concentraciones aún por debajo de 0,4 mM. Estos agregados no estarían disponibles para el ataque enzimático (Burns, 1991).

La **exo-Poligalacturonasa (exo-PG)** tiene como sustratos para su acción polímeros desterificados de pectina o poligalacturonanos. La velocidad de hidrólisis y la afinidad por el sustrato aumentan cuando aumenta el DP. La enzima ataca al sustrato en su molécula final de carácter no reductor, resultando como producto final ácido galacturónico. La exo-PG no digiere las largas cadenas completamente. Por ejemplo, cuando la enzima fue aislada de durazno o zanahoria únicamente fueron atacadas del 18 al 24% del total de las uniones glicosídicas de pectato (Burns, 1991).

El pH óptimo de la exo-PG se encuentra entre 4.6 y 6.0 y en contraste con la endo-PG, no depende del tamaño del sustrato.

Enzimas aisladas de distintas fuentes demostraron que requieren para su actividad un óptimo de 0,4 a 0,5 mM de Ca^{2+} y la adición de agentes quelantes como etilendiaminetetraacético (EDTA) o citrato reducen su actividad a valores cercanos a 0. Altas concentraciones de calcio provocan la insolubilización del sustrato con el consiguiente resultado de la disminución

de la actividad enzimática. El calcio puede ser reemplazado por Sr^{2+} , Cd^{2+} y Mg^{2+} , pero generalmente no son tan efectivos.

Durante la maduración de tomates existe una relación entre la enzima endo-PG, la solubilización de los urónidos de la pared celular y la pérdida de firmeza. En algunos frutos la relación no es tan clara. En frutillas por ejemplo, la solubilización de poliurónidos y ablandamiento de los tejidos ocurre en ausencia de actividad de la endo-PG. En manzanas, que únicamente tienen enzimas exo-PG, ocurren cambios texturales significativos durante la maduración.

Pectato liasa (PL)

Esta enzima cataliza la degradación de los enlaces glicosídicos de enlaces cercanos a grupos carboxilos libre por un mecanismo de β -eliminación. Los sustratos preferidos de esta enzima son los pectatos o las pectinas de bajo metoxilo.

En el mecanismo de β -eliminación el protón del C5 es primero removido a la forma carbanion, la cual es estabilizada por el C6 del grupo carboxilo. La ruptura de las uniones glicosídicas en la posición β del grupo carboxilo resulta en la formación de un doble enlace entre C4 y C5 (**Figura 30**) (Van Nostrand, 1989).

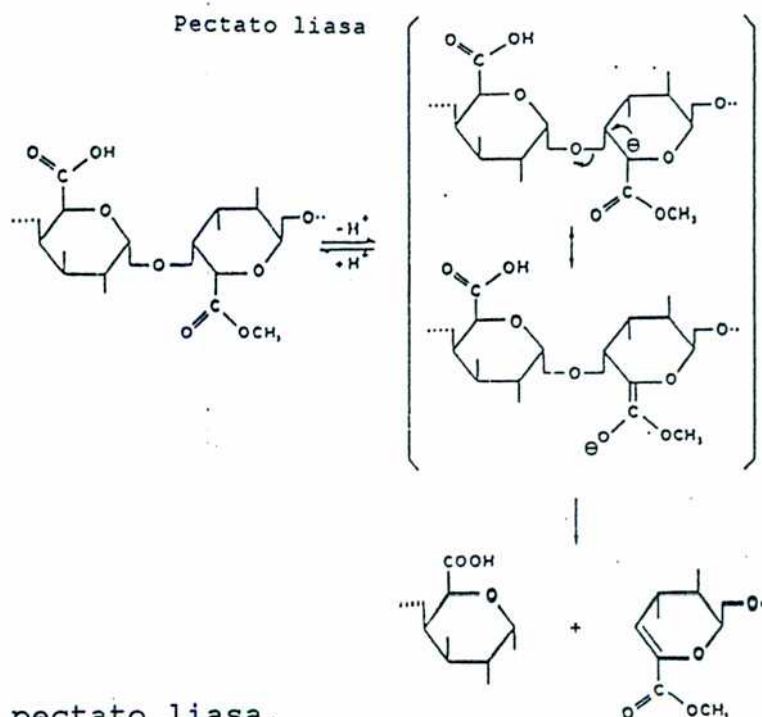


Figura 30: Acción de la pectato liasa.

Ambas, la exo y la endo enzimas tienen un pH óptimo en el rango de 8,0 a 9,5 y requieren iones Ca^{2+} para su actividad.

La exo-enzima comienza la ruptura desde el grupo reductor final y en contraste la actividad de la endo-enzima no depende del tamaño del sustrato. La PL no se encuentra en plantas pero sí en los hongos y bacterias, algunos de los cuales están involucrados en el ablandamiento de frutas y vegetales. El sustrato más apropiado para esta enzima son las pectinas de bajo grado de esterificación.

2.4 Procesamiento y textura

Las frutas y vegetales sufren modificaciones texturales propias (desarrollo y maduración) y externas (transporte, manipuleo, procesamiento).

En los procesos en los cuales se aplican **altas temperaturas**, como cocción, escaldado, pasteurización y esterilización, se van a generar diversos daños al tejido con el correspondiente cambio textural que afecta la aceptabilidad del producto por parte del consumidor. En muchos casos este ablandamiento es beneficioso, dado que aumenta la palatabilidad del producto y, por los cambios químicos que se generan, también aumenta su digestibilidad. Pero esto no es lo usual. Un orden en el daño que ocasionan los tratamientos térmicos, de acuerdo a su severidad, sería: esterilización > cocción > escaldado.

Los cambios texturales que acompañan al calentamiento del tejido se ocasionan por diversos fenómenos, entre ellos:

- a) desplazamiento de gases por líquidos de los espacios intercelulares y vasculares,
- b) destrucción de la permeabilidad selectiva de las membranas celulares con la consecuente disminución de los jugos celulares y presión de turgor,
- c) daño de las paredes celulares por la degradación y solubilización de los polímeros de pared, que resultan en una pérdida de quebrajosidad y
- d) cambios físicos y químicos de los componentes citoplasmáticos como almidones y proteínas. (Seow y col, 1995; Ilker y col, 1990; Jewell, 1979).

Se toma mayor interés en la fuerza relativa de la laminilla media y la pared celular de las células parenquimáticas, que son las que conforman la parte comestible de la mayor parte de los vegetales. Si el material está crudo, en la mayoría de los casos, la aplicación de una fuerza externa hará que se deteriore la pared celular, que es más débil que la laminilla media en este caso. Al consumirla, se notará una sensación de jugosidad por la ruptura de la pared y la salida de los jugos celulares. En el caso de frutos cocidos, se produce la ruptura de las capas interlaminares, generalmente atribuible a la degradación que sufrieron las pectinas componentes, por ejemplo por β -eliminación. La pared celular se mantiene intacta.

En el caso de las papas, de alto contenido de almidón, el hinchamiento de los gránulos de almidón, que colabora con la separación celular, genera una textura harinosa y blanda. Por otra parte, la adherencia de las paredes celulares intactas resulta en una textura mojada. Una textura gomosa o pastosa resulta de una excesiva ruptura de las paredes celulares que permite la gelatinización del almidón de las células (Seow y col, 1995).

La pérdida de firmeza de frutas y vegetales procesados por aplicación de calor ha sido controlada por medio de varios factores. Uno de ellos es el mantenimiento de la estructura de la matriz de la laminilla media por la formación de puentes entre cationes divalentes (Ca^{+2} y Mg^{+2}) y los grupos carboxilo libres de las cadenas de pectina. El escaldado a temperaturas relativamente bajas ($45-75^{\circ}\text{C}$) activa la enzima pectinesterasa (PE) en los tejidos vegetales, como antes se mencionó en el punto 2.3.2.3. Si la temperatura a que son sometidos antes de la cocción es la temperatura óptima de activación de la enzima, se observa en el producto final una mayor firmeza que en el caso en que no se realizó dicho pretratamiento. Por otro lado, ha sido demostrado que la aplicación de bajas temperaturas durante largo tiempo en el escaldado (LTLT), es efectiva para el aumento de la resistencia de los tejidos vegetales a los daños texturales que se generan durante la esterilización, en forma opuesta a lo que ocurre cuando se aplican altas temperaturas durante cortos tiempos (HTST) (Van Buren y col, 1960).

Uno de los mayores inconvenientes en el procesamiento de ají chile enlatado es el colapso y ablandamiento del producto debido al tratamiento térmico de esterilización. La adición de Ca^{2+} como Cl_2Ca , $\text{Ca}(\text{OH})_2$ o lactato de calcio favoreció las características texturales. El cloruro de calcio es el que generó, en su dosis más baja (0,2%), el mejor efecto sobre esta característica siendo necesario para lograr el mismo efecto un 0,4% de lactato de calcio. El hidróxido de calcio,

en concentraciones de 0,2%, a pesar de que favorece la textura, presenta el inconveniente de aumentar el pH (con el consiguiente problema tecnológico), provocar sabores desagradables y precipitar luego del almacenamiento (Saldana y col, 1981).

En arvejas enlatadas y esterilizadas usando como líquido de cobertura agua destilada, el tiempo de almacenamiento posterior a la cosecha no tuvo influencia sobre la firmeza al final del procesamiento. Con altas concentraciones de calcio, las arvejas almacenadas durante largos períodos (4 años) antes de su procesamiento, tuvieron diferencia significativa en el grado de dureza respecto de las arvejas cosechadas y procesadas. Esto indicaría que el calcio absorbido en arvejas "viejas" fue mayor y generó mayor firmeza. Almacenamientos prolongados generaron la demetilación de las pectinas proveyendo así grupos carboxilo libres para reaccionar con los iones Ca^{2+} . Bajo las mismas condiciones más la adición de sacarosa fue observado un aumento de la firmeza de las arvejas procesadas, siendo significativa la diferencia entre las nuevas y las almacenadas previamente. Ello fue atribuido a la interacción entre calcio, pectina y azúcar, que formaría un gel realmente fuerte dentro del producto (He y col, 1989). Ha sido reportado que un gel formado por pectinas de bajo metoxilo y calcio incrementa significativamente su dureza por la adición de azúcar (Kim y col, 1978).

Bajos valores de pH y la adición de Ca^{2+} , en ensayos con arvejas verdes enlatadas y zanahorias cocidas, generalmente resultaron en un efecto favorable sobre la textura, mientras que para muestras crudas el efecto de adición de calcio fue significativo en zanahorias. Para $\text{pH} < 4.5$, la firmeza decreció probablemente como resultado de una hidrólisis ácida. (Stanley y col, 1995).

Levi y col (1988) analizaron el efecto del escaldado y el secado sobre las pectinas y las características de rehidratación en duraznos deshidratados. Luego de la preparación fueron deshidratados, almacenados a temperatura ambiente durante un año y rehidratados para su estudio. Se observó una correlación significativa entre el contenido de pectinas totales y/o protopectina y el peso de rehidratación, tanto a temperatura ambiente como en agua en ebullición. No existió correlación entre los pectatos de calcio y las pectinas solubles, indicando que las pectinas juegan un rol mayor en la capacidad de rehidratación de frutas deshidratadas. Existió una correlación significativa entre los tiempos de tratamiento térmico (escaldado) y la firmeza y entre la firmeza y el contenido de pectinas totales de la fruta escaldada. Esto indicaría que el ablandamiento del tejido de durazno causado por tratamientos térmicos está

conectado con la degradación de las sustancias pécticas. Esta degradación fue probablemente causada por las enzimas pectolíticas y/o el tratamiento térmico a que fueron sometidas las muestras.

La **congelación** induce alteraciones en las características texturales de los vegetales, de tal manera que, por ejemplo, para tomate y lechuga se hace totalmente inaplicable. Los mayores cambios texturales son la distorsión física de las células y la ruptura de las membranas celulares por los cristales de hielo con la consiguiente pérdida de turgor y quebrajosidad luego del descongelado. De esta manera, un alimento que ha sido expuesto a un congelado rápido sufrirá menos deterioro textural que uno expuesto a una congelación lenta. Mientras una congelación lenta va a generar cristales extracelulares de gran tamaño, la congelación rápida va a producir menor deshidratación celular y la formación de pequeños cristales intra y extra celulares, lo que resulta en un menor daño estructural y una mayor calidad del producto final.

Además de los daños físicos producidos por el congelamiento, se deben considerar otros factores que van a afectar la calidad textural. Se debe incluir, por ejemplo, la concentración de solutos de la fase no congelable que genera cambios en las fuerzas osmóticas, reacciones químicas y precipitación o agregación de macromoléculas.

La aplicación de un escaldado LTLT/HTST en lugar de un escaldado HTST, da como resultado un efecto protector sobre el tejido vegetal al daño textural que produce el congelamiento. Para zanahoria, coliflor y arvejas verdes, un tratamiento LTHT antes del congelado y descongelado, implica mejores características texturales de firmeza del tejido (Seow y col, 1995).

Asimismo, crioprotectores como los solutos de bajo peso molecular (azúcares o polioles) pueden ser adicionados para reducir el daño del congelado/descongelado sobre los tejidos vegetales. Estos productos limitan la cantidad de cristales de hielo que se forman durante el congelamiento.

El **pickelado y los productos fermentados** son preservados básicamente por acidificación. En muchos casos y cuando no se produzca el deterioro del material, los pickles pueden ser tratados térmicamente a bajas temperatura. La inmersión en cloruro de sodio durante el proceso genera plasmólisis, disrupción del citoplasma, adelgazamiento de la pared celular y pérdida de sustancias pécticas por degradación. Esto va a generar una disminución de la firmeza y de la elasticidad. El tratamiento con sales de calcio, antes, durante o después del pickelado puede solucionar de alguna manera este defecto de ablandamiento (Seow y col, 1995).

El ablandamiento enzimático durante la fermentación y almacenamiento es el mayor problema que se presenta en la industria de pickelado de pepinos. Puede deberse a la degradación de las sustancias pécticas por acción de la PG. Pueden ser usadas bajas concentraciones de cloruro de sodio cuando se usan altos niveles de PG o cuando los pickles han sido tratados con calcio. Esto reduciría la necesidad de desalinizar el producto antes de su envasado pudiendo a su vez ser utilizado como líquido de gobierno. La adición de Cl_2Ca en el líquido de gobierno aumenta la firmeza de los pickles, previniendo la acción de la enzima PG y la adición de altos niveles de ClNa (Buescher y col, 1981).

El procesamiento por **altas presiones** es una técnica innovativa en la preservación de alimentos, en la cual se aplican presiones en el rango de 100 a 600 Mpa. Es eficaz cuando se aplica a temperatura ambiente porque preserva al alimento de daños térmicos. Sin embargo las altas presiones inducen cambios morfológicos en los tejidos vegetales que se traducen en un ablandamiento del producto. También genera desnaturalización de proteínas y agregación como asimismo gelatinización del almidón (Seow y col, 1995).

La **radiación ionizante** ofrece grandes opciones para la extensión de la vida media de frutas y vegetales. Pero muchos materiales no soportan las dosis necesarias para el control microbiológico porque daños texturales severos resultan de la destrucción de la semipermeabilidad de las membranas de las células con pérdida de la presión de turgor y de la depolimerización de las macromoléculas que son responsables del mantenimiento de la integridad del tejido (Seow y col, 1995).

La **Tabla 5** resume los principales daños microestructurales producidos en tejidos vegetales por los distintos procesos de conservación que se traducen en una alteración de las características texturales.

2.5 Tecnologías de preservación por métodos combinados.

2.5.1 Introducción

En la última década, el uso del concepto de **factores combinados de preservación (o tecnología de barreras)** ha dado origen a tecnologías innovativas para la obtención de "productos de fruta de alta humedad" (FAH) (Leistner y col, 1992; Alzamora y col, 1987; Alzamora y col, 1994). Estas

Calentamiento:

- › Ruptura y degradación de la laminilla media y separación de la paredes celulares.
- › Ruptura de las paredes celulares debido a la separación y solubilización de polímeros.
- › Engrosamiento de las paredes primarias.
- › Lisis de la membrana plasmática y del tonoplasto y consecuente pérdida de fluidos celulares y turgor.
- › Cambios fisicoquímicos de los componentes citoplasmáticos como almidón y proteínas.
- › Desplazamiento del aire ocluido.

Deshidratación:

- › Modificación de la cristalinidad de la pared celular, desorganización de microfibrillas y ruptura de la laminilla media.
- › Pérdida de la funcionalidad de la membrana plasmática debido al estrés osmótico con pérdida de turgor.
- › Inhabilitación de expansión del protoplasto para expandirse y retomar su volumen original.
- › Encogimiento del tejido.
- › Lisis de las membranas y vesiculización durante la rehidratación.
- › Gelatinización del almidón y fusión y redistribución de grasas.

Congelado-descongelado:

- › Daños mecánicos a la pared celular (por ej. desorganización y menor densidad electrónica)
- › Ruptura de las membranas celulares por los cristales de hielo con la consiguiente ruptura del protoplasto y pérdida de turgor.
- › Desorganización del citoplasma (concentración de solutos en la fase no congelable, precipitación y agregación de macromoléculas).
- › Colapso estructural de las células en almacenamiento a temperaturas por encima de la transición vítrea.

Refrigerado:

- › Hinchamiento del cloroplasto.
- › Transición de algunas membranas a la fase lipídica y disfunción fisiológica.
- › Disminución de la compartimentalización celular.

Irradiación:

- › Destrucción de la semipermeabilidad de las membranas con pérdida de turgor.
- › Depolimerización de macromoléculas (incluyendo pectinas, celulosa y hemicelulosa).
- › Plegamiento de las membranas celulares.

Tabla 5: Principales efectos del procesamiento en la estructura de los tejidos vegetales.

nuevas tecnologías están basadas en la combinación de factores ambientales de estrés para combatir el desarrollo de los microorganismos en la fruta así como de factores adicionales para disminuir la pérdida de calidad por reacciones indeseadas que afectan el color, la textura, el olor, el sabor y el valor nutritivo.

Los factores usualmente seleccionados para el diseño de los procesos de preservación de fruta por factores combinados son: leve reducción de la actividad de agua (a_w 0.93-0.98) mediante la adición de solutos (humectantes), control de pH (pH 3.0-4.1), tratamiento térmico suave (escaldado o llenado en caliente), y adición de conservadores (por ejemplo, sorbato de potasio, dióxido de azufre, etc. en concentraciones ≤ 1500 ppm). Ninguno de estos factores sería letal para los microorganismos si fuera usado individualmente a igual nivel.

El concepto de "combinación de obstáculos" aplicado en esta tecnología implica que la estabilidad microbiológica se logra mediante la interferencia de los mecanismos homeostáticos pasivos de las esporas y los mecanismos energético-dependientes de las células vegetativas utilizando una serie de factores que actúan colaborativamente o en un número de blancos. En el caso de células vegetativas, por ejemplo, se trata de incrementar la demanda de energía y/o reducir su disponibilidad, de tal manera que la energía disponible para el crecimiento sea nula (Leistner, 1987). El siguiente cuadro ilustra este concepto (Gould y col, 1983):

Formas de interferencia de la homeostasis activa de las células vegetativas.	
REDUCCION EN LA DISPONIBILIDAD DE LA ENERGIA	INCREMENTO EN LA DEMANDA DE LA ENERGIA
* Exclusión del O ₂	* Reducción de la a_w
* Limitación de nutrientes	* Reducción del pH
* Reducción de la temperatura	* Adición de ácidos lipofílicos débiles y de otros compuestos activos en la membrana

Al no aplicarse un solo factor en forma severa sino una combinación de factores aplicados en forma leve para evitar desarrollo de los microorganismos y alteraciones fisicoquímicas, se obtiene un producto final de mayor calidad con los mismos resultados en su calidad sanitaria. En particular, la combinación de factores citada no modifica

apreciablemente las características texturales de la fruta fresca, lo cual potencia a este método ante los métodos convencionales de preservación, sobre todo en el caso de frutas de características texturales delicadas.

2.5.2 Selección de los factores en la conservación de frutas de alta humedad

Para seleccionar los factores y los niveles a que van a ser aplicados debe tenerse en cuenta qué microorganismos están presentes en la materia prima y pueden desarrollar y cuáles son los cambios que se producen por acción enzimática y/o por reacciones químicas.

La fruta está sometida a contaminaciones del habitat natural como así también a contaminantes provenientes del proceso (equipos, maquinarias y transporte). Es conocido que las frutas poseen defensas ante estos ataques: la piel, sustancias antimicrobianas naturales (antocianinas, ácido benzoico, benzaldehído, etc) y ácidos orgánicos que mantienen el pH en valores menores que 4.6 (Goepfert, 1980; Doyle, 1990). La mayoría de las frutas son alimentos de alta acidez (**Tabla 6**) (Alzamora y col, 1994). Existen excepciones como la banana, el melón, el higo, el mamón y la papaya, que poseen alto pH. Estas dos condiciones: bajo pH y las características de las moléculas de ácidos orgánicos, seleccionan el desarrollo de microorganismos según la tolerancia de los mismos a los ácidos.

Splittstoesser (1987) realizó una compilación de los hongos que más comúnmente desarrollan en fruta fresca: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botryodiplodia*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Glocodes*, *Glocosporium*, *Guignardia*, *Mornilimia*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phomopsis*, *Phytophthora*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Trichoderma* y *Venturia*. Dentro de las bacterias lácticas pueden mencionarse: *Lactobacillus brevis* y *plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *dextranicum*, *Streptococcus faecium* y *faecalis*, *Lactobacillus pastorianus*, *Lactobacillus arabinosus*, *Lactobacillus lichmanii*, *Mycobacterium* y algunas especies de *Leuconostoc* (Frazier y col, 1988).

Las bacterias patógenas no desarrollan en frutas dado el bajo pH, pero existen varios hongos productores de micotoxinas

Fruta	pH
Manzana (<i>Pyrus malus</i>)	3,4 - 3,5
Damasco (<i>Prunus armerniaca</i>)	3,3 - 4,4
Banana (<i>Musa cavendish</i>)	5,6
Blueberry (<i>Vaccinium angustifolium</i>)	3,2 - 3,6
Carambola (<i>Aerrhoa carambola</i>)	2,4
Cherry (<i>Prunus arium y cerasus</i>)	3,2 - 4,0
Higos (<i>Ficus carica</i> L.)	4,9 - 5,0
Guava (<i>Psidium guajaba</i> L.)	3,4 - 4,0
Mamón (<i>Calocarpum mammosum</i> L.)	6,0
Mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	3,2 - 4,2
Melón (<i>Cucumis, Citrullus</i>)	5,5
Papaya (<i>Carica papaya</i> L.)	4,0 - 5,6
Fruto de la pasión (<i>Passiflora edulis sims.</i>)	3,2
Durazno (<i>Prunus pérsica</i>)	3,4 - 4,2
Pera (<i>Pyrus communis</i>)	3,8 - 4,6
Ananá (<i>Ananas comosus</i> Merr.)	3,0 - 3,6
Ciruela (<i>Prunus insititia</i>)	2,8 - 3,0
Frutilla (<i>Fragaria ananasa and vesca</i> L.)	3,0 - 3,9
Tamarindo (<i>Tamarindus indica</i> L.)	2,2

Tabla 6: pH de frutas tropicales y subtropicales (Alzamora y col, 1994).

en la fruta previo y posteriormente a su cosecha. Ejemplo de ello son las especies *Aspergillus*, *Byssochlamys* y *Penicillium*, que producen patulina en manzanas, peras y frutos de carozo.

Además de los deterioros microbiológicos existen cambios físico-químicos y bioquímicos que deterioran la calidad final de las frutas luego de su procesamiento. Cuando se produce un daño mecánico en la fruta y a su vez es expuesta al aire, se va a producir un oscurecimiento por acción de las enzimas polifenoloxidasas y peroxidasas. Los compuestos fenólicos son sustrato para las polifenoloxidasas, las cuales son capaces de hidrolizar tanto monofenoles a o-difenoles como o-difenoles a quinonas. Las o-quinonas pueden ser punto de partida de muchas reacciones, entre otras aquellas que conducen a la formación de colores pardos en la fruta y sus productos derivados (Belitz y col, 1985). Las enzimas causan también cambios en el "flavor" y la textura si no han sido inactivadas previamente. La inactivación puede realizarse por calentamiento y/o por adición de reductores (bisulfito de sodio, ácido ascórbico o eliminación de oxígeno) (Belitz y col, 1985). Pueden desarrollarse también compuestos pigmentados marrones debido a reacciones no enzimáticas que suceden durante el procesamiento y almacenamiento de la fruta. Estas reacciones son reacción de Maillard, caramelización de azúcares y reacciones oxidativas de ácido ascórbico.

Los pigmentos naturales que dan color a la fruta como clorofila, carotenoides y antocianinas pueden ser degradados

generando una disminución de color o cambios por el desarrollo de productos coloreados.

Teniendo en cuenta las consideraciones previas, las tecnologías desarrolladas en general consistieron en un tratamiento térmico suave (escaldado) como primer paso, seguido de un tratamiento para disminuir la a_w por deshidratación osmótica con el agregado de humectantes. Los rangos en los cuales se manejaron los distintos factores son: a_w en el equilibrio = 0,94 - 0,98; pH = 3,0 - 4,1 (ajustado con ácido cítrico o ácido fosfórico); sorbato de potasio o benzoato de sodio = 400 á 1000 ppm y bisulfito de sodio = usualmente 150 ppm.

La deshidratación-impregnación con solutos puede realizarse de dos formas: por inmersión en soluciones acuosas concentradas de glucosa, sacarosa, maltrodextrinas, jarabes de maíz o sus combinaciones; o por la mezcla directa de la fruta, humectantes y aditivos, como es el caso de los purés y algunas frutas.

Algunos ejemplos de estos tratamientos puede observarse en la **Figura 31** (Alzamora y col, 1994).

El factor a_w se seleccionó usualmente en valores que oscilan entre 0,93 y 0,97 para mantener la apariencia de fresco de la fruta. El valor de pH se mantuvo dentro de los valores intrínsecos de la fruta (3,4 - 4,1) y en caso de que fuere mayor, se reguló con la adición externa de ácido cítrico o ácido fosfórico. Dado que los distintos microorganismos tienen un a_w óptimo y un pH óptimo para desarrollar y crecer, se puede realizar el diseño de tal manera que se pueda inhibir el crecimiento y no alterar significativamente las características de la fruta (sin exceder la cantidad de ácido agregado ni disminuir en exceso la a_w).

La adición de sustancias que inhiben el desarrollo de microorganismos como ácido sórbico o ácido benzoico es un factor adicional que aumenta el efecto antimicrobiano de un bajo pH.

La aplicación de un tratamiento térmico suave (escaldado) actúa inactivando las enzimas y destruyendo o dañando los microorganismos sensibles al calor con lo cual se obtiene una importante reducción de la carga microbiana inicial de la fruta.

La adición de bisulfito de sodio, como sucede en algunos tratamientos, es usualmente utilizado en bajas concentraciones con el fin de inhibir o disminuir la velocidad de las reacciones de pardeamiento no enzimático fundamentalmente,

aunque también tiene un importante efecto en el desarrollo de algunos microorganismos.

Figura 31: Ejemplos de aplicación del método de preservación por métodos combinados (Alzamora y col, 1994).

Fruta	Factores	Temperatura (°C)	Vida media (meses)	Referencia
Durazno (mitades)	Escaldado (vapor, 2') aw=0,98 (sacarosa) pH=3,7 NaHSO ₃ = 150ppm KS = 1.000 ppm	35	3	Argaiz y col, 1993
Durazno (mitades)	Escaldado (vapor, 2') aw=0,94 (glucosa) pH=3,5 NaHSO ₃ = 150ppm KS = 1.000 ppm	20 / 30	4	Sajur, 1985
Ananá (rodajas)	Escaldado (vapor, 2') aw=0,98 (sacarosa) pH=3,7 NaHSO ₃ = 150ppm KS = 1.000 ppm	25 35	3 8	Argaiz y col, 1994
Mango	Escaldado (vapor, 4') aw=0,97 (sacarosa) pH=3,0 NaHSO ₃ = 150ppm KS = 1.000 ppm	35	4,5	Diaz de Tablante y col, 1993
Papaya	Escaldado (vapor, 4') aw=0,98 (sacarosa) pH=3,5 NaHSO ₃ = 150ppm KS = 1.000 ppm	35	3,5	Tapia, 1994
Higo	Escaldado (vapor 80°C, 4') aw=0,95 (sacarosa) pH=3,0 NaHSO ₃ = 2% p/p KS = 1.000 ppm	35	3,0	Corona, 1991
Banana (pure)	Escaldado (vapor, 1') aw=0,97 (glucosa) pH=3,4 NaHSO ₃ = 400 ppm KS = 1.000 ppm AA = 250 ppm Trat. térmico: 100°C, 1')	27	3,5	Guerrero y col, 1993

KS: sorbato de potasio, AA: ácido ascórbico

2.6 Técnicas microscópicas en el estudio de la estructura y ultraestructura celular de frutas.

La observación microscópica de los tejidos vegetales revela parámetros directamente relacionados con la textura, a pesar de que no pueden ser convertidos a valores numéricos para su tratamiento estadístico. En la figura 32 puede observarse que la textura es consecuencia directa de la microestructura del sistema, la cual a su vez está influenciada por la composición química y las fuerzas que actúan sobre el mismo (Stanley y Tung, 1976).

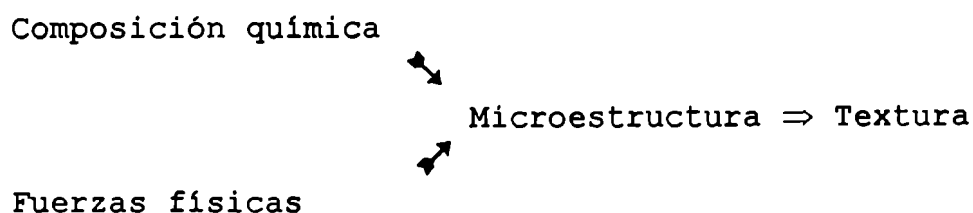


Figura 32: Dependencia de la textura con la microestructura.

Los cambios que se detectan visualmente por el procesamiento de los alimentos (por ejemplo, gelatinización del almidón) son el resultado de cambios a nivel molecular y microscópico del material.

Además de la evaluación sensorial por medio del sentido de la vista, las técnicas microscópicas permiten una magnificación de la microestructura de los alimentos para el análisis de los cambios texturales (Kalab y col, 1995). La microscopía óptica (MO), la microscopía electrónica de transmisión (MET) y la microscopía electrónica de barrido (MEB) y otras técnicas de imagen (resonancia magnética, análisis digital de imagen, análisis fractal) van a generar datos de análisis en forma de imagen. Estas técnicas varían en el método por el cual producen la imagen, la resolución y el tipo de nivel de estructura detectado que es único para cada caso. Permiten además por aplicaciones especiales en cada caso, la localización de sustancias dentro de la estructura del tejido.

Cada técnica microscópica posee su metodología propia de preparación de muestra. En casi todos los casos y por distintos métodos y adición de sustancias se realiza un corte del tejido, fijación y coloración, para poder efectivizar el análisis del mismo.

Ante el estudio de la estructura de un alimento natural, debe tenerse en cuenta que la preparación de las muestras para

su análisis puede modificar en algunos casos esta estructura. Puede existir remoción de agua, lípidos, y otras sustancias que generan cambios y modifica la relación que existe entre los componentes.

El valor de las técnicas microscópicas en la tecnología de alimentos tiene un carácter auxiliar, siendo un nexo entre las determinaciones instrumentales y químicas. La interpretación de las imágenes que se obtienen por métodos microscópicos deben estar basadas en las siguientes características (Lewis, 1986):

- ♦ Todas las interpretaciones deben tener en cuenta el proceso de preparación de las muestras.
- ♦ La interpretación debe estar basada (donde es posible) sobre las diferencias existentes entre una muestra control y otra procesada.
- ♦ Las observaciones por microscopía deben estar relacionadas con observaciones químicas, físicas o tecnológicas.
- ♦ Las observaciones fundamentales deben ser chequeadas con más de una técnica microscópica.

El MO y el MET poseen sistemas de formación de imagen similares, siendo la diferencia la fuente de iluminación. En el caso del MET, esta fuente son electrones y trabaja en vacío. Además en MET la resolución es considerablemente mayor que en microscopía óptica ($R_{MO} \cong 200-500 \text{ nm}$; $R_{MET} \cong 0,2-1 \text{ nm}$) (Aguilera y Stanley, 1990). Las técnicas de fijación y coloración son también diferentes. MO produce imágenes reales que son luego magnificadas a la vista o a sistemas fotográficos acoplados al equipo. En MET se pueden visualizar estructuras internas de las muestras de alimentos. Las secciones ultrafinas de muestras se embeben en resina epoxi y se soportan en grillas que permiten su utilización en el equipo.

En el caso de la microscopía electrónica de barrido (MEB) se examinan superficies ($R_{MEB} \cong 3-4 \text{ nm}$) (Aguilera y Stanley, 1990). La muestra es secada o congelada y cubierta con una fina capa de 5-20 nm de metal (oro) que provee la conductividad eléctrica. La ausencia de agua en la muestra seca permite que se exponga una estructura sólida para su observación. Para alimentos o muestras ricas en grasa se utiliza el crio-MEB, que permite utilizar el sistema cuando el material no puede prepararse por el método convencional (Kaláb y col, 1995).

investigadores en alimentos, tanto para el estudio de métodos de preservación de estructuras biológicas como para el desarrollo de nuevos productos y la comprensión de los fenómenos de deterioro por el procesamiento.

Por ejemplo, Gutierrez y col (1992) utilizaron MET y MEB para analizar los cambios que se producen en la chirimoya cuando se ablanda por almacenamiento en frío. Observaron que las alteraciones en las estructuras de membrana se producen durante la maduración del fruto a 22 °C y durante el almacenamiento a 4 °C. Durante el almacenamiento la pared celular no es degradada.

Beveridge y Tait (1993) estudiaron la estructura y composición de la turbidez presente en jugo de manzana. Utilizaron jugos comerciales y realizaron almacenamientos a distintas temperaturas y determinaron proteínas. Para el estudio de la estructura y ultraestructura del material utilizaron MO y MET. Cualitativamente la cantidad de material presente se incrementa cuando aumenta el tiempo y temperatura de almacenamiento. La microscopía óptica revela que son materiales amorfos, granulares y que estos agregados se dispersan fácilmente con agitación. En estado de reposo estas partículas vuelven a agruparse, lo cual indicaría la existencia de fuerzas atractivas entre las mismas. Por MET se analizaron las mismas partículas que para MO evidenciando la presencia de cuerpos largos y esféricos embebidos con una matriz de otro material. Este último podría consistir en polifenoles polimerizados o complejos de proteínas-polifenoles.

Trakoontivakorn y col (1988) analizaron por medio de MEB la estructura celular de manzanas frescas (Granny Smith y Red Delicious). Midieron además el área celular, el área de los espacios intercelulares y el largo de la célula. La densidad y arreglo de las estructuras celulares de ambas variedades fue generalmente similar durante la maduración, mientras que el área celular, el área de los espacios intercelulares y el tamaño de las células aumentó.

Existe una gran variedad de trabajos de estudio de estructura realizados sobre distintas frutas y vegetales, entre otros: arvejas (Saio y col, 1983; Rockland y col 1974); coco fresco y deshidratado (Heathcock y col, 1983); zanahoria y arvejas frescas y procesadas (Grote y col, 1984); manzanas irradiadas (Kovács y col (1989); maní (Young y col, 1990); tejido externo de manzanas (Kim y col, 1990); etc.

2.7 La frutilla o fresa.

2.7.1 Características botánicas

La frutilla o fresa es denominada de distintas maneras según el país de origen: "morango" en Portugal, "fragola" en Italia, "fraise" en Francia, "strawberry" en Inglaterra y "erdbeere" en Alemania.

Es una planta de la familia de las Rosáceas, subfamilia Rosoideas, tribu Potentillea y género *Fragaria* (palabra que en latín significa fragancia) (Dimitri, 1972) (**Figura 34**).

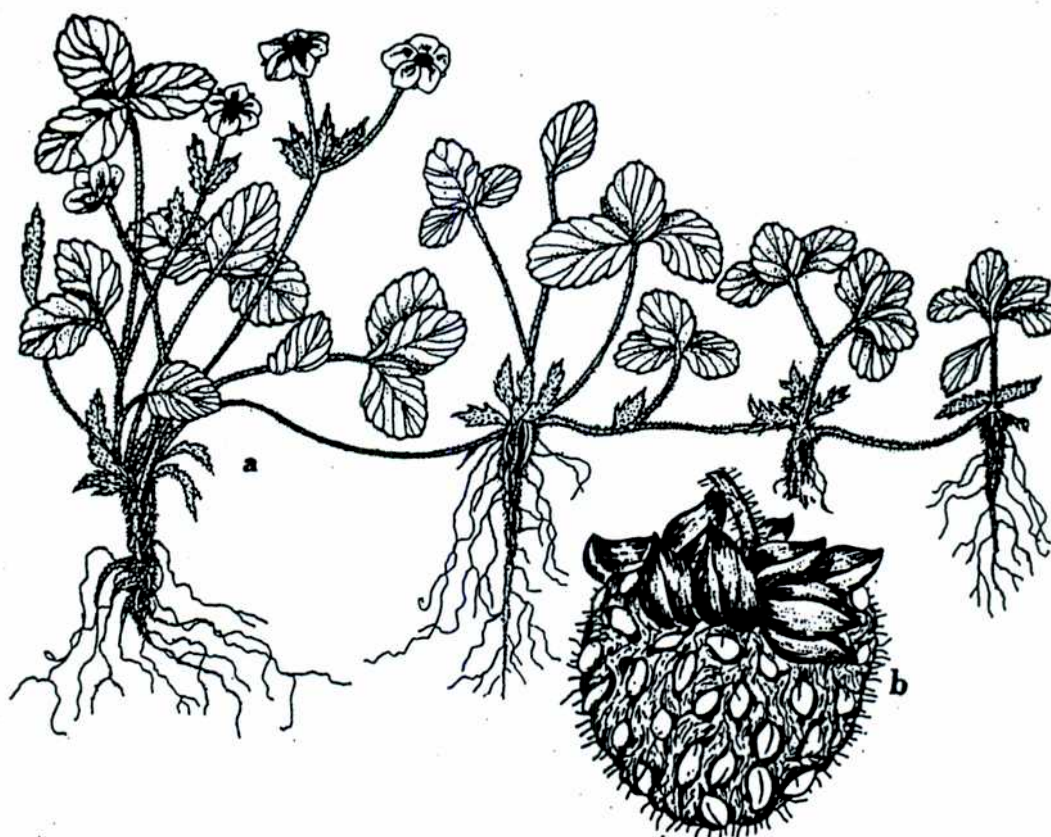


Figura 34: Organografía de la planta de frutilla. a) planta en flor, b) fruto (Dimitri y Nolberto, 1985).

Según Reed (Darrow, 1966), se llegaron a describir más de 45 especies dentro del género *Fragaria*, pero

investigaciones posteriores, relacionadas con la constitución cromosómica, permitieron reducir a 11 el número de especies válidas. Estas poseen una estructura genética común con genomios de 7 cromosomas. Esto indica la existencia de un ancestro único para todas las especies de *Fragaria*.

Las frutillas de gran fruto aparecieron como consecuencia de cruzamientos casuales producidos en Europa entre *F.chiloensis* y *F.virginiana*, designadas por Duchesne con el nombre científico *Fragaria X ananassa* Duch., o simplemente *Fragaria ananassa* Duch., que pasó a constituir la especie botánica básica de las variedades de frutillas comerciales.

La frutilla es un fruto múltiple (poliaquenio) denominado botánicamente "eterio", cuyo receptáculo hiperatrofiado constituye la parte comestible.

El receptáculo maduro tiene hasta 5 cm de diámetro. Su forma puede ser achatada, globosa, globo-cónica, cónica alargada, cónica alargada con cuello, en cuña alargada y en cuña corta. Su color puede ser rosado, carmín, rojo o purpúreo. Existe una variedad blanca de *F.vesca*.

El receptáculo ofrece una gran variedad de gustos, aromas y consistencias que caracterizan a cada cultivar.

Los "aquenios" llamados vulgarmente semillas, son frutos secos indehiscentes, uniseminados, de aproximadamente 1 mm de largo, que se encuentran insertados en la superficie del receptáculo o en pequeñas depresiones más o menos profundas denominadas criptas. El color de los aquenios puede ser amarillo, rojo, verde o marrón. Un fruto mediano puede llegar a tener 150 a 200 aquenios, pudiendo llegar en los grandes a 400 (**Figura 35**) (Folquer, 1986).

La **composición química** promedio de la fruta fresca cada 100 gramos de ración comestible es la siguiente (Fuente: USDA, 1963) :

Agua (g)	89,9
Calorías (cal)	37,0
Proteínas (g)	0,7
Grasa (g)	0,5
Carbohidratos	
total (g)	8,4
fibra (g)	1,3
Calcio (mg)	21,0
Fósforo (mg)	21,0
Fe (mg)	1,0
Vit.A (UI)	60,0
Tiamina (mg)	0,03
Riboflavina (mg)	0,07
Niacina (mg)	0,6
Ac.Ascórbico (mg)	59,0

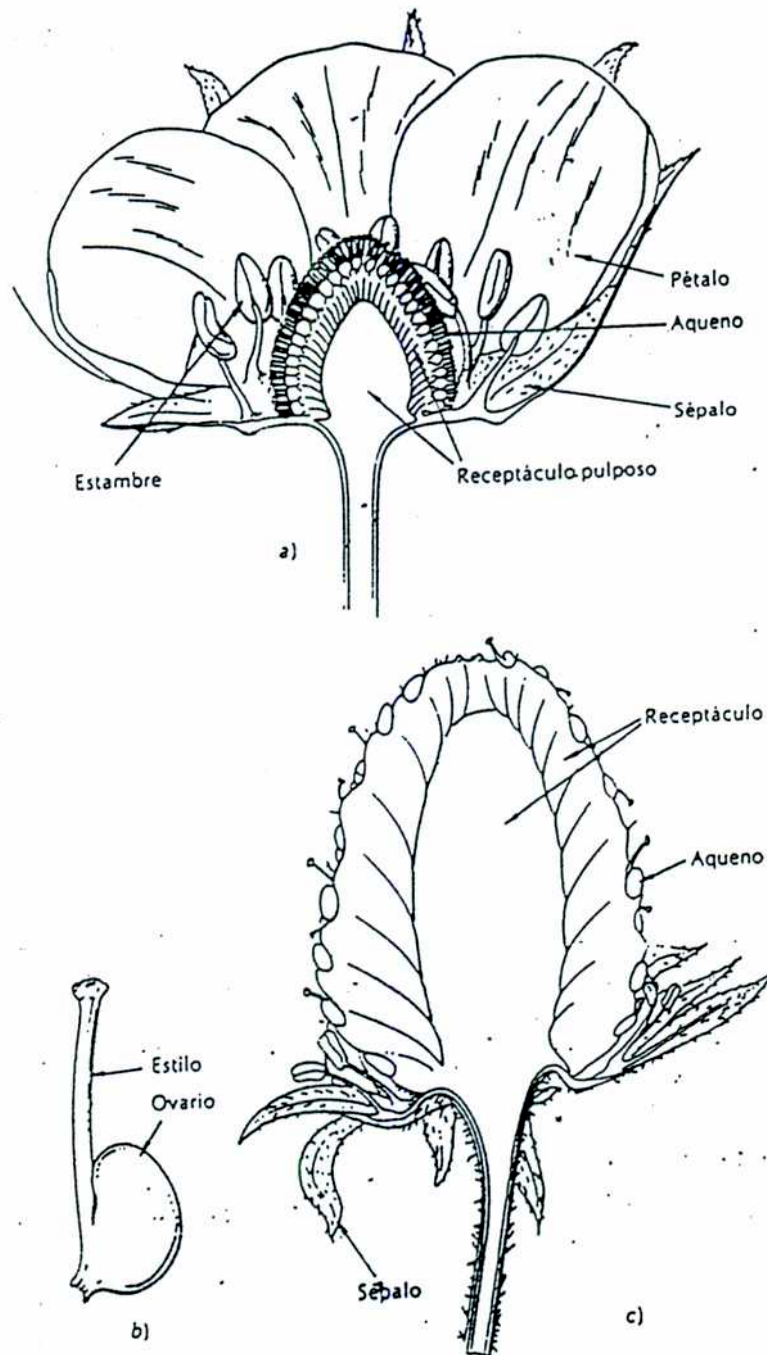


Figura 35: Fresa (*Fragaria chiloensis*). a) corte medio a lo largo de la flor. b) aquenio sencillo. c) corte del receptáculo

2.7.2 Cambios de la frutilla relacionados con las características texturales

La textura es uno de los atributos más importantes que define la calidad de las frutillas preservadas, siendo la ausencia de firmeza un factor limitante para su comercialización y aceptabilidad. Por esta razón muchos autores han investigado la bioquímica del ablandamiento del tejido de la frutilla durante su maduración y luego de ser sometida a distintos tratamientos de preservación.

Durante la maduración del fruto, los mayores cambios que ocurren son el ensanchamiento de las células parenquimáticas corticales y la ruptura de la láminilla media de las paredes de las mismas (Neal, 1965). Los análisis químicos han indicado un cambio en la estabilización del material péctico por cationes más que una degradación de las moléculas de pectina. La separación de las células parenquimáticas corticales no conduce a una completa remoción de las pectinas de la superficies celulares sino a la separación de la lámina media en dos capas cada una de las cuales permanecería agregada a la pared celular.

Huber (1984) sugirió que el ablandamiento asociado con la maduración no resulta de la hidrólisis de los poliurónidos (enzimática o de otro tipo) sino de la inhabilidad del tejido de mantener la integridad estructural debido a la adición a la pared de enlaces menos fuertes y estrechos, más libres de poliurónidos solubles sintetizados durante la maduración. Las hemicelulosas también son alteradas, mostrando un incremento de polímeros de bajo peso molecular durante la maduración.

En efecto, Barnes y Patchett (1976) concluyeron que el ablandamiento durante la senectud de la frutilla no es debido a la degradación enzimática del material péctico por parte de la actividad de la poligalacturonasa y polimetilgalacturonasa, puesto que estas enzimas no se encuentran en ningún estado del desarrollo de la fruta y la pectinestearasa muestra un mínimo de actividad en ese momento. Esto es consistente con lo sugerido por Neal (1965) respecto de que la separación de la laminilla media de la pared puede ser causado por la metilación de los poliurónidos en esta región destruyendo así las uniones del calcio.

A los efectos de mejorar la calidad de comercialización durante la vida media de frutillas frescas, García y col (1995) ensayaron sumergir la fruta en baños de agua durante 15 minutos a 25, 35, 45 y 55 °C, con un secado superficial posterior y un almacenamiento a 18°C durante 3 días. Los

resultados mostraron que la fruta tratada a 45°C manifestó menores cambios en la firmeza, menor pérdida de sólidos solubles, menor deterioro general y menores pérdidas de peso. Además hubo un aumento de sólidos solubles que fue muy bien aceptado por el consumidor.

García y col (1996) también estudiaron el efecto de un tratamiento térmico (25 y 45 °C) y adición de iones calcio por inmersión en una solución de Cl_2Ca al 1% p/p en frutillas cosechadas con 80% de color en la superficie, sobre la calidad de la fruta almacenadas a 18°C por un período de tres días. Antes del primer día de almacenamiento la fruta tratada con calcio y a 45°C mostró valores de firmeza significativamente mayores que el resto de la fruta (control, 25°C con y sin Ca^{2+} y 45°C sin Ca^{2+}). Después de este tiempo, no existió diferencia significativa entre la fruta tratada con calcio y la sumergida en agua ambos a 45°C. Sin embargo a partir del primer día la firmeza de la fruta sumergida solamente (sin Ca^{2+}) decayó marcadamente. Los tratamientos a 25°C mejoraron la firmeza de la frutilla respecto de la muestra control pero dicha mejora fue significativamente menor que los tratamientos a 45°C. La combinación de Cl_2Ca y temperatura (45°C) probablemente permita la formación de enlaces cruzados de calcio con las moléculas de pectina de la pared celular previamente demetiladas por la temperatura aplicada.

Main y col (1986) investigaron el efecto de la inmersión de frutillas en soluciones de lactato de calcio y celulosa microcristalina y la forma de envasado (entera o en rodajas) sobre la calidad del procesamiento. La firmeza de la fruta se incrementó por inmersión o infiltración en vacío en solución de lactato de calcio al 1 ó 2% p/p siendo mayor su efectividad en frutas sometidas a un proceso térmico que en frutas congeladas. Esto fue debido probablemente a que la temperatura rompe las uniones de las cadenas poliurónicas generando más sitios activos para la formación de pectato de calcio en la región de la laminilla media. La celulosa no fue aceptable como agente para incrementar la firmeza.

La infiltración en vacío de poliaminas (espermina y espermidina) incrementó significativamente la firmeza de rodajas de frutillas almacenadas a 1°C. El efecto sobre la firmeza, que es similar al del cloruro de calcio, fue atribuido a su habilidad para unir las paredes celulares y las membranas o por causar que la pared celular sea menos accesible al ataque enzimático, lo cual generaría ablandamiento del tejido (Ponappa y col, 1993).

El efecto de la irradiación por rayos gamma sobre la firmeza del tejido de frutillas fue estudiado por d'Amour y col (1993). Los polisacáridos de la pared celular (particularmente celulosa y sustancias pécticas) de frutas irradiadas a 4 kGy fueron parcialmente degradados causando un ablandamiento significativo del tejido.

Johnson y col (1965) estudiaron los cambios físicos y sensoriales de frutillas frescas sometidas a radiación gamma aplicada a niveles de pasteurización. Los niveles de radiación fueron 0, 100, 200 y 300 Krad y el tratamiento se realizó un día y medio después de cosechadas. El tiempo de almacenamiento posterior a la irradiación fue de 10 días. No existió correlación entre las mediciones texturales y la observación visual de la fruta. A medida que aumentaba la dosis de radiación los ensayos físicos de textura (ensayo de cizalla) mostraban una disminución de la calidad textural. El mismo efecto se observó durante el almacenamiento; las frutillas eran menos túrgidas. Aún ante estos resultados la resistencia al aplastamiento manual (ensayo sensorial) aumentaba con el tiempo de almacenamiento. A los niveles de irradiación utilizados las diferencias en el aroma y el sabor fueron muy difíciles de detectar. Los datos obtenidos indicaron que el nivel de irradiación gamma de 200 Krad aplicado a frutilla fresca causa menores daños en textura, apariencia y "flavor".

Un estudio interlaboratorio sobre "flavor", firmeza y composición de frutillas refrigeradas de diferentes cultivares mostró que los valores instrumentales de esfuerzo de corte se mantuvieron relativamente constantes durante los cinco días del período de almacenamiento a una temperatura de 3°C (Gormley y col, 1988).

En frutillas var. Huxley y var. Cambridge Favourite los cambios de textura durante la maduración y preservación por congelado, sulfitado o enlatado fueron asociados con cambios en la composición de polisacáridos insolubles de la pared celular (Wade, 1964). El comportamiento diferente que mostraron dos variedades durante la cocción de la conserva fue atribuido a la diferencia de la relación de cambio de galactanos a arabinanos durante la maduración, diferentes niveles de galactano en la fruta madura y a la diferencia en la velocidad de cambio del ácido anhidrouónico (AAU). Ello sugiere una diferencia en la naturaleza de la asociación entre las sustancias pécticas insolubles y los otros polisacáridos en la pared celular de las dos variedades. La progresiva disminución en la proporción de AAU insoluble de frutas enlatadas y sulfitadas a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento fue debido probablemente a la solubilización de las pectinas en un medio ácido débil.

El mayor cambio en textura ocurrido inmediatamente después del enlatado no fue acompañado por grandes cambios en las proporciones de los componentes anhidro-azúcares o grupos ester de los polisacáridos insolubles de la pared celular.

Cuando tres variedades de frutilla fueron comparadas a dos tiempos de cosecha y dos grados de maduración durante el almacenamiento congelado, las mediciones de textura por corte fueron directamente relacionadas con peso escurrido, pectina soluble en agua, fracciones combinadas de pectina, hemicelulosa y celulosa (Sistrunk y col, 1967). Las frutillas congeladas comercialmente mostraron desorganización del citoplasma, plasmólisis celular, algo de desorientación en la organización celular y plegado y ruptura de la pared celular. Esta descripción microscópica fue correlacionada con el análisis instrumental y el perfil sensorial de textura: las frutillas congeladas y descongeladas fueron blandas y húmedas (Szczesnick y Smith, 1969).

3 - MATERIALES Y METODOS

3.1 Materia prima

Se utilizaron frutillas de tamaño mediano (diámetro mayor de 3 a 4 cm y diámetro menor de 2,5 a 3 cm), con un grado de madurez correspondiente a color rojo en el 80% del tamaño total de la fruta.

Las variedades usadas fueron:

- variedad "Pájaro", proveniente de Coronda, Santa Fé, adquirida en un comercio de la zona, y
- variedad "Siskey". Esta variedad es un híbrido de las variedades "Pájaro" y "R6" y la fruta provino de la ciudad de San Rafael, Provincia de Mendoza.

Los aditivos utilizados incluyeron Cerelose (glucosa monohidratada, grado alimentario, Refinerías de Maíz S.A. Argentina); ácidos cítrico y ascórbico (grado analítico, Merck Química, Argentina); bisulfito de sodio (grado analítico, Mallinckrodt Chemical Works, St. Louis, MO); sorbato de potasio (grado alimentario); lactato de calcio (grado alimentario); sacarosa (grado alimentario); jarabe de glucosa de 44° Bé (grado alimentario, Refinerías de Maíz S.A. Argentina).

3.2 Preparación de las muestras

La frutilla fresca (contenido de humedad $\cong 92\%$ p/p, $a_w \cong 0,99$, pH en el rango de 3,0 - 3,5) se lavó, se despalilló y se seleccionó por tamaño, sometiéndose luego a diferentes tratamientos para evaluar sus efectos sobre las características texturales de la fruta. La masa de frutilla utilizada para cada ensayo varió aproximadamente entre 1000 y 1200 gramos. La muestra control (C) fue fruta fresca sin ningún tratamiento.

3.2.1 Tratamiento térmico

El tratamiento térmico se realizó de dos formas:

- a) escaldado en vapor (V) a presión atmosférica durante dos minutos, llevando luego de este tiempo la fruta a temperatura ambiente en forma rápida por inmersión en agua clorinada a 20°C.
- b) escaldado en agua en ebullición (A) durante dos minutos, enfriando rápidamente en agua clorinada a 20°C.

Para ambos tratamientos, la temperatura inicial de la fruta se encontraba aproximadamente entre 27 y 29°C.

3.2.2 Deshidratación e impregnación con azúcares

La operación de impregnación con azúcares se llevó a cabo con el agregado directo de los humectantes a la fruta para obtener valores finales de a_w de equilibrio (a_{weq}) de 0,93, 0,95 y 0,97. Los humectantes utilizados fueron sacarosa (S), glucosa (G) y jarabe de glucosa (44° Bé) (J).

La cantidad de humectante agregado para obtener los valores de a_{weq} deseados fue calculada utilizando la ecuación de Ross (1975):

$$a_{weq} = (a_w^{\circ})_{\text{frutilla}} \cdot (a_w^{\circ})_{\text{humectante}} \quad (1)$$

donde $(a_w^{\circ})_{\text{frutilla}}$ es la a_w de la fruta fresca y $(a_w^{\circ})_{\text{humectante}}$ es la a_w de la solución formada por el humectante en el agua de la fruta. Los valores de $(a_w^{\circ})_{\text{humectante}}$ fueron obtenidos mediante la ecuación de Norrish :

$$(a_w^{\circ})_{\text{humectante}} = X_1 \exp (-K X_2^2) \quad (2)$$

donde X_1 y X_2 son las fracciones molares de agua y de humectante respectivamente y K es una constante que varía según el soluto de que se trate (2,25 para glucosa; 6,47 para sacarosa) (Chirife y col, 1980).

El jarabe de glucosa utilizado tiene las siguientes especificaciones:

*Producto: Jarabe de glucosa

Tipo: 44°Bé (83,16 °Brix)

*Especificaciones de calidad:

	Mínimo - Máximo	
densidad (37,8°C)	43,8	44,2 (°Bé)
DE (equivalente de dextrosa)	41,0	43,0 (%)
Anhidrido sulfuroso	--	20 (ppm)
Color	--	0,7
Color calentado		2,4
Residuos no solubles	trazas	

*Composición de azúcares (%):

Dextrosa	22,0
Maltosa	18,0
Maltotriosa	15,0
Maltotetrosa+az.superiores	45,0

Para determinar la concentración necesaria a agregar, se prepararon soluciones de jarabe de glucosa de 44° Bé de concentración conocida y se determinó su actividad de agua (**Figura 1**). Por extrapolación, se obtuvieron las concentraciones necesarias para lograr cada actividad de agua deseada (para $a_w = 0,93$, la concentración es 67 %p/p; para $a_w = 0,95$, $\cong 60\%$ p/p y para $a_w = 0,97$, $\cong 43\%$ p/p).

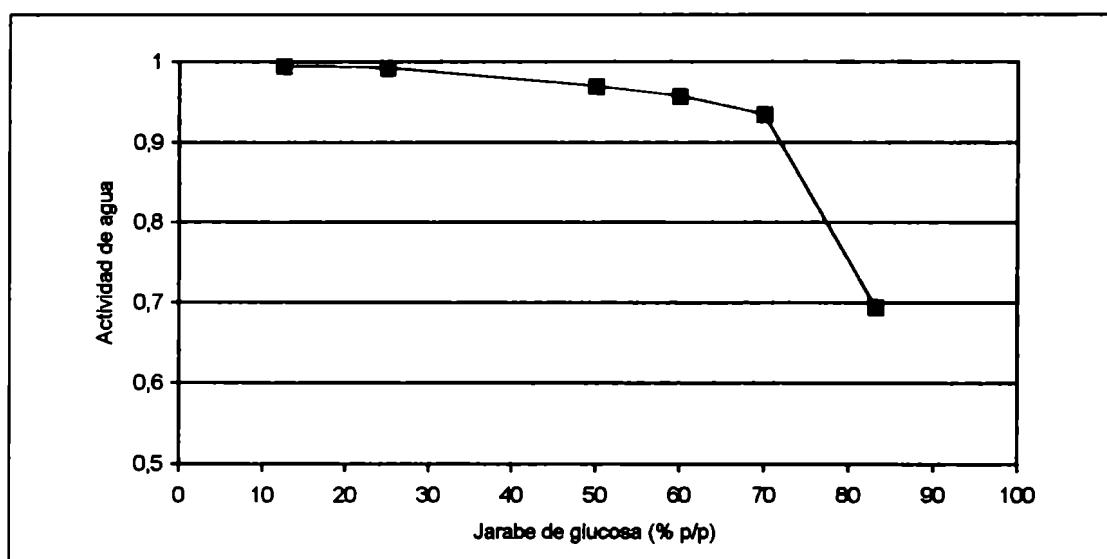


Figura 1: Variación de la actividad de agua con la concentración para jarabe de glucosa de 44° Bé.

3.2.3 Adición de aditivos

El agregado de los aditivos se realizó previo a la adición del humectante con el propósito de inhibir y/o retardar el desarrollo microbiano, frenar las reacciones físico-químicas de deterioro y mejorar la calidad textural. Se incorporaron en forma de solución, rociando la misma sobre la fruta y mezclando luego cuidadosamente al sistema, a fines de lograr una buena homogeneización.

Se agregó:

sorbato de potasio (SK) : 2000 ppm
bisulfito de sodio (NaHSO_3) : 200 ppm
ácido ascórbico (AA) : 250 ppm

Los iones **calcio** fueron aportados por el agregado de lactato de calcio. Se usaron distintas concentraciones a los efectos de poder evaluar su influencia en las características texturales de la fruta y determinar el nivel que no otorgara características de sabor indeseables:

0,5 % p/p (C_5)
0,1 % p/p (C_1)

3.2.4 Ajuste de pH

Después de alcanzar la a_{weq} de equilibrio (a los 6-7 días a temperatura ambiente a partir de la preparación de la mezcla fruta-humectante-aditivos), el pH de las frutillas se ajustó a 3,0 con ácido cítrico. En este punto la fruta se almacenó a temperatura de refrigeración (8 - 10°C) durante el período de medición de la textura.

En la **Tabla 1** se pueden observar las distintas muestras obtenidas con los tratamientos aplicados.

Tabla 1 : Descripción de las muestras.

MUESTRA	DESCRIPCION
F	fruta fresca, control
V	escaldada en vapor saturado durante 2 minutos y enfriada en agua a 20°C.
A	escaldada en agua hirviendo durante 2 minutos y enfriada en agua a 20°C.
G3	impregnada con glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,93$
G5	impregnada con glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,95$
G7	impregnada con glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,97$
G3C ₁	igual tratamiento que G3 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
G5C ₁	igual tratamiento que G5 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
G7C ₁	igual tratamiento que G7 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VG3	escaldada en vapor e impregnada con glucosa a temperatura ambiente ($\approx 20^{\circ}\text{C}$) hasta alcanzar $a_{weq} = 0,93$.
VG5	escaldada en vapor e impregnada con glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,95$
VG7	escaldada en vapor e impregnada con glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,97$
VG3C ₁	igual tratamiento que VG3 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VG5C ₁	igual tratamiento que VG5 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VG7C ₁	igual tratamiento que VG7 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
AG3	escaldada en agua e impregnada con glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,93$
AG5	escaldada en agua e impregnada con glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,95$
AG3C ₁	igual tratamiento que AG3 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
AG5C ₁	igual tratamiento que AG5 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
S3	impregnada con sacarosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,93$
S5	impregnada con sacarosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,95$
S7	impregnada con sacarosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,97$
S3C ₁	igual tratamiento que S3 pero con la adición de

S5C ₁	0,1% p/p de lactato de calcio igual tratamiento que S5 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
S7C ₁	igual tratamiento que S7 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VS3	escaldada en vapor e impregnada con sacarosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,93$
VS5	escaldada en vapor e impregnada con sacarosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,95$
VS7	escaldada en vapor e impregnada con sacarosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,97$
VS3C ₁	igual tratamiento que VS3 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VS5C ₁	igual tratamiento que VS5 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VS7C ₁	igual tratamiento que VS7 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
J5	impregnada con jarabe de glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,95$
J7	impregnada con jarabe de glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq} = 0,97$
J5C ₁	igual tratamiento que J5 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
J7C ₁	igual tratamiento que J7 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VJ5	escaldada en vapor e impregnada con jarabe de glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,95$
VJ7	escaldada en vapor e impregnada con jarabe de glucosa a temperatura ambiente hasta alcanzar $a_{weq}=0,97$
VJ5C ₁	igual tratamiento que VJ5 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio
VJ7C ₁	igual tratamiento que VJ7 pero con la adición de 0,1% p/p de lactato de calcio

3.3 Determinación de actividad de agua

La medición de la actividad de agua de la fruta fresca y la tratada y de las soluciones de azúcares se realizó a temperatura constante de $25,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ utilizando un medidor Aqua Lab CX-2 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA., USA), basado en la detección del punto de rocío.

Previo a la medición, las muestras fueron colocadas a 25°C por un lapso de una hora con el fin de equilibrar su temperatura.

Para calibrar el equipo, se utilizaron soluciones salinas saturadas de a_w conocida. Los valores de las soluciones tomadas como referencia son los indicados a continuación (Resnik y col, 1984):

Solución salina saturada	a_w (25°C)
NaCl	0,752
KCl	0,843
BaCl ₂	0,902
KNO ₃	0,925
K ₂ SO ₄	0,972

3.4 Determinación de humedad

La **humedad (H)** de las muestras fue determinada gravimétricamente por secado en una estufa de vacío en presencia de perclorato de magnesio a 70°C hasta lograr constancia de peso (48 ó 72 horas).

Las determinaciones se realizaron por duplicado y se informan los valores promedio.

3.5 Determinación de pH

El **pH** de las muestras homogeneizadas fue determinado con un electrodo conectado a un equipo Metrohm modelo E 632 (Metrohm Herisam, Switzerland). El error en la determinación fue de 0,02 unidades de pH.

3.6 Determinación de azúcares

3.6.1 Preparación de las muestras y determinaciones realizadas

Se cuantificó el contenido de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en las siguientes muestras: F, VG5, G5, VS5 y S5.

Las muestras se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito en el ítem 3.2., utilizándose muestras diferentes para cada tiempo de ensayo con un peso inicial de fruta aproximado entre 55 y 75 gramos. Fueron analizadas a las 0, 3, 7, 25, 96 y 168 ó 171 horas de iniciado el ensayo de impregnación.

Las determinaciones se efectuaron por duplicado y se informan los contenidos en % p/p, referidos a la masa inicial de fruta. El error se informa como intervalo de confianza (IC).

3.6.2 Técnica de extracción

Se utilizó la técnica desarrollada por Nieto y col.(1994).

Se diluyeron 5 gramos de la muestra con 5 gramos de agua destilada. Cinco gramos de esta mezcla se llevaron a 21 gramos de solución con metanol calidad HPLC (Sintorgan S.A.). Se centrifugó a 3000 rpm para decantar la pulpa presente, filtrando luego el sobrenadante a través de papel de filtro.

Una alícuota de esta solución se diluyó convenientemente en fase móvil, filtrándose a través de una membrana de 0,45 μ m de poro, para inyectar en el cromatógrafo dentro de la concentración adecuada a la curva de calibración.

Para realizar la calibración, las soluciones de azúcares de concentración conocida expresada como % p/p fueron preparadas utilizando fase móvil y reactivos de calidad analítica: acetonitrilo (Sintorgan S.A.), agua deionizada, glucosa (Mallinckrodt Chemical Words, St.Louis, MO), sacarosa y fructosa (Merck Química, Argentina).

Los porcentajes de recuperación estuvieron entre 91 y 93% y las extracciones se realizaron por duplicado.

3.6.3 Características del equipo de cromatografía líquida de alta presión

El trabajo se realizó en un cromatógrafo de las siguientes características:

- Bomba: Micromeritics M.750 (Atlanta, Georgia, USA)
- Inyector: Rheodyne M.7125
- Detector: Índice de Refracción Micromeritics M.770
- Integrador: Spectra Physics M.4290

3.6.4 Condiciones de trabajo

Las condiciones de trabajo se detallan a continuación:

- Columna: amino-10 μ m 250*4,6mm Altech
- Detector: índice de refracción
- Fase móvil: acetonitrilo:agua 75:25 %v/v
- Flujo: 1,5 ml/min
- Temperatura: 33 °C
- Volumen de inyección: 20 μ l
- Atenuación: 256

3.7 Determinación de calcio

En las muestras F, V, G3, G5, G7, G3C₁, G5C₁, G7C₁, VG3, VG5, VG7, VG3C₁, VG5C₁ y VG7C₁ se realizó la determinación de iones calcio por Espectroscopía de Absorción Atómica y el método utilizado fue el de curva de calibrado (Normas EPA, 1986). Las determinaciones se realizaron por triplicado y el error de las mismas fue del 3%.

Para analizar la cantidad de calcio, previamente se realizó la adecuación de la muestra dado que el análisis debe efectuarse sobre la muestra previamente mineralizada. El proceso de digestión se efectuó en un digestor de microondas cerrado (MS 2000 CEM Corporation, USA).

Se utilizó una masa de muestra de aproximadamente 1 gramo y 10 ml de ácido nítrico para análisis (Merck Química, Argentina).

Se realizó en cuatro estadios y el porcentaje de potencia del equipo se fijó en un 80% para todas las etapas. Las presiones de corte y el tiempo en que la muestra estuvo sometida a la misma se detallan a continuación.

estadio	1	2	3	4
% de potencia	80	80	80	80
presión de corte(psi)	40	85	135	175
tiempo(min)	5	5	5	5

La solución resultante se transfirió a un matraz aforado de 100 ml y se llevó a volumen. Las soluciones a medir se acondicionaron con nitrato de lantano para evitar la acción de agentes concomitantes, dado que los iones calcio pueden sufrir interferencias de aniones de silicatos, sulfatos, etc.

Se utilizó un equipo de absorción atómica Variant AA5 (Australia).

Las condiciones instrumentales fueron:

Longitud de onda:	422,7 nm
Intensidad de la lampara:	3 ma
Ancho de ranura:	100 μ m
Ambito dinámico lineal:	0,2-4,0 ppm
Precisión aproximada:	3%

3.8 Técnicas microscópicas

3.8.1. Materia prima

La **Figura 2** muestra una foto en la que se representa la sección longitudinal del conocarpo de la frutilla y la indicación de las zonas utilizadas para el análisis de la estructura y ultraestructura del material.

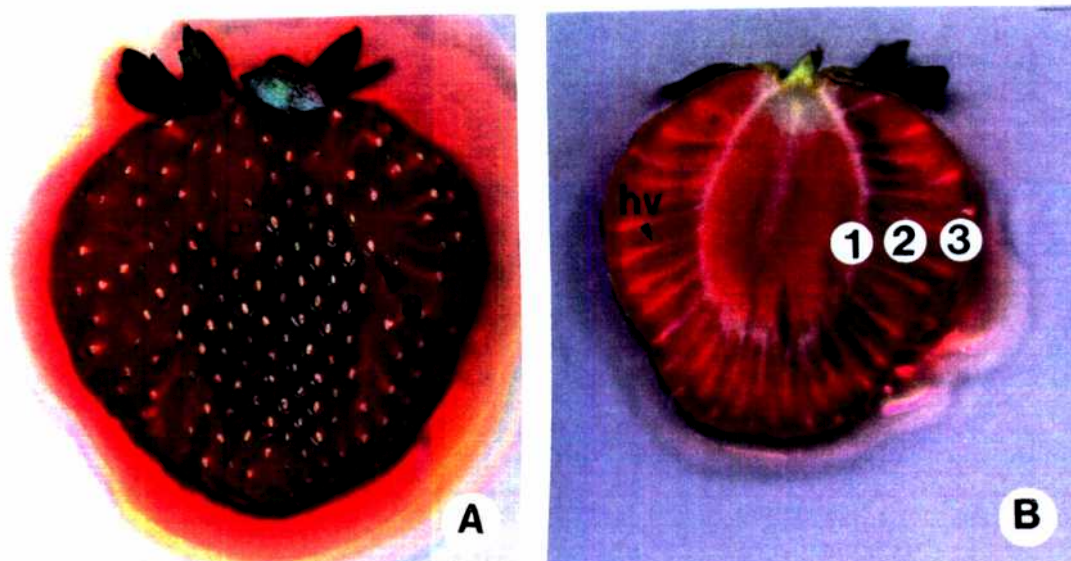


Figura 2: A) conocarpo de la frutilla, a=aquenio B) corte longitudinal del conocarpo de la frutilla.; hv=haces vasculares; 1=zona interna; 2=zona media; 3=zona externa.

Las muestras de frutilla control y procesadas fueron preparadas para la observación en Microscopio Óptico (MO), Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) y Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de acuerdo con las técnicas que se describen en las secciones siguientes (Aguilera y Stanley, 1990; Sorrivas y Morales, 1983). Para analizar el efecto del tratamiento térmico, las frutillas escaldadas fueron fijadas inmediatamente de realizado el tratamiento; para el análisis del efecto de la impregnación de glucosa y la adición de calcio, las muestras fueron fijadas durante la primera y segunda semana de almacenamiento.

3.8.2 Microscopía Óptica

Se cortaron secciones de las muestras de 1 cm de lado y se prefijaron en glutaraldehído al 3% p/p. A partir de esta muestra se cortaron secciones de 2 mm³ y se fijaron en glutaraldehído al 3% p/p en un buffer (pH 7,4) 0,1M de fosfato de potasio durante dos horas a temperatura ambiente. Luego de un corto lavado con

la solución buffer, las muestras fueron postfijadas en una solución buffer 1,5% p/p de OsO_4 durante dos horas a temperatura ambiente. Luego fueron deshidratadas con una serie de soluciones sucesivas de concentración ascendente de acetona y embebidas en resina de baja viscosidad Spurr (Lozano y Morales, 1983).

Se cortaron luego secciones ultrafinas (1-2 μm de espesor) del tejido embebido en la resina Spurr, las que fueron coloreadas con una solución acuosa de azul de toluidina 1% p/p y examinadas en un microscopio Carl Zeiss modelo Axioplan (Alemania).

3.8.3 Microscopía Electrónica de Transmisión

A partir de las muestras embebidas en resina Spurr, se cortaron secciones ultrafinas con una cuchilla de vidrio utilizando un micrótomo Sorval MT2B Ultracut (USA) y se montaron sobre grillas. Fueron luego coloreadas con uranilo 5% p/p por 45 minutos y después con citrato de sodio y nitrato de plomo (solución de Reinholds) y examinadas con un microscopio Siemens modelo Elmiskop 1 TEM (Alemania) a 80 kV.

3.8.4 Microscopía Electrónica de Barrido

La muestra de un tamaño de 5 mm^3 , después de estar sumergida en una serie de soluciones de concentración ascendente de acetona en agua hasta llegar a la de acetona pura para su deshidratación (cambio del agua de la muestra por acetona), fue secada por el método de punto crítico. Se utilizó CO_2 líquido como fluido de secado (temperatura crítica = 31,0 °C; presión crítica = 1072 psi) en un equipo de secado por punto crítico Balzar CPD 40. Luego las muestras se metalizaron con oro y paladio y se examinaron en un microscopio Philips modelo 515 EDAX 9100 (Alemania) operado a 18 kV. Se obtuvo además el mapa de calcio por dispersión de rayos X.

3.8.5 Localización de polisacáridos

3.8.5.1 Técnica de coloración de PAS

Por medio del ácido periódico (IO_4H) las funciones alcohol de las unidades glucídicas presentes en los tejidos

vegetales pasan a funciones aldehído (Pasto y Johnson, 1977). La presencia de éstas se evidencia por el Reactivo de Schiff (Figura 3).

En microscopía óptica las regiones de las células ricas en polisacáridos se observan coloreadas en color púrpura.

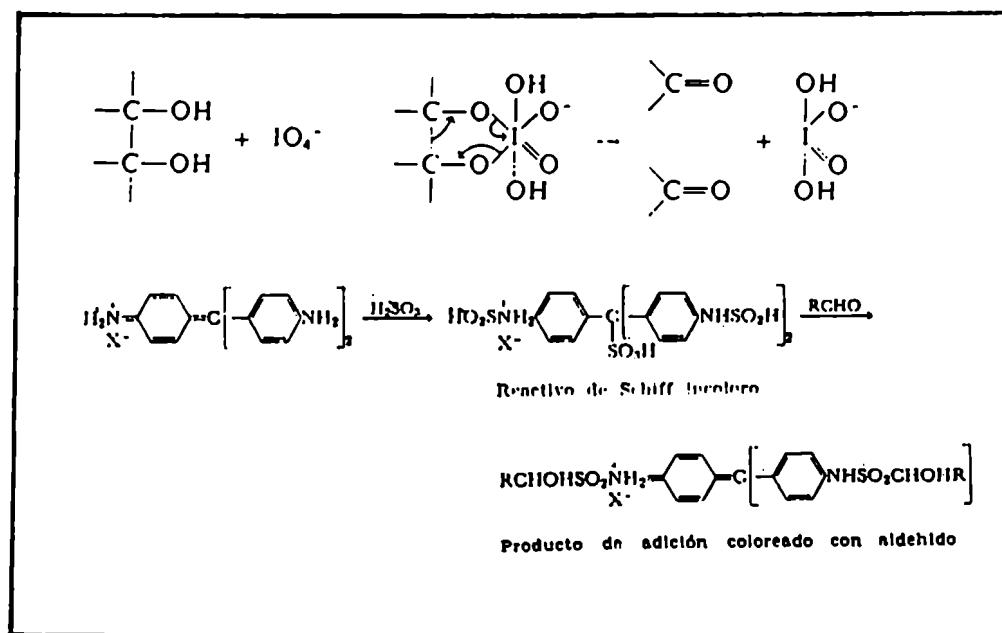


Figura 3: Reacción de los polisacáridos con el Reactivo de Schiff (Noller, 1986).

Las soluciones que se utilizaron para llevar a cabo la coloración de PAS en los tejidos de frutillas fueron las siguientes:

- Ácido periódico: se agregan 0,2 g de ácido periódico a 35 ml de alcohol absoluto. Se agregan luego 2 ml de acetato de sodio 0,2M y 12 ml de agua destilada.
- Reactivo de Feulgen de Coleman (Reactivo de Schiff): se disuelven 0,5 g de fucsina básica en 200 ml de agua hirviendo. Se filtra, se enfría y se agregan 1,5 g de metabisulfito de potasio y 10 ml de HCl 1N. Se deja blanquear durante 24 hs y se agregan 0,5 g de carbón activado. Finalmente se filtra.

En la técnica de preparación de las muestras se utilizaron cortes de resina Spurr de 0,5 - 1 μm y se montaron sobre los

portaobjetos. Se incubaron luego en ácido periódico en un coplin a 60°C durante 10-20 minutos (el ácido periódico debe ser precalentado a 60°C). Se enjuagaron luego de este tiempo en agua corriente durante 2-3 minutos y se incubaron con el Reactivo de Feulgen a 60°C durante 10 minutos. Se volvió a lavar en agua corriente 2-3 minutos.

El examen se realizó en microscopio óptico. Si la intensidad era insuficiente se recoloreaba la muestra (DiBella y col, 1966).

3.8.5.2 Otras coloraciones

Existen diversos colorantes que tienen la particularidad de colorear distintas partes de un tejido vegetal. Los cortes se soportaron en parafina, se colorearon y se observaron en microscopio óptico.

Los colorantes empleados y su función fueron:

- Fast Green: tiñe las paredes primarias.
- Azul de cresil: es una coloración metacromática porque un solo reactivo colorea de distinto color las distintas partes: paredes, color borravino; citoplasma, celeste verdoso; paredes secundarias lignificadas, azul verdoso.

3.9 Medición instrumental de textura

La medición instrumental de textura se realizó a 25 °C en un equipo Instron Testing Machine Model 1011 (Instron Corporation, Canton, MA, USA), utilizando el ensayo de retroextrusión. Las muestras a temperatura de refrigeración se almacenaron a 25°C durante 5 horas para equilibrarlas a la temperatura del ensayo.

Las condiciones experimentales fueron:

Velocidad del cabezal: 200 mm/min
Transductor : 50 kg
Rango de carga: 20 kg
Velocidad del registrador: 200 mm/min

Para la medición, la muestra se colocaba en una celda de 3,8 cm de diámetro interno por 7,3 cm de altura, con un espacio angular de 0,15 cm. Se fijó en 0,5 cm la distancia entre la base de la celda de extrusión y el tope de bajada del dispositivo de compresión (**Figura 4**). El tamaño del espacio angular fue

determinado por ensayos previos, teniendo en cuenta que a espacios angulares grandes la frutilla no extruía sino que pasaba entera entre el recipiente y el émbolo y a valores muy pequeños se producía un compactamiento de la fruta en el fondo del recipiente.

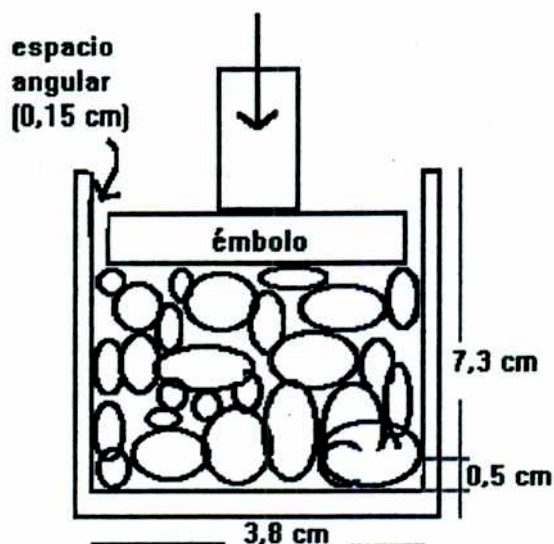


Figura 4: Esquema del dispositivo utilizado para la realización del ensayo de extrusión.

El ensayo de retroextrusión fue realizado por triplicado cuando se determinaron los cambios texturales durante el almacenamiento y en ocho muestras cuando se determinó el efecto del procesamiento "per se".

Se reportó, como índice de firmeza, el valor promedio del pico de fuerza máxima de extrusión (F_{max}), expresado en kg. El error de la medición se expresó a través de la desviación estandar. En la **Figura 5** se muestra el comportamiento típico observado en las frutillas durante el ensayo de extrusión.

El peso de muestra utilizado se fijó en el rango de 27 a 40 gramos por ensayo. Dentro de estos valores el peso de la muestra no afectaba en forma apreciable los resultados del ensayo, como

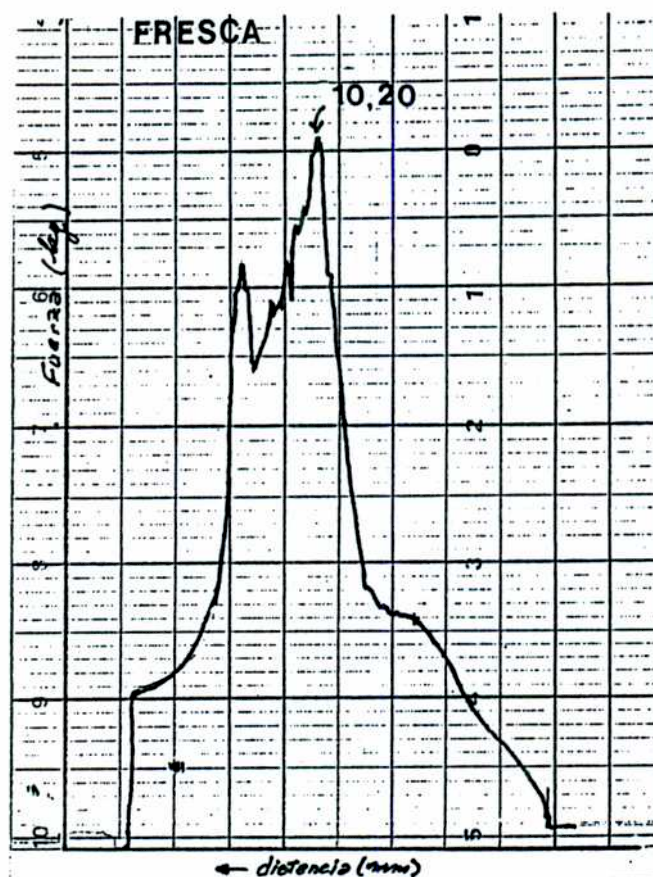


Figura 5: Ejemplo de las curvas fuerza-desplazamiento obtenidas por aplicación del ensayo de extrusión en frutillas. Escala 7:10.

puede observarse en los datos medidos de fuerza máxima de extrusión de frutilla fresca que se indican a continuación:

Muestra	Peso (g)	$F_{\text{máx}}$ (kg)	$F_{\text{máx}}$ promedio (kg)	desviación estándar (kg)
Frutilla fresca (var. Siskey)	30,6	6,40	7,22	0,47
	27,1	7,70		
	31,0	7,80		
	29,4	6,78		
	30,7	7,30		
	27,7	7,60		
	28,9	6,8		
	35,9	7,40		

Puede notarse que existen variaciones que responden a la variabilidad biológica del tejido vegetal y que son inherentes al material que se utiliza; por lo tanto, no pueden ser controladas externamente.

De acuerdo a lo expuesto, los grupos de experiencias fueron realizados cada uno con un mismo lote de frutas para minimizar la variabilidad biológica debida a tamaño, volumen, edad y estructura celular.

3.10 Determinación de pectinas

El análisis de las sustancias pécticas en tejidos de plantas incluye su fraccionamiento dentro de tres clases, por progresivas extracciones del material insoluble en alcohol por una serie de solventes: agua, solución de oxalato de amonio y solución de álcali fría.

El contenido de urónidos de la extracción puede ser a su vez determinado por diferentes métodos. Dentro de los métodos colorimétricos para la cuantificación de fracciones pécticas se incluyen distintos reactivos como, por ejemplo, naftoresorcinol, m-fenilfenol, ácido tioglicólico, cisteína, etc. Otros métodos que se utilizan para la cuantificación involucran la formación de pectatos de calcio, la utilización de cromatografía de intercambio aniónico y la estimación por espectrometría ultravioleta de productos de degradación resultantes del calentamiento con ácido sulfúrico.

En este trabajo se utilizó la técnica colorimétrica desarrollada por Robertson (1979). Dicha técnica tiene un primer paso que consiste en la obtención de los sólidos insolubles en alcohol (SIA) por medio de extracciones sucesivas con alcohol etílico 95% v/v y 63% v/v. Los SIA obtenidos se someten a extracciones sucesivas para obtener las distintas fracciones pécticas.

- ♦ con agua destilada, para obtener un sobrenadante de ácidos pectínicos con alto contenido de metoxilo, solubles en agua.
- ♦ con solución de oxalato de amonio para obtener la fracción soluble en oxalato. Son ácidos pécticos y pectatos de bajo metoxilo.
- ♦ la tercer fracción, que es protopectina, es solubilizada por solución de álcali fría.

La pectina total se calculó como la suma de las tres fracciones y por lo tanto este valor no toma en cuenta las pectinas que no pueden ser extraídas por esta técnica.

En la **Figura 6** puede observarse el detalle del método de obtención de SIA y de las distintas fracciones de sustancias pécticas.

En la **Figura 7** se muestra el detalle de la técnica colorimétrica utilizada para la cuantificación de las fracciones pécticas que fueron extraídas de las distintas muestras. También se analizó una solución estándar de ácido galacturónico que contenía de 0 a 80 µg/ml. Un tercer tubo estudiado fue adicionado de 100 µl de una solución de hidróxido de sodio al 0,5 %p/v. Este tubo actuaba como un blanco para corregir la coloración rosada que pudiera producirse por la interferencia de los azúcares neutros. Es conocido que el uso de la reacción de carbazona para determinaciones cuantitativas de ácidos urónicos tiene la desventaja de que los azúcares neutros interfieren con su especificidad y no hay diferenciación entre ácidos urónicos, hexosas o dextrinas (Kintner y col, 1982). Según Blumenkrantz y col (1973), el método de extracción utilizando m-hidroxifenilo para formar el cromógeno es específico para ácidos urónidos no siendo afectado por azúcares neutros. De cualquier manera a los efectos de minimizar el error por la interferencia de los azúcares neutros se realizaron blancos para cada muestra analizada.

El equipo utilizado para la determinación colorimétrica fue un espectrofotómetro Spekol UV/VIS, Carl Zeiss (Alemania).

Los **reactivos** utilizados, de grado analítico, y sus soluciones se detallan a continuación:

- ◊ Alcohol etílico (Sintorgan S.A.): soluciones 95% v/v y 63% v/v
- ◊ Hidróxido de sodio (Merck Química, Argentina): soluciones 1N y 0,5%p/v.
- ◊ Metahidroxifenilo (Aldrich, USA): solución 0,15% p/v de m-hidroxifenilo en hidróxido de sodio al 0,5% p/v. Se almacena protegida de la luz y a 2°C.
- ◊ Solución ácido sulfúrico (Merck Química, Argentina)/tetraborato de sodio (Merck Química, Argentina): solución 0,0125 M de tetraborato de sodio en ácido sulfúrico concentrado.
- ◊ Acido galacturónico (AG) (Aldrich, USA): soluciones estándar de 0-80 µg/ml de AG.
- ◊ Oxalato de amonio (Mallinckrodt Chemical Words, St.Louis, MO,USA)): solución 0,75% p/v.

Figura 6: Esquema de la técnica de la extracción de las fracciones de pectina presentes en las muestras de frutilla fresca y procesadas.

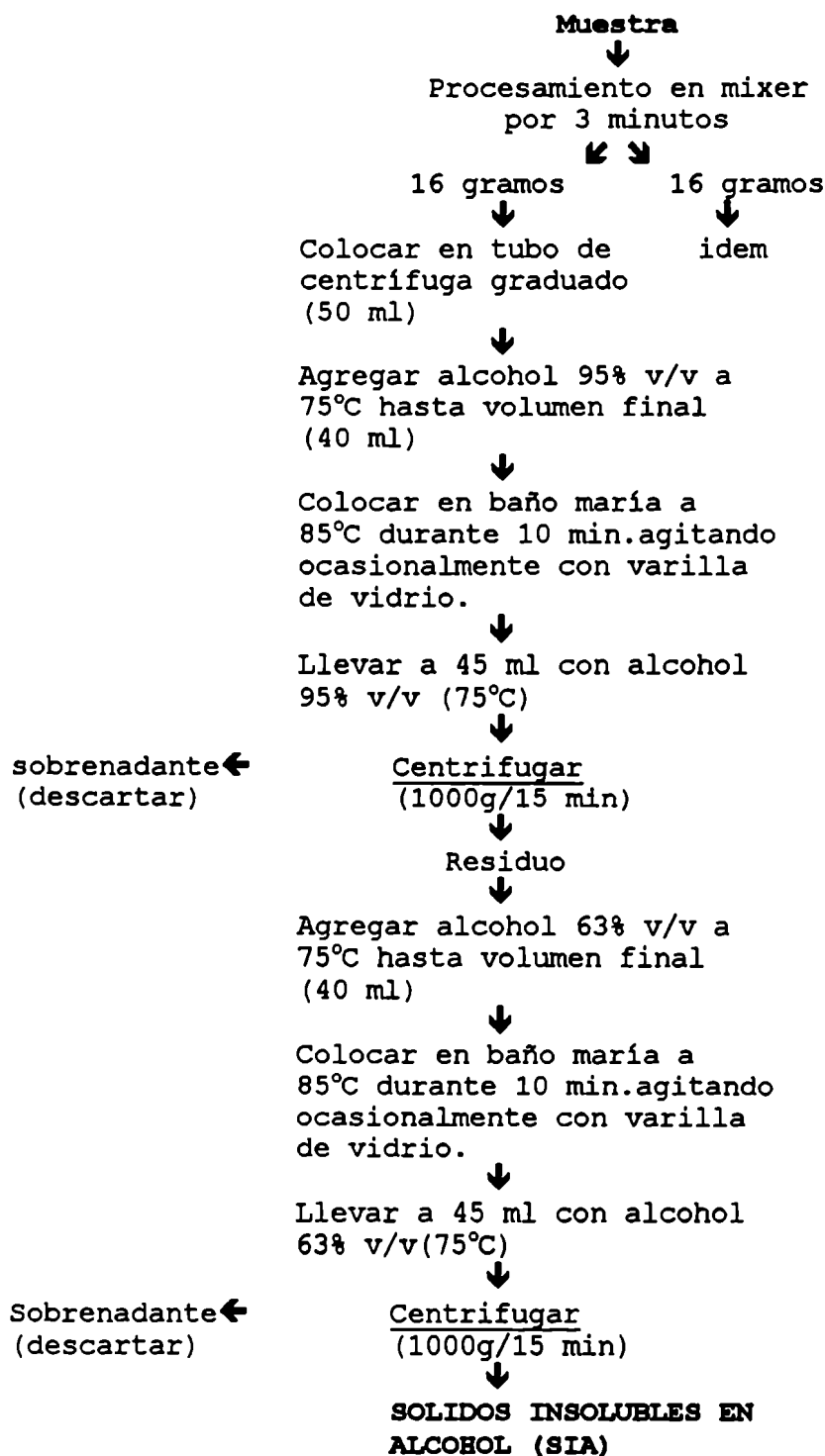


Figura 6 (continuación)

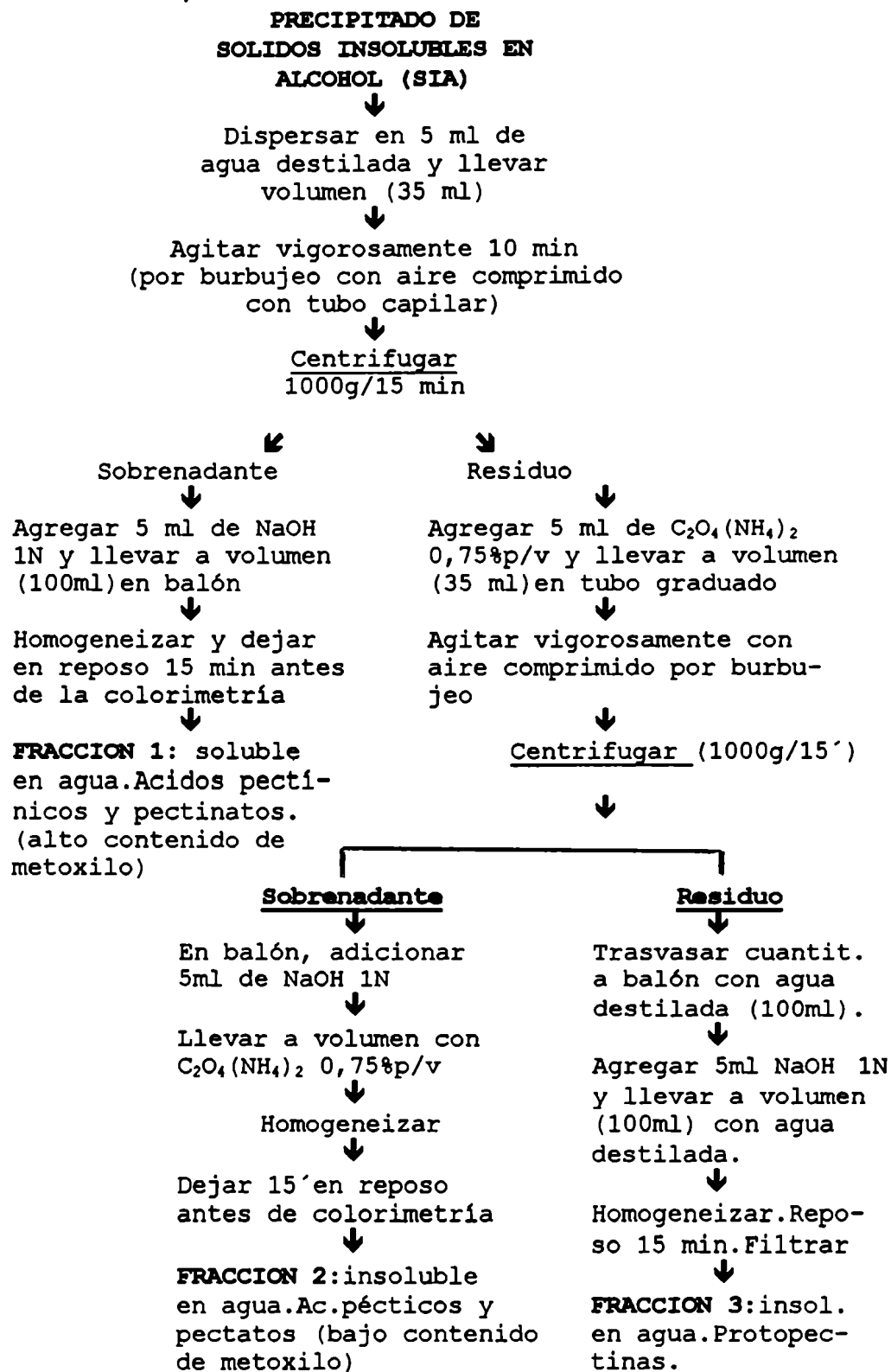
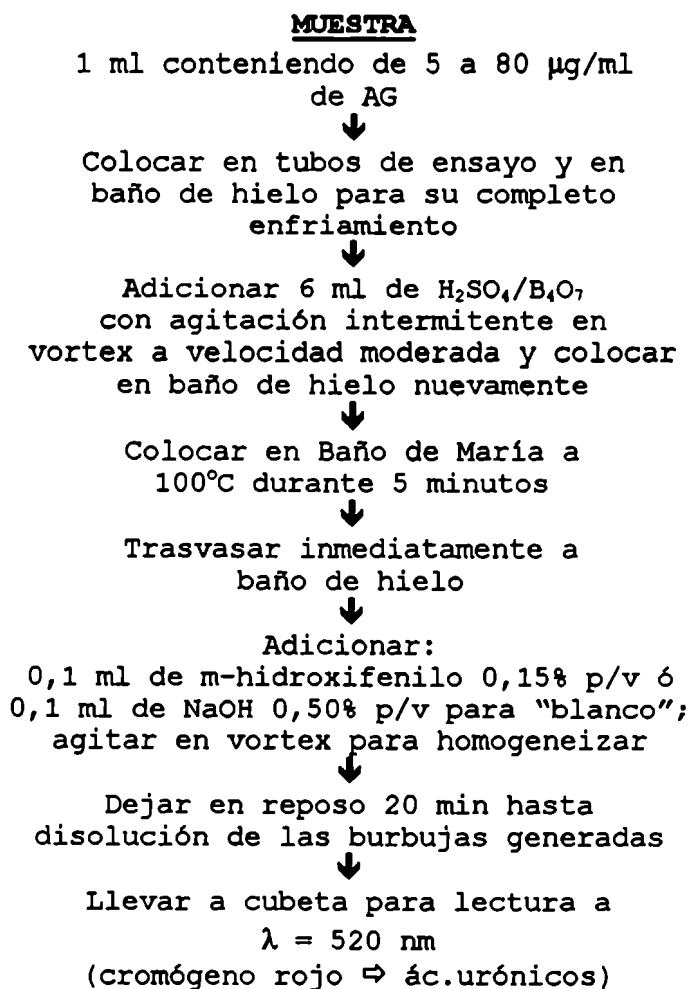


Figura 7: Técnica colorimétrica para la cuantificación de las extracciones de pectina.

Curva de calibración: Se realiza con una solución de ácido anhidrogálico (AG) conteniendo 1 mg/ml, a partir de la cual se preparan soluciones estándar con concentraciones de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75 y 80 µg/ml.

Muestras: Se utiliza 1 ml de las distintas fracciones obtenidas de acuerdo a lo descrito en la figura 6. El blanco de muestra se obtiene agregando NaOH 0,5%p/v en lugar de m-hidroxifenilo 0,15%p/v.

Blanco de reactivos: Para llevar a 100% de transmitancia, 1 ml de agua destilada (que reemplaza a la muestra) es tratada exactamente igual que las muestras.



Las determinaciones se realizaron por duplicado sobre las muestras F, V, G93, G95, G97, G93C₁, G95C₁, G97C₁, VG93, VG95, VG97, VG93C₁, VG95C₁, VG97C₁ que habían sido utilizadas en ensayo de extrusión..

Los errores asociados con la determinación de SIA y pectinas se expresaron en base a la desviación estándar de los datos obtenidos. Los resultados se informan como contenido de ácido galacturónico (%p/p) referidos a la masa inicial de la fruta fresca.

La determinación de los sólidos insolubles en alcohol se realizó por la misma técnica de extracción utilizada para la determinación de pectinas (**Figura 7**). En este caso, una vez que se obtuvieron los SIA húmedos, se procedió a su secado en estufa durante siete días. La temperatura utilizada fue de 33°C, dado que a mayores temperaturas se queman y carbonizan.

Las determinaciones se realizaron por duplicado y los errores de la técnica analítica se expresaron en base a la desviación estándar. El error debido a la variabilidad biológica de la frutilla (determinado analizando distintas muestras con el mismo tratamiento), es del 10%. Los cantidades se informan como contenido de sólidos insolubles en alcohol (% p/p) referidos a la masa inicial de la fruta fresca.

3.11 Cálculo de la pérdida de agua, la pérdida de peso, la ganancia de sólidos y la reducción de peso.

Para los distintos sistemas, las frutillas fueron pesadas y luego se sometieron a los procesos de deshidratación-impregnación. A los tiempos correspondientes, las frutillas fueron separadas del medio líquido formado, enjuagadas y escurridas. Se registraron entonces los pesos de cada muestra, determinándose luego su masa seca.

La pérdida de agua % (PA), la pérdida de peso % (PPe) y la ganancia de sólidos % (GS) se expresaron en g/100g de fruta fresca y la reducción de peso % (RP) fue expresada como g/100g de sólidos iniciales.

Los cálculos fueron realizados aplicando las siguientes ecuaciones:

$$PPe = \left(\frac{P_o - P_f}{P_o} \right) \times 100$$

$$PA = \frac{(a_o)-(P_f-s_f)}{(s_o+a_o)} \times 100$$

$$RP = \left(\frac{P_o-P_f}{P_o} \right) / S_o \times 100$$

$$GS = \frac{(s_f-s_o)}{(s_o+a_o)} \times 100$$

donde:

a_o : peso de agua de la muestra a $t=0$

s_o : peso de los sólidos de la muestra a $t=0$

s_f : peso de los sólidos de la muestra a $t=t$

P_o : peso de la muestra a $t=0$

P_f : peso de la muestra a $t=t$

3.12 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos de textura fue realizado utilizando un Análisis de Varianza de Factor Simple y de Multifactor y un Test de Tukey para las muestras que se analizaron a los 6 días de procesamiento (Daniel, 1993).

Para el análisis de las muestras almacenadas 102 días, se empleó un Diseño de Bloques Completamente Aleatorizado para 12 tratamientos y 6 replicaciones. Las diferencias se analizaron por el Test de Tukey (Cappelletti, 1993).

Los datos de pérdida de peso de las muestras G5C₁, VG5C₁, S5C₁ y VS5C₁ durante la impregnación fueron analizados por el método de Comparación de a Pares (Daniel, 1993).

Se analizó la correlación entre los datos de F_{max} , pectina total (PT), contenido de calcio (Ca), fracción de pectina soluble en álcali (SO), fracción de pectina soluble en agua (SA) y fracción de pectina insoluble (PP) y se determinó su grado de significación para una probabilidad de 0,05 por medio de un Test de Hipótesis calculando el estadístico t , (Daniel, 1993).

Todas las pruebas estadísticas utilizadas se describen en el Capítulo 7, Anexo 2.

Se utilizó el programa STATGRAPHICS (Statistical Graphics Corporation, USA), versión 5.1.

4 - RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Enfoque experimental

Aunque existen muchos factores que influyen sobre la textura de los tejidos vegetales (presión de turgor, tipo de tejido, tipo y tamaño de células, integridad estructural de la pared celular, tipo de solutos presentes, etc.) se acepta que dos elementos estructurales son los de mayor importancia como determinantes de las características texturales: la integridad de la pared celular y la presión de turgor de las células. En esta investigación se hizo hincapié en los cambios producidos por los tratamientos en la estructura de la pared celular y en la integridad del plasmalema y del tonoplasto.

El estudio se encaró siguiendo las siguientes etapas:

⇒en primer lugar (ítem 4.2):

se analizó el efecto del tratamiento térmico (escaldado en vapor o en agua en ebullición), la impregnación con glucosa, el nivel de actividad de agua y la adición de calcio en las características texturales de frutilla determinadas en forma instrumental. El análisis textural se efectuó después de los procesamientos y a lo largo del almacenamiento.

Sobre estas muestras se realizó el estudio estructural a efectos de establecer la relación de los cambios en las características texturales con las variaciones a nivel estructural y ultraestructural del tejido vegetal. Para esto último se utilizaron técnicas de MO, MET y MEB.

Estos ensayos se realizaron con frutilla variedad Pájaro.

⇒en segundo lugar (ítem 4.3):

se analizó en forma instrumental el efecto sobre las características texturales de la utilización de distintos humectantes en la impregnación (glucosa, sacarosa y jarabe de glucosa), distintos niveles de actividad de agua (0,93; 0,95 y 0,97), adición de calcio y tratamiento térmico (escaldado en vapor).

A los efectos de analizar la influencia de la cantidad de pectinas, sólidos insolubles en alcohol y contenido de calcio se realizaron las determinaciones químicas de estos componentes sobre las muestras impregnadas con glucosa.

Se determinaron además, dentro de los seis primeros días del tratamiento de impregnación con glucosa o con sacarosa, la

pérdida de peso, la variación de humedad y el contenido de glucosa, fructosa y sacarosa de las muestras. Este estudio se realizó con frutilla variedad Siskey, proveniente de la zona de San Rafael (Mendoza).

4.2 Efecto del escaldado, de la impregnación con glucosa y de la adición de calcio en las características texturales.

4.2.1 Análisis instrumental de la textura

En primer lugar se analizó el efecto de los distintos tratamiento "per se" en las características texturales de las frutillas. En las muestras sometidas a escaldado, la medición de textura se realizó inmediatamente después de finalizado el enfriamiento. En las muestras sometidas al tratamiento de deshidratación-impregnación por agregado de glucosa, la medición se efectuó una vez que se alcanzó la a_w de equilibrio (a_{weq}).

En la **Figura 1** pueden observarse las modificaciones de la fuerza máxima de extrusión promedio ($F_{m\acute{a}x}$) como resultado del escaldado en vapor saturado (V) y en agua en ebullición (A) y de la impregnación con glucosa a niveles de a_{weq} : 0,93 (tratamiento G3) ó 0,95 (tratamiento G5).

En la **Figura 2** se muestran ejemplos de las curvas fuerza-desplazamiento de los ensayos de extrusión, entre otros, para la frutilla fresca, la frutilla escaldada en vapor saturado y la frutilla escaldada en agua en ebullición. Los datos experimentales y los valores promedio pueden observarse en el **Anexo 1, Tablas 1.1.A y 1.1.B**. El valor de la $F_{m\acute{a}x}$ es la suma de los efectos combinados del comportamiento elástico aparente y de la ruptura de la muestra. Este parámetro es el más frecuentemente usado como índice de calidad textural en este tipo de test. De acuerdo con estudios realizados por Voisey y col (1972), la forma de las curvas descendiendo en forma aguda indicaría que hay ruptura del material y que la resistencia al cizallamiento sería el mecanismo dominante en el ensayo.

No existió diferencia significativa ($\alpha = 0,05$) en los valores de $F_{m\acute{a}x}$ detectados para la frutilla fresca y la deshidratada-impregnada con glucosa a niveles de a_{weq} 0,95 ó a_{weq} 0,93 (contenido de humedad: 63% p/p y 56% p/p respectivamente). Se observó una pequeña disminución en el valor de $F_{m\acute{a}x}$ cuando la fruta fue escaldada con vapor saturado pero el ablandamiento fue significativo ($\alpha = 0,05$) cuando la muestra fue escaldada con agua en ebullición: el valor de $F_{m\acute{a}x}$ fue un 53% del valor de $F_{m\acute{a}x}$ de la fruta fresca ($F_{m\acute{a}x} = 11,5$ kg).

A los fines de comparar los efectos texturales de estos tratamientos con aquellos producidos por tecnologías convencionales de conservación, se determinaron los valores de $F_{m\acute{a}x}$ de frutillas enlatadas y de frutillas congeladas por un proceso IQF, adquiridas en un comercio de la zona. En la **Figura 1** se reportan las medias de cuatro determinaciones en cada caso. La esterilización dió como resultado un producto muy pobre en textura mientras que la frutilla conservada por congelación arrojó valores de $F_{m\acute{a}x}$ muy semejantes a los de la frutilla escaldada en agua en ebullición.

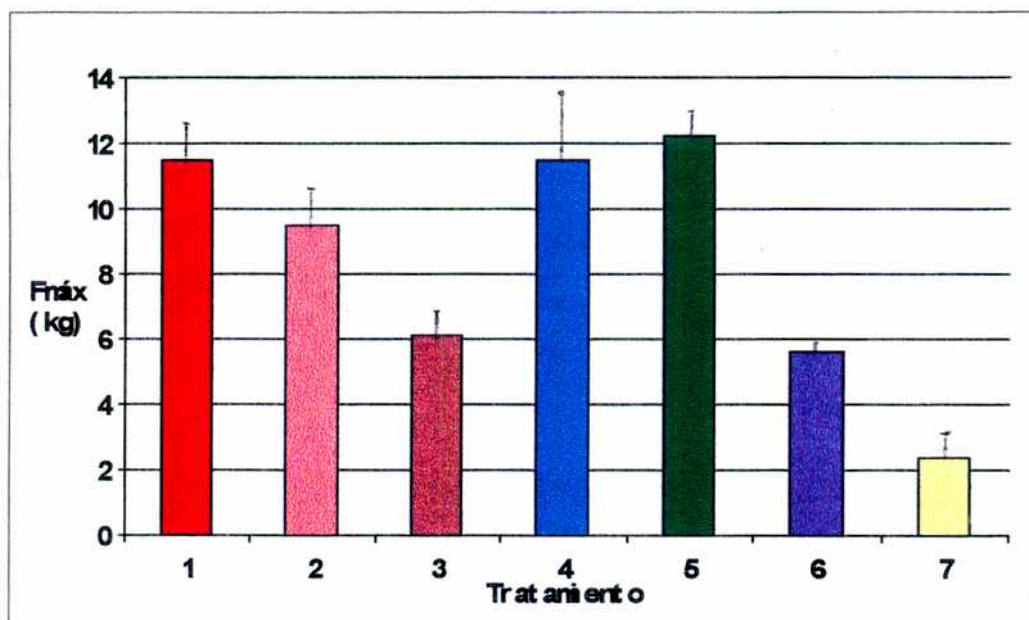


Figura 1: $F_{m\acute{a}x}$ de las frutillas con distintos tratamientos. 1:fruta fresca, 2:escaldada en vapor, 3:escaldada en agua en ebullición, 4:impregnada con glucosa hasta alcanzar $a_{weq}=0,93$, 5: impregnada con glucosa hasta alcanzar $a_{weq}=0,95$, 6:congelada y descongelada, 7:enlatada.

Las **Figuras 3A, 3B y 3C** muestran el efecto del tiempo de almacenamiento a 8-10°C en la textura de frutillas deshidratadas-impregnadas con glucosa y previamente escaldadas en vapor saturado, en agua en ebullición o sin tratamiento de escaldado respectivamente, con o sin adición de calcio. Los datos fueron registrados a partir del tiempo en que las muestras alcanzaron la a_{weq} y se detallan en el **Anexo 1, Tabla 1.1.A**. El promedio de la $F_{m\acute{a}x}$ de extrusión para fruta fresca fue de 11,5 kg para todas las experiencias. Antes del tratamiento osmótico, las frutas escaldadas en vapor saturado o en agua en ebullición mostraron una $F_{m\acute{a}x}$ promedio de 9,3 kg y 6,1 kg respectivamente,

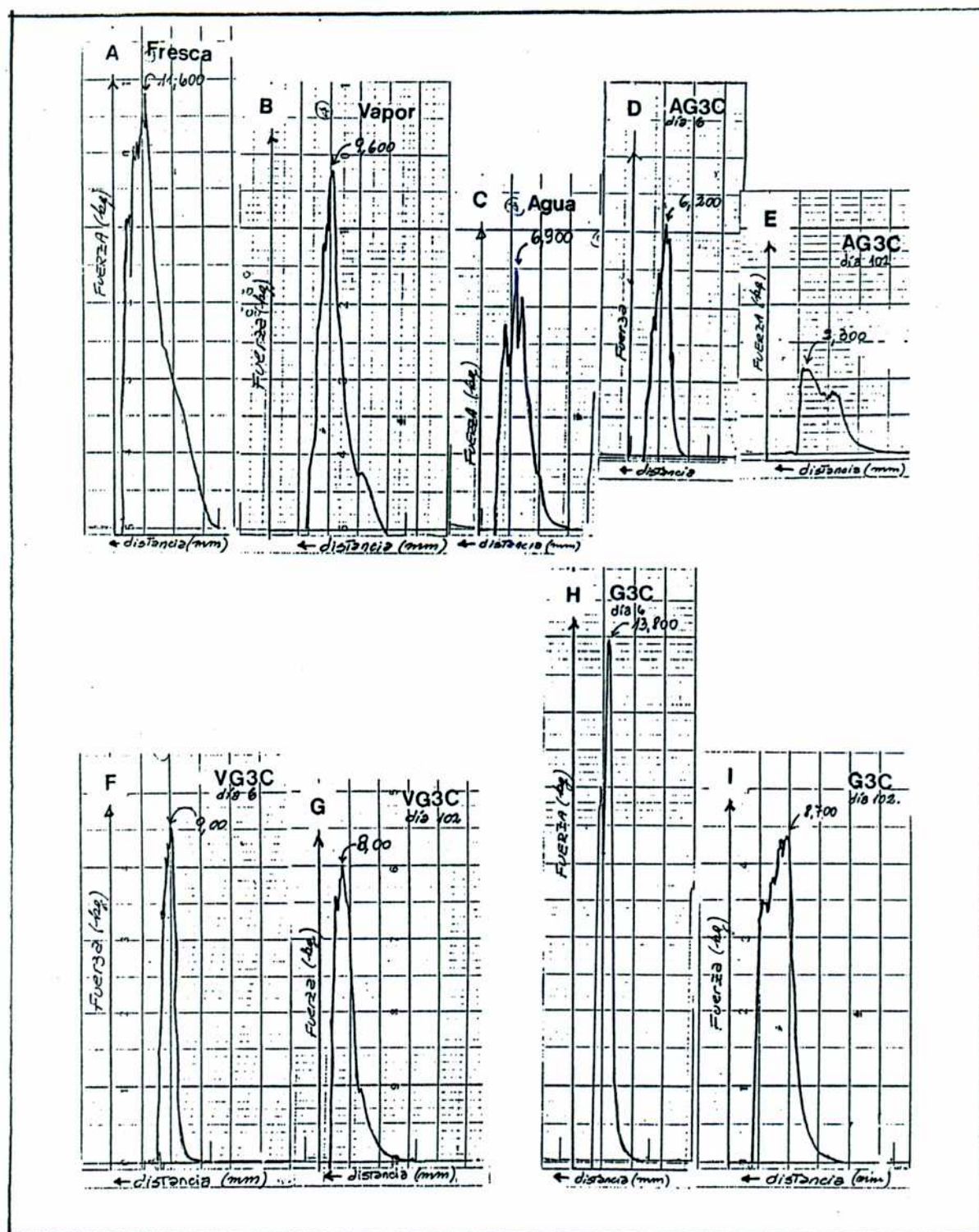
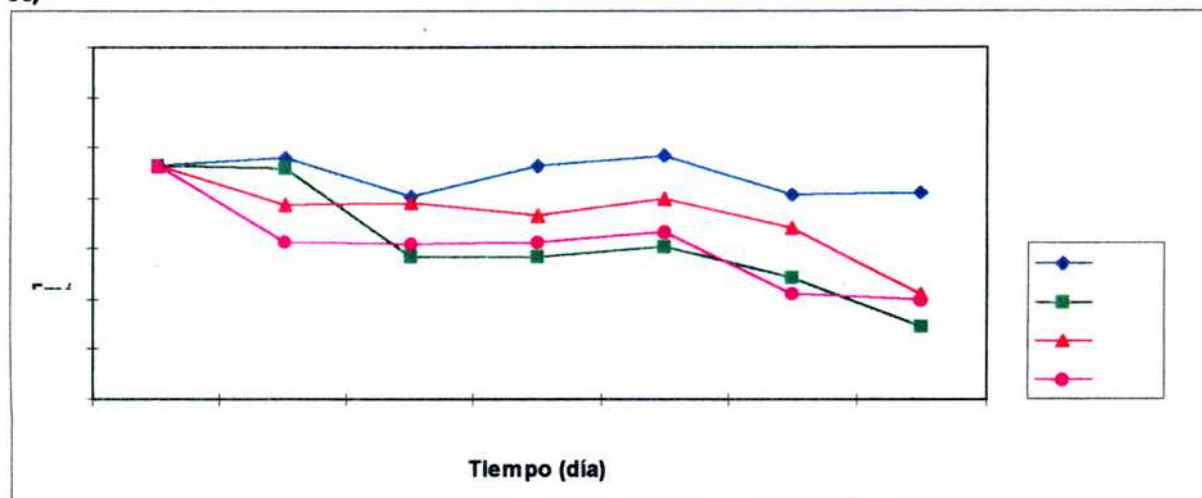


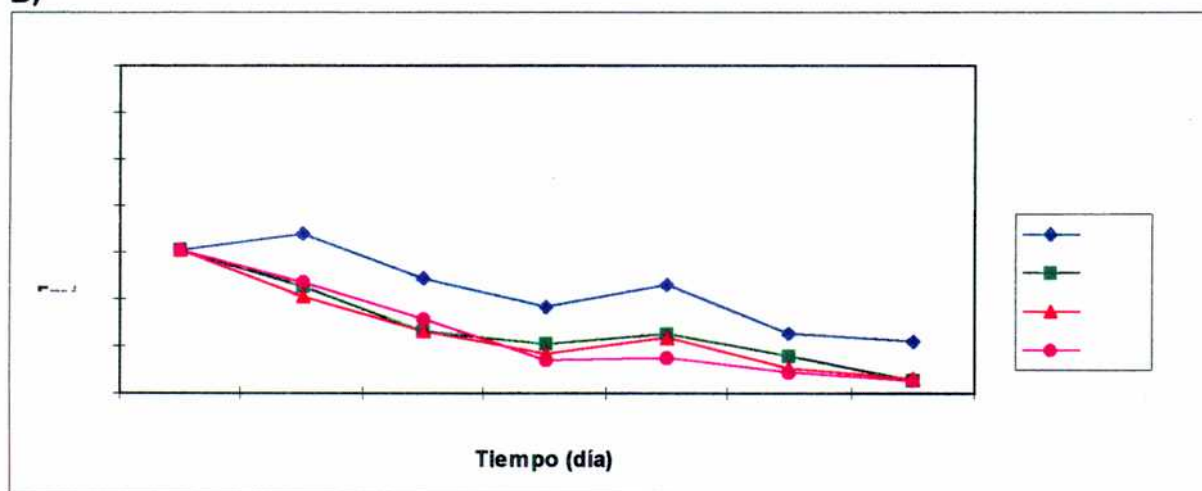
Figura 2: Curvas fuerza-desplazamiento de los ensayos de extrusión. A) frutilla fresca; B) frutilla escaldada en vapor saturado; C) frutilla escaldada en agua en ebullición; D) muestra AG3C(6 días); E) muestra AG3C(102 días); F) muestra VG3C(6 días); G) muestra VG3C(102 días); H) muestra G3C(6 días); I) muestra G3C(102 días).Escala 5:10

Figura 3: Variación de la $F_{\max}$ durante el almacenamiento para frutillas impregnadas con glucosa, con y sin la adición de calcio. **A)**escaldadas en vapor, **B)**escaldadas en agua en ebullición y **C)** sin escaldar.

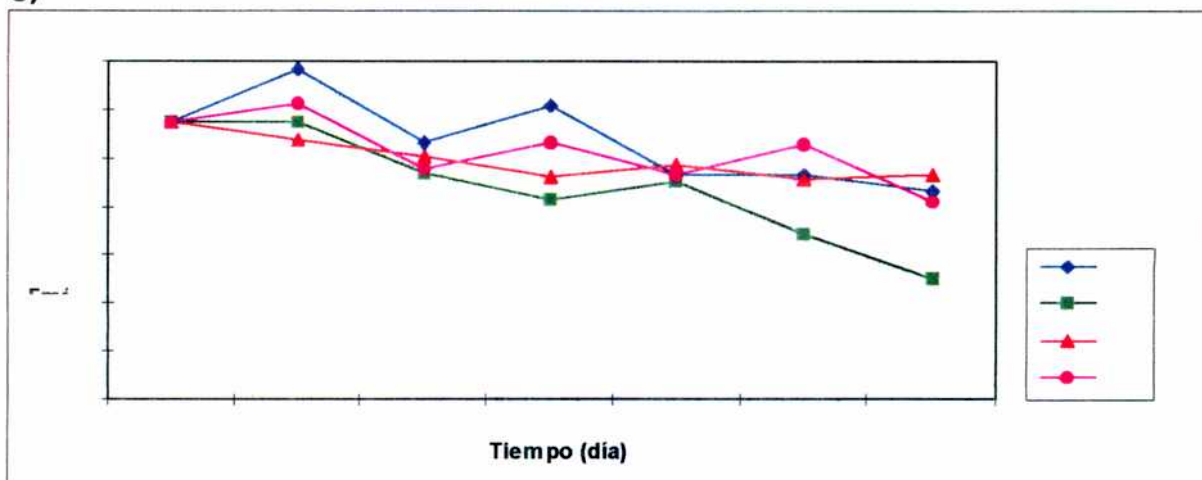
A)



B)



C)



como ya se vió en la Figura 1. En la **Figura 2** se muestran también ejemplos de las curvas de los ensayos de extrusión para frutillas con distintos tratamientos.

Las frutillas con diferentes tratamientos se ablandaron gradualmente durante el almacenamiento, con excepción de la muestra VG3C₁, en la cual el valor de $F_{\text{máx}}$ se mantuvo sin cambios a lo largo de los tres meses de almacenamiento. El ablandamiento fue más pronunciado en frutillas escaldadas en agua desde el comienzo del almacenamiento y la $F_{\text{máx}}$ alcanzó valores tan bajos que limitarían el uso comercial de la fruta. Las pérdidas de firmeza fueron menos importantes en frutillas sin tratamiento térmico previo.

A los efectos de la selección del nivel de calcio a adicionar, se realizaron dos ensayos con aplicación de 0,1% p/p y 0,5% p/p de lactato de calcio respectivamente. Se observó que las muestras adicionadas con el nivel más alto poseían un sabor particular aportado por el lactato de calcio y una resistencia al corte y a la masticación excesiva. Por lo tanto, se seleccionó para este trabajo la concentración menor.

En la **Tabla 1** se muestra el análisis de varianza para la $F_{\text{máx}}$. Se observó diferencia significativa ($\alpha < 0,05$) en la firmeza de las frutillas sometidas a diferentes tratamientos (escaldado, impregnación con glucosa, con y sin adición de iones calcio).

En la **Tabla 2** se observan los resultados de la comparación múltiple entre los tratamientos utilizando el Test de Tukey. Se puede notar que las frutillas que no fueron escaldadas sometidas a los tratamientos G3C₁, G5 y G5C₁ y las frutillas escaldadas con vapor en tratamiento VG3C₁ mostraron mayor firmeza que las frutillas sometidas a los otros tratamientos.

Tabla 1: Análisis de varianza para la fuerza máxima de extrusión de frutillas con distintos tratamientos.

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Bloque	5	98,56	19,71	
Tratamiento	11	676,33	61,48	
Error	55	41,36	0,75	81,97*

gl = grados de libertad

* = significativo al nivel 5%

CM = cuadrado medio

SC = suma de cuadrados

Tabla 2: Comparación de las diferencias entre tratamientos por aplicación del Test de Tukey.

Tratamiento	G3C ₁	G5	G5C ₁	VG3C ₁	G3	VG5C ₁	VG3	VG5	AG3C ₁	AG3	AG5C ₁	AG5
G5												
G5C ₁												
VG3C ₁	S											
G3	S	S										
VG5C ₁	S	S	S									
VG3	S	S	S	S								
VG5	S	S	S	S	S							
VG3C ₁	S	S	S	S	S	S	S					
AG3	S	S	S	S	S	S	S	S				
AG5C ₁	S	S	S	S	S	S	S	S	S			
AG5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		

S = diferencia significativa a un nivel del 5%;

V = escaldada en vapor; A = escaldada en agua; G3 = impregnación con glucosa hasta $a_{w\text{eq}}=0,93$; G5 = impregnación con glucosa hasta $a_{w\text{eq}}=0,95$; C₁: con adición de Ca⁺² (0,1% p/p).

El análisis de varianza para la $F_{\text{máx}}$ de las muestras sometidas al mismo tratamiento térmico (escaldadas en vapor o en agua en ebullición) o sin tratamiento térmico, indica que existe diferencia significativa ($\alpha < 0,05$) entre las frutillas con diferentes niveles de glucosa y con o sin la adición de iones calcio.

La **Tabla 3** muestra el resultado del análisis de varianza para la $F_{\text{máx}}$ de frutillas que fueron sometidas a un escaldado en vapor, mientras que la **Tabla 4** muestra dicho resultado para frutillas que fueron escaldadas en agua en ebullición. La **Tabla 5** muestra los resultados correspondientes a frutas que no han sido sometidas a tratamiento térmico.

Tabla 3: Análisis de varianza para la $F_{\text{máx}}$ de frutillas escaldadas con vapor durante el almacenamiento a 10°C.

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Bloque	5	27,45	5,49	
Tratamiento	3	41,39	13,80	
Error	15	16,00	1,07	12,90*

gl = grados de libertad

* = significativo al nivel 5%

CM = cuadrado medio

SC = suma de cuadrados

Tabla 4: Análisis de varianza para la $F_{\max}$ de frutillas escaldadas en agua en ebullición durante el almacenamiento a 10 °C

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Bloque	5	40,57	8,11	
Tratamiento	3	17,67	5,89	
Error	15	2,20	0,19	31,00*

gl = grados de libertad

* = significativo al nivel 5%

CM = cuadrado medio

SC = suma de cuadrados

Tabla 5: Análisis de varianza para la $F_{\max}$ de frutillas sin escaldado durante el almacenamiento a 10°C

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Bloque	5	38,69	7,74	
Tratamiento	3	20,54	6,85	
Error	15	14,29	0,95	7,21*

gl = grados de libertad

* = significativo al nivel 5%

CM = cuadrado medio

SC = suma de cuadrados

La aplicación del Test de Tukey muestra que, en las frutillas escaldadas en vapor, el tratamiento VG3C₁ fue significativamente diferente a los tratamientos VG3 y VG5 (muestras sin calcio) y el tratamiento VG5C₁ al tratamiento VG5. En las muestras escaldadas en agua, el tratamiento AG3C₁ fue diferente a los tratamientos AG3, AG5C₁ y AG5. En las frutillas sin tratamiento térmico, el tratamiento G3C₁ fue diferente del tratamiento G3, no existiendo diferencias significativas con los otros tratamientos.

Estos resultados indican que el efecto de la infiltración de calcio sobre la firmeza de las frutillas dependió del tratamiento térmico y del nivel de impregnación con glucosa. Cuando el escaldado se realizó en vapor, las frutillas adicionadas con calcio fueron significativamente más firmes que sin calcio a ambos niveles de a_{weq} (0,93 ó 0,95). Cuando el tratamiento térmico se realizó en agua en ebullición, la adición de calcio proveyó únicamente un mejoramiento de la firmeza en frutillas cuyo valor de a_{weq} fue igual a 0,93. En el caso de frutillas sin tratamiento térmico, la influencia de la adición de calcio no fue clara. Parecería que incrementó la firmeza de

la fruta para $a_{weq} = 0,93$, caso en que la deshidratación fue más severa (para $a_{weq} = 0,93$, $H = 55,3$ g $H_2O/100$ g fruta; para $a_{weq} = 0,95$; $H = 60,5$ g $H_2O/100$ g fruta).

4.2.2 Análisis estructural del tejido vegetal.

4.2.2.1 Efecto del escaldado

Las Láminas I , II y III muestran el efecto del escaldado en las características histológicas (observadas con MO), la ultraestructura de la pared celular (MET) y la morfología (MEB) de las células parenquimáticas de la frutilla, respectivamente.

En la frutilla fresca, en la zona interna, las paredes celulares se observan intactas (Lám.I:A) y con el contenido celular completamente organizado. Entre estas últimas células existen numerosas elongaciones de espacios radiales que siguen modelos divergentes. En la zona de los haces vasculares (Lám.I:B), se observa la neta organización del tejido celular y las células son más isodiamétricas. En MET, las paredes celulares están intactas y el citoplasma es parietal (Lám.II:A-B). Ambas membranas, plasmalema y tonoplasto están enteras. La laminilla media se observa con una alta densidad electrónica en la región del centro, cementando dos células adyacentes. La micrografía de MEB de la fruta fresca muestra las paredes celulares bien definidas y células túrgidas en un modelo tipo panal de abeja (Lám.III:A-B).

Cuando la frutilla fresca fue escaldada, el tonoplasto y el plasmalema se rompen (Lám.II:D-H). La ruptura de las membranas causa una disminución de la presión de turgor, resultando en una disminución de la rigidez del tejido celular.

Se puede observar en MET que el escaldado en agua en ebullición produjo grandes daños estructurales en la pared celular, con una gran disminución de la densidad electrónica de la pared (Lám.II:G-H). El tratamiento dió como resultado hinchamiento, ruptura y completa desorganización ultraestructural de la pared celular. Se perdió totalmente la organización fibrilar. Hubo degradación de la laminilla media y del material fibrilar. En MEB la pared celular aparece perforada y las células son difíciles de identificar debido a la disrupción estructural de las paredes celulares (Lám.III:E-F).

Cuando el escaldado se realizó en vapor, las alteraciones estructurales de la pared respecto de la frutilla fresca fueron mucho menores que cuando la fruta fue escaldada en agua en ebullición. Las observaciones en MEB demuestran que la pared

Lámina I: A-D, caracteres estructurales de la frutilla en corte transversal. Fotomicrografías con MO. A-B, testigo, A, zona interna, aspcto general (tejido celular con pared celular electrónicamente densa y citoplasma organizado); B, zona de los haces vasculares (organización del tejido celular y células isodiamétricas); B, frutilla escaldada en vapor saturado, aspecto general; C, frutilla escaldada en agua en ebullición, aspecto general. pc: pared celular; hv: haz vascular; rc: restos citoplasmáticos.

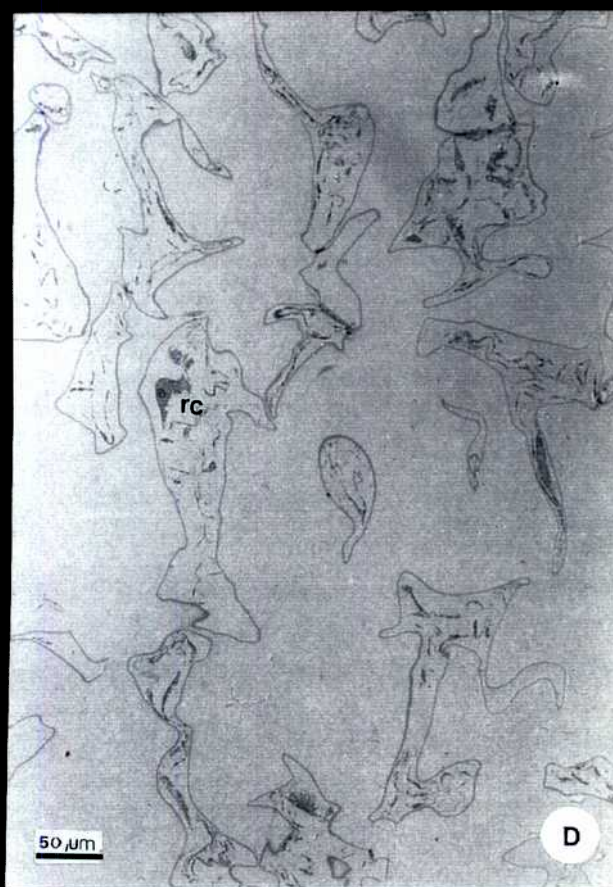
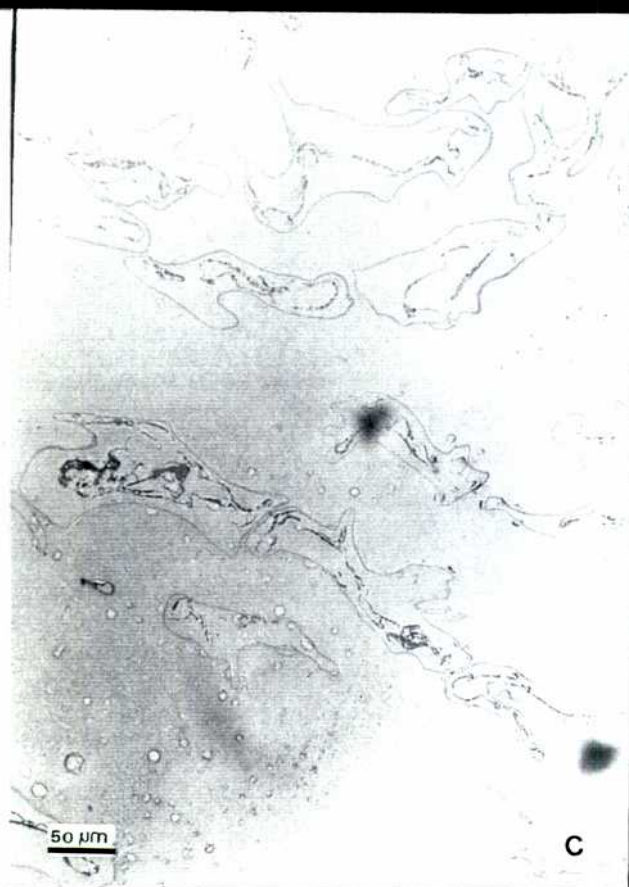
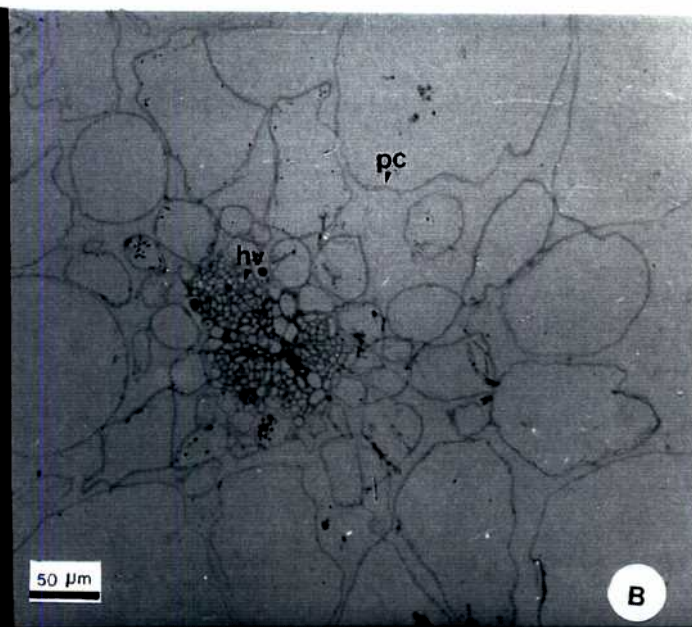
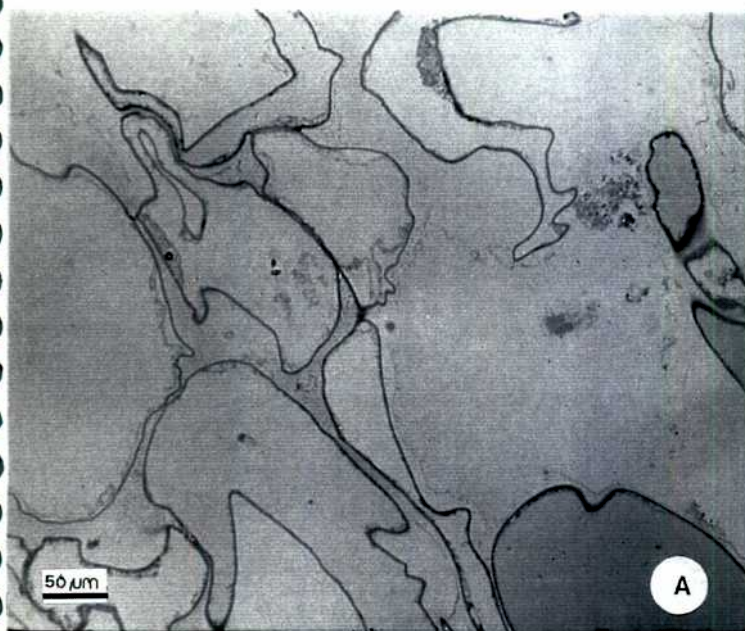


Lámina II: A-H, caracteres anatómicos ultraestructurales de la frutilla en corte transversal (zona intermedia): fotomicrografías con MET. A-C, testigo: A, pared celular electrónicamente densa, aspecto general; B, detalle; C, detalle. D-F, frutilla escaldada en vapor saturado: D, pared celular, aspecto general; E, detalle; F, detalle. G-H, frutilla escaldada en agua en ebullición: G, pared celular, aspecto general; H, detalle. pc: pared celular; lm: laminilla media; v: vacuola; rc: restos citoplasmáticos.

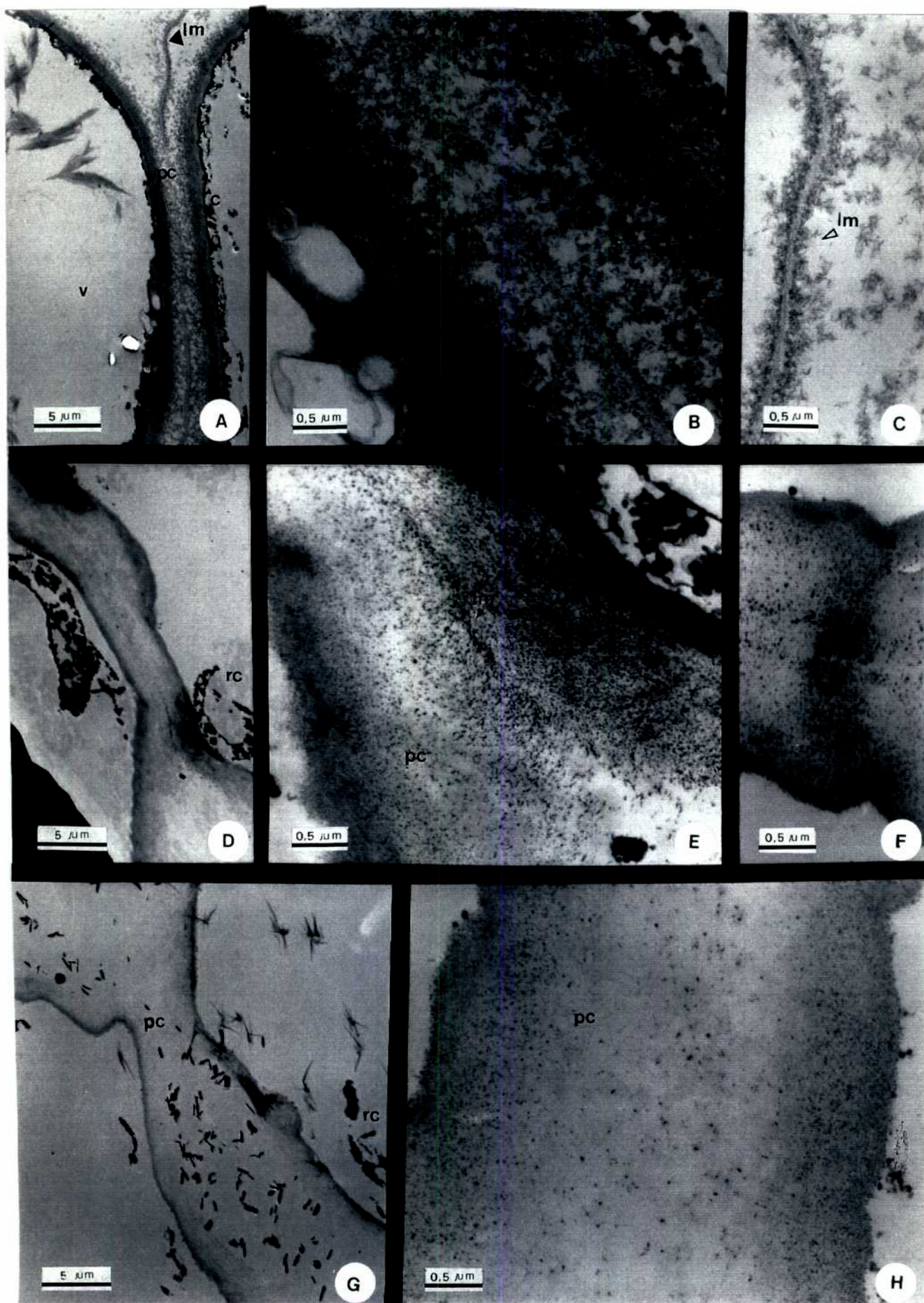
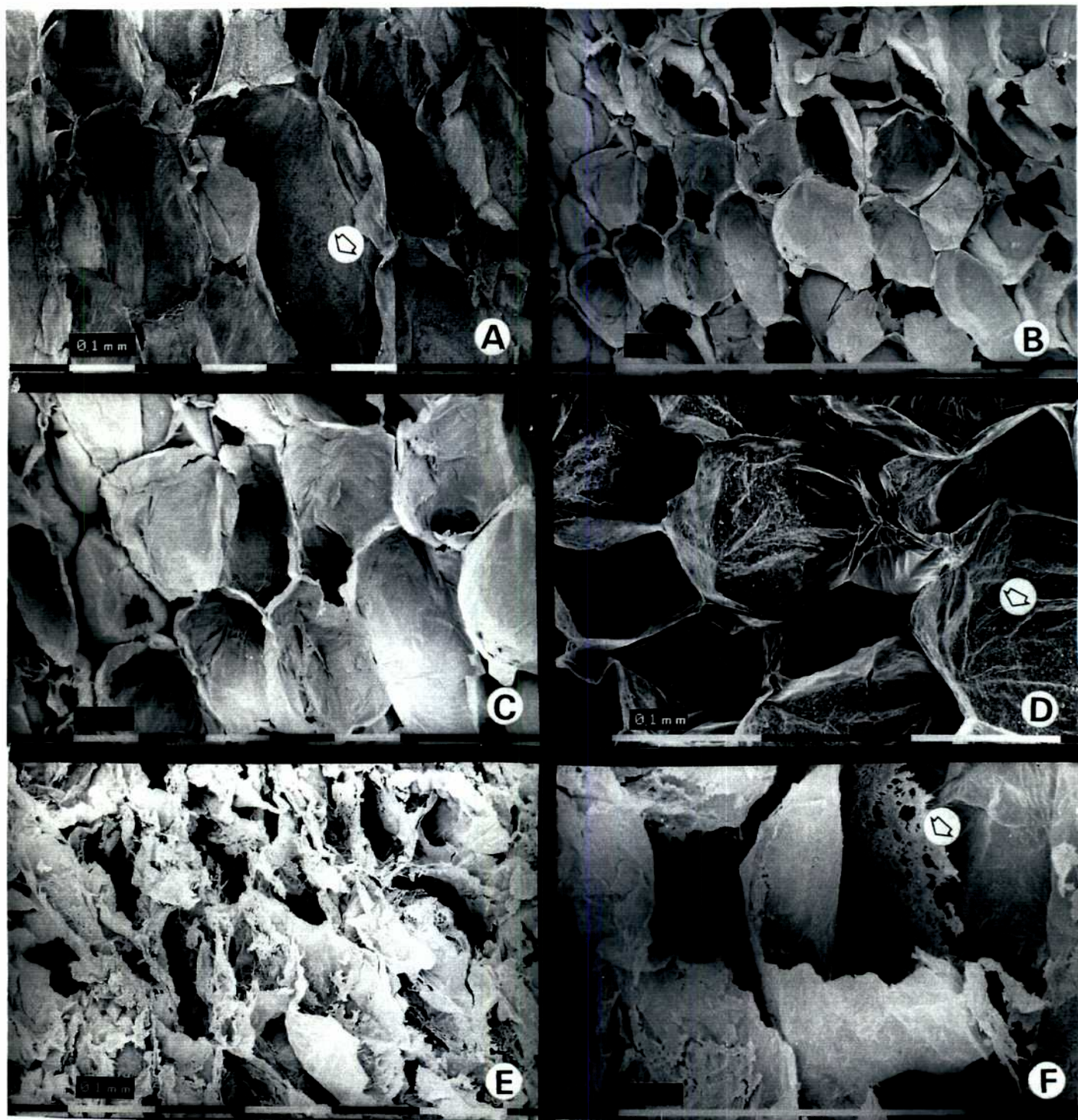


Lámina III: A-F, caracteres anatómicos morfológicos de la frutilla en corte transversal (zona intermedia), fotomicrografías con MEB. **A-B**, testigo, (tejido organizado con células isodiamétricas y espacios celulares); **C-D**, frutilla escaldada con vapor saturado (tejido celular organizado, menores espacios intercelulares); **E-F**, frutilla escaldada en agua en ebullición: **E**, tejido celular (compactado, no se observa organización celular); **F**, detalle (pared celular perforada).



celular mantiene su porosidad (Lám.III:C-D). El arreglo original de las células se conserva. El análisis de los tejidos con MET indican que las paredes celulares aparecen todavía electrónicamente densas aunque menos que en el testigo (Lám.II:D-F). La laminilla media se muestra en algunas zonas bastante conservada pero en otras zonas desaparece.

Los cambios estructurales observados en la frutilla a causa de los tratamientos térmicos aplicarían confirmarían los resultados instrumentales obtenidos para los distintos ensayos. Es así que las muestras que no fueron sometidas a escaldado muestran mayor firmeza que las que si lo fueron (vapor saturado o agua en ebullición).

Las muestras escaldadas en vapor saturado tuvieron mayor $F_{máx}$ (9,3 kg) que aquellas escaldadas en agua en ebullición (6,1 kg). Esto podría explicarse en base a que se mantiene el arreglo original de las células y las paredes celulares mantienen mayor densidad electrónica y por lo tanto mayor integridad.

Dado que el tratamiento de escaldado es uno de los obstáculos del método combinado utilizado en lo que hace a la estabilidad microbiológica, es evidente la conveniencia de seleccionar el tratamiento en vapor para el mantenimiento de la calidad textural.

Un comportamiento similar fue observado por Mirza y Jewell (1976) en el escaldado de zanahorias. El tratamiento con vapor produjo hinchamiento de la pared celular y degradación de la laminilla media, mientras que el tratamiento en agua originó un hinchamiento más severo y mayor ablandamiento.

4.2.2.2 Efecto de la adición de calcio

Se analizaron mediante MEB las muestras escaldadas en vapor e impregnadas con glucosa hasta a_{weq} 0,95 y adicionadas con calcio a dos niveles de lactato de calcio: 0,1% p/p y 0,5% p/p. Las micrografías correspondientes se exhiben en las Láminas IV y V.

La frutilla fresca (F) muestra células isodiamétricas, turgentes y bien definidas (Lám.IV:A). El tratamiento de impregnación con glucosa resultó en un tejido con zonas colapsadas irregularmente distribuidas (Lám.IV:E), con pérdida de individualidad celular. En cambio la adición de calcio durante la impregnación resultó en un tejido que si bien tuvo cierto grado de encogimiento mantuvo la estructura del tejido celular (Lám.IV:C).

Cuando se comparó el efecto de los dos niveles de calcio, el análisis histológico (fotos no incorporadas) demostró que

Lámina IV: A-F, caracteres ultraestructurales y mapeo por dispersión de rayos X de la frutilla en corte transversal. Fotomicrografías con MEB. **A-B**, testigo. **A**, tejido celular, (células turgentes); **B**, mapeo de calcio; **C-D**, frutilla con tratamiento VG5C₁; **C**, tejido celular (mantiene las características del testigo con menores espacios intercelulares), **D**, mapeo de calcio (mayor densidad de calcio por la adición en el tratamiento); **E-F**, frutilla con tratamiento VG5; **E**, tejido celular (colapsado); **F**, mapeo de calcio (mayor densidad de calcio por compactación del tejido).

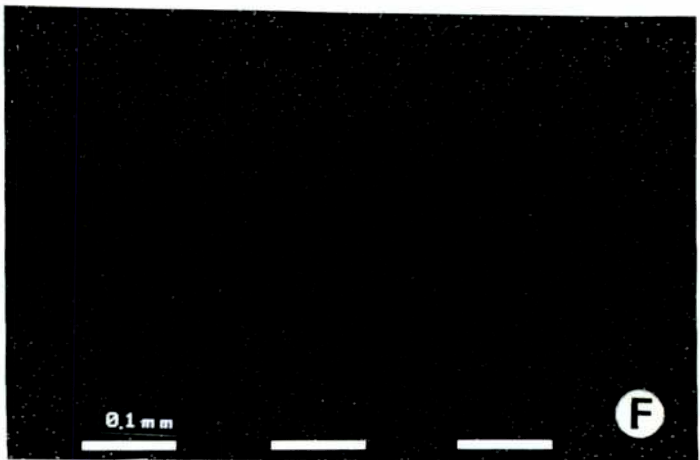
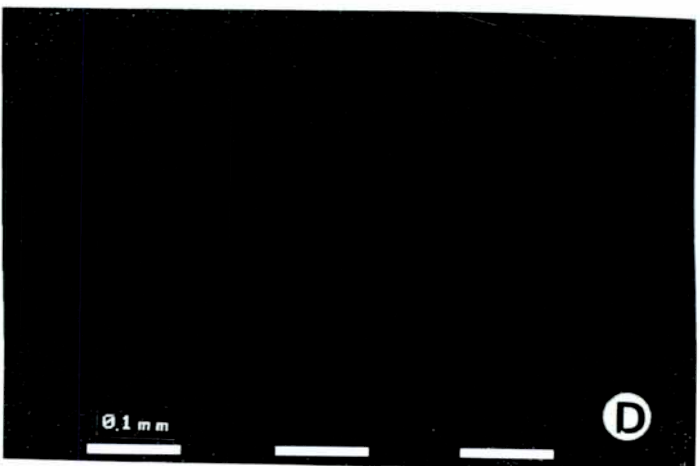
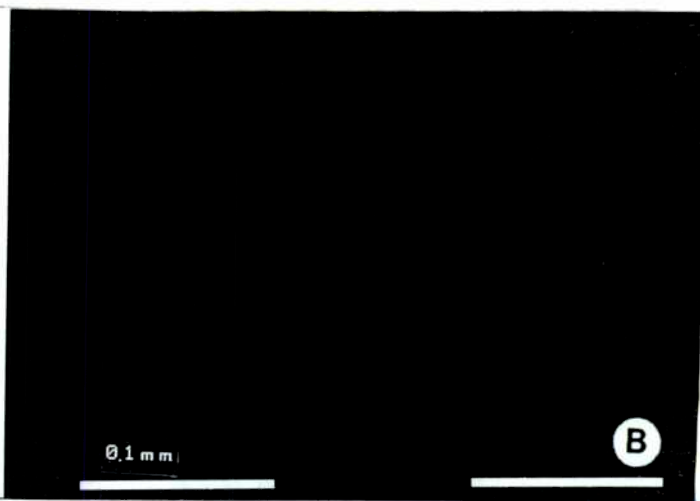
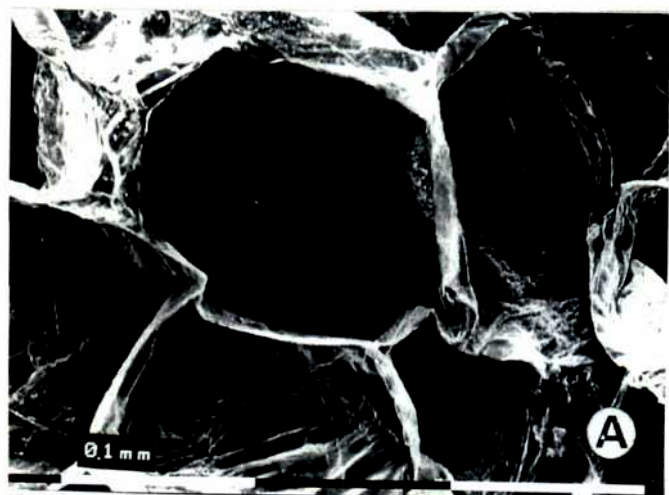
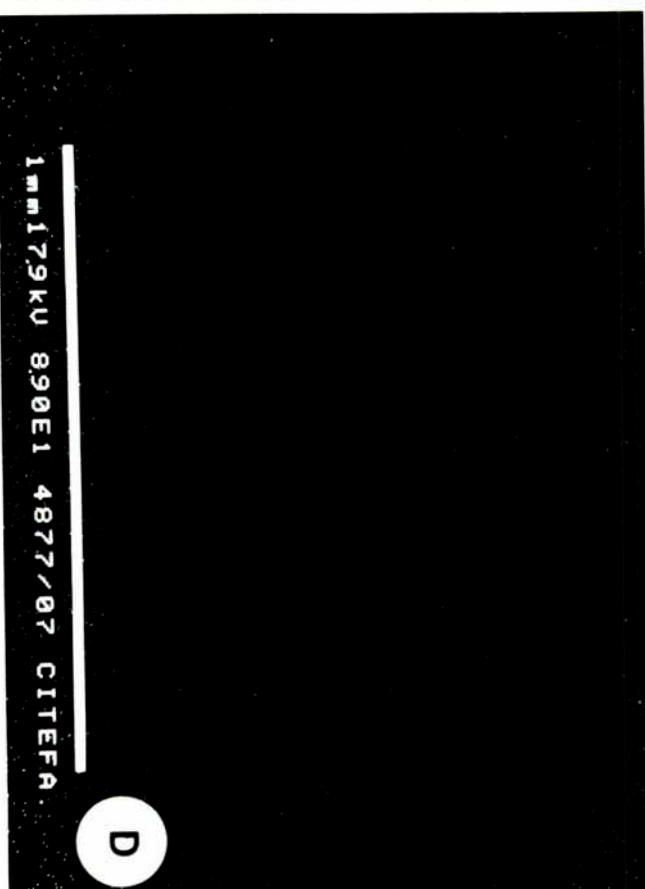
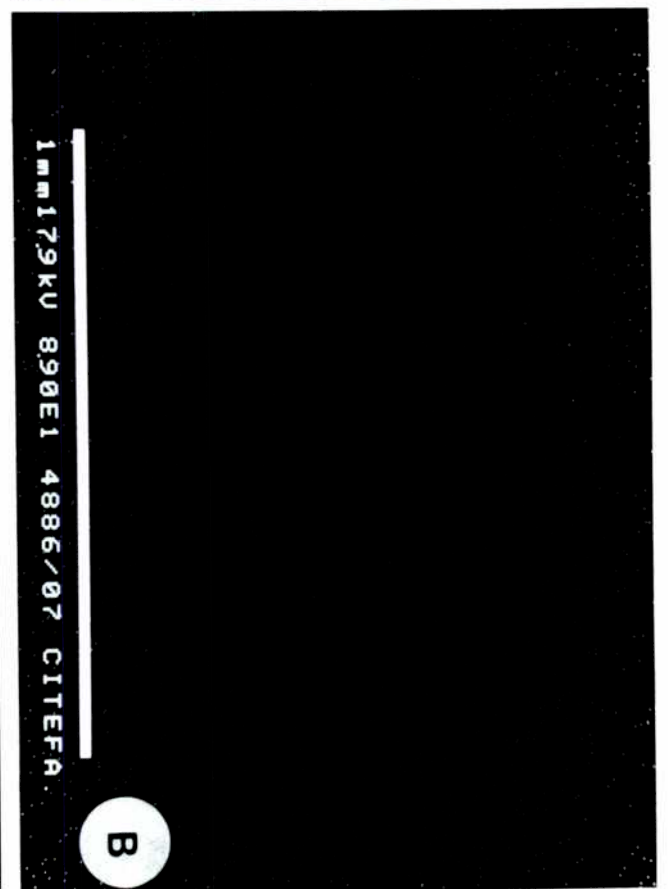
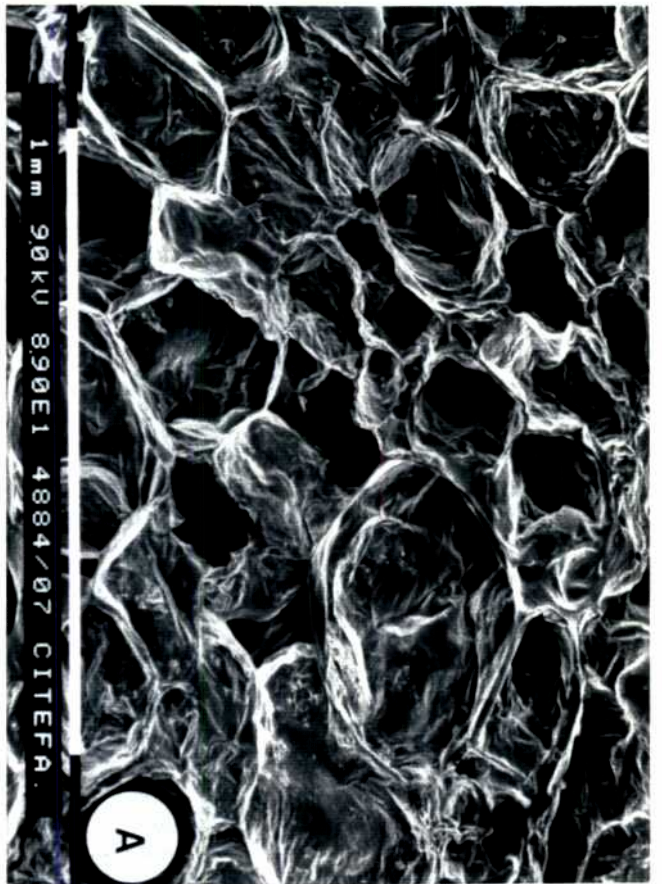


Lámina V: A-D, caracteres ultraestructurales y mapeo por dispersión de rayos X de la frutilla en corte transversal. Fotomicrografías con MEB. A-B: frutilla con tratamiento VG5C₁, A, tejido celular (con células isodiamétricas y espacios celulares semejantes al testigo); B, mapeo de calcio; C-D: frutilla con tratamiento VG5C₃, C, tejido celular (con células relativamente compactadas y pocos espacios celulares); D: mapeo de calcio.



para ambos tratamientos el parénquima no se altera significativamente. Sin embargo, muy altos valores de calcio generan ciertos cambios en la ultraestructura del mismo. En la Lámina V:C, en la muestra VG5C₃, el tejido se observa más compacto con menores espacios intercelulares y con paredes electrónicamente más densas que en la muestra VG5C₁ (Lám V:A). Ambos tejidos muestran el arreglo de las células muy similar al fresco (Lám.III:B). En el mapeo de calcio por difracción de rayos X, se observa mayor densidad de puntos en la muestra VG5C₃ que en la muestra VG5C₁ (Lám.V:B,D).

Si bien, entre ambos ensayos no existió una gran diferencia estructural por degustación, como antes se mencionó, pudo observarse que la muestra VG5C₃ poseía un sabor particular aportado por el calcio mientras que en la muestra VG5C₁ el mismo se percibió muy ligeramente. La muestra VG5C₃, además del problema del sabor, poseía una mayor resistencia al corte y la masticación, que excedió la de la fruta fresca.

La adición de iones calcio favoreció el mantenimiento de la integridad celular de la fruta. Esto tuvo su correlato en el análisis instrumental antes realizado. Las muestras escaldadas en vapor e impregnadas con glucosa y con lactato de calcio presentaron mejores valores de $F_{\text{máx}}$, especialmente en los niveles de $a_{\text{w eq}} = 0,93$.

Para explicar el efecto de la adición de calcio en los tejidos celulares existen distintas teorías.

French y col (1989), en su trabajo sobre damascos esterilizados, sugirieron la hipótesis de quelación. Según esta teoría, los ácidos orgánicos presentes en la fruta (ácido cítrico, ácido málico, etc.) y liberados debido a la ruptura de las membranas celulares por el calentamiento, reaccionarían con los iones calcio que entrecruzan a las cadenas pécticas y esto generaría el ablandamiento del tejido celular por solubilización de las pectinas. Si se adiciona calcio, éste saturaría los ácidos quelantes, quedando calcio disponible para el mantenimiento de la pared.

Main y col (1986) trabajaron con frutillas enteras y en rodajas. El calcio, para actuar como un efectivo agente de firmeza, necesita un bajo grado de metilación de las sustancias pécticas. En frutillas, esta condición puede suceder por β -eliminación (reacción de baja velocidad debido a un pH desfavorable) y/o por acción de la pectinmetilesterasa (PE). La PE puede activarse por calor o por congelado-descongelado. En el caso de la aplicación de temperaturas entre 55 y 70°C, se activa la PE que actuaría demetilando la pectina para que los iones

calcio puedan general las uniones de las cadenas adyacentes de pectina por unión de los grupos carboxilo demetilados. Esto finalmente favorecería el mantenimiento de la calidad textural.

4.2.2.3 Efecto de la impregnación con glucosa.

Para analizar el efecto de la impregnación con glucosa hasta niveles de a_{weq} 0,93 ó 0,95 sin escaldado previo se realizaron también observaciones microscópicas.

La Lámina VI, muestra por ejemplo, los cambios estructurales y/o histológicos debido a la impregnación.

Los cortes histológicos muestran para ambas a_{weq} paredes celulares intactas (Lám.:VI:A,F). En la zona subepidérmica (Lám.VI:A,F), las membranas celulares están rotas. En la zona interna (Lám.VI:C-E) el contenido celular está fundamentalmente plasmolizado. En MET, en las frutillas impregnadas hasta a_{weq} 0,93 (Lám.VI:G-H) no hay degradación de la pared celular y los plasmodesmos aparecen intactos con una alta densidad electrónica (Lám.VI:H). En algunas áreas se observa la presencia de la laminilla media intacta (Lám.VI:H-I). Sin embargo, hubo contracción de las membranas (Lám.VI:G) y en algunas células, lisis del plasmalema y el tonoplasto con formación de numerosas vesículas (Lám.VI:I).

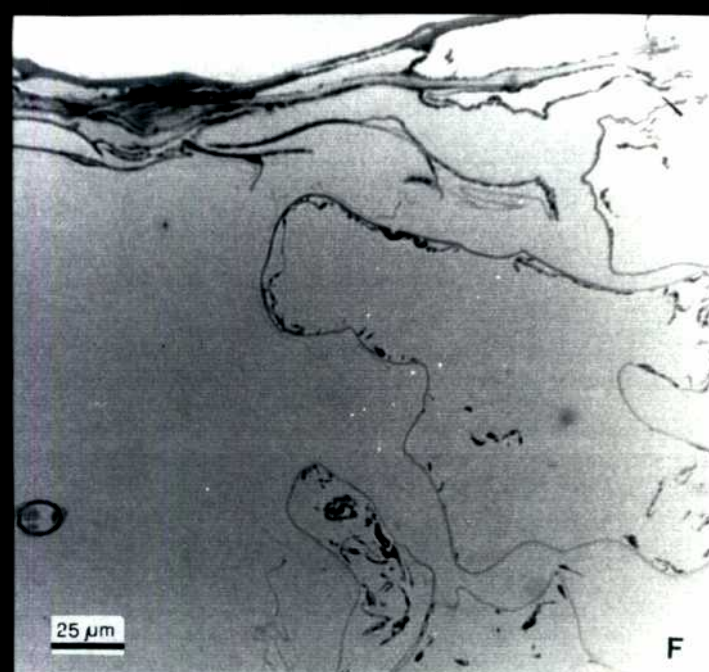
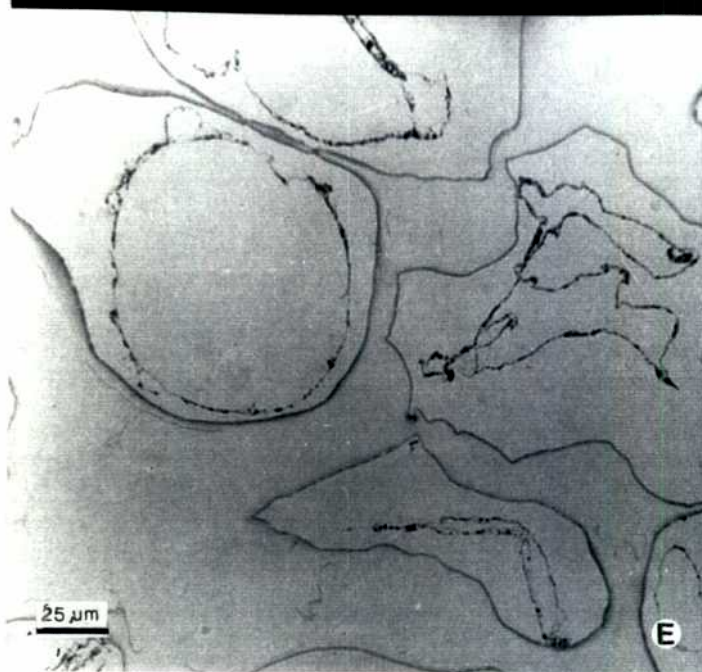
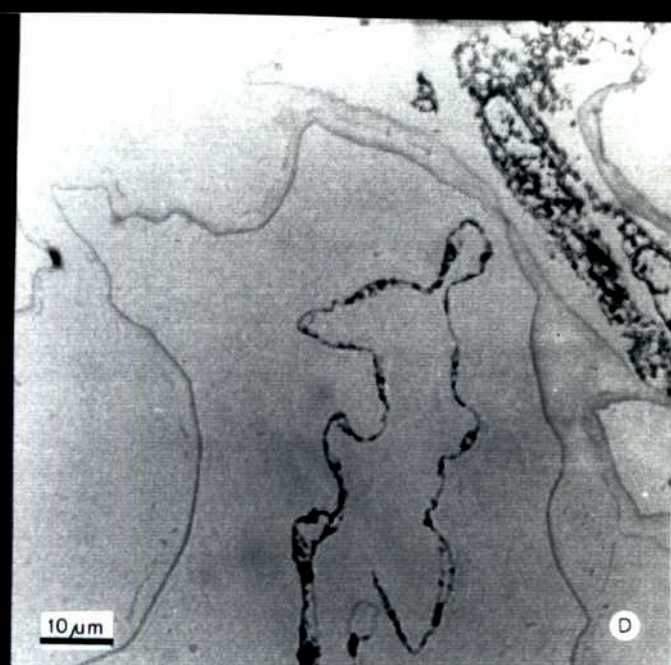
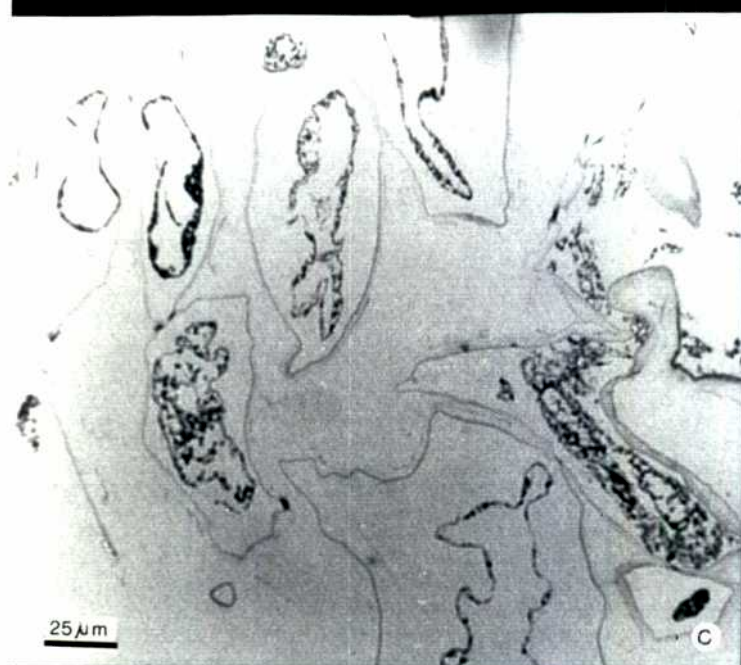
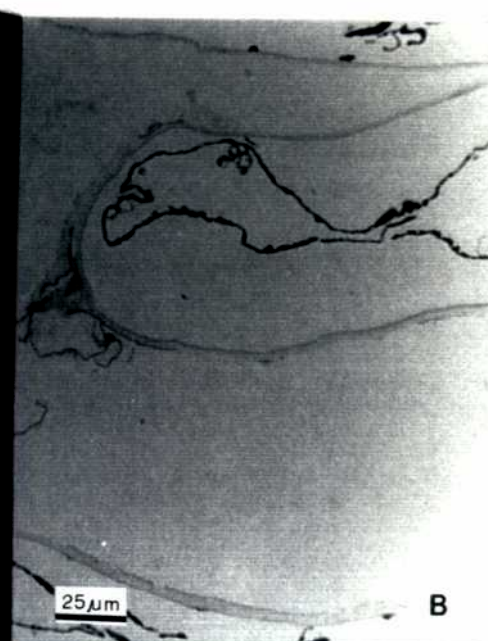
Las Láminas VII y VIII ilustran el efecto combinado de ambos tratamientos: escaldado e impregnación con glucosa, como asimismo de la adición de calcio.

En MO puede notarse que las células de la fruta fresca en la zona subepidérmica son pequeñas y redondeadas y que, avanzando hacia el centro del tejido, aumentan de tamaño (Lám.VII:A). Las células de la zona interna, en cambio, muestran elongaciones radiales como se observó en la Lámina I:A. En la Lámina VII:B el haz vascular y las células se encuentran más compactadas con muy pocos espacios intercelulares.

El tratamiento VG5C₁ causa colapso celular, ruptura o plasmólisis del plasmalema y del tonoplasto y separación y plegamiento de la pared celular (Lám. VII:C-D). En el tejido sujeto a las mismas condiciones de escaldado e impregnación con azúcar pero sin adición de calcio (tratamiento VG5), las células aparecen con un colapso más severo (Lám.VII:E-F).

Al nivel de ultraestructura, las frutillas con tratamiento VG3C₁ (Lám.VIII:C-D) muestran paredes celulares con densidad óptica menor que la densidad de la pared de la fruta fresca (Lám.VIII:A-B). Cuando el escaldado es en agua (tratamiento AG3C₁), la densidad óptica de las paredes celulares se reduce aún mucho más (Lám.VIII:E); en algunos casos hay ruptura de la pared celular (Lám.VIII:F-G).

Lámina VI: Caracteres anatómicos ultraestructurales de la frutilla en corte transversal: **A-F** fotomicrografías con MO; **G-J** fotomicrografías con MET. **A-D**, frutillas impregnadas a $a_{\text{weq}} 0,95$ sin escaldado previo. **A**, zona subepidérmica; **B-D**, zona interna; **E-F**, frutillas impregnadas a $a_{\text{weq}} 0,93$ sin escaldado previo; **E**, zona interna; **F**, zona subepidérmica. **G-H**, corte transversal (zona intermedia) de frutillas impregnadas a $a_{\text{weq}} 0,93$ sin escaldado previo. **G**, aspecto general (citoplasma y pared celular electrónicamente densa con plasmodesmo); **H**, detalle de la pared y el plasmodesmo; **I**, pared celular con laminilla media y restos citoplasmáticos; **J**, detalle de C.



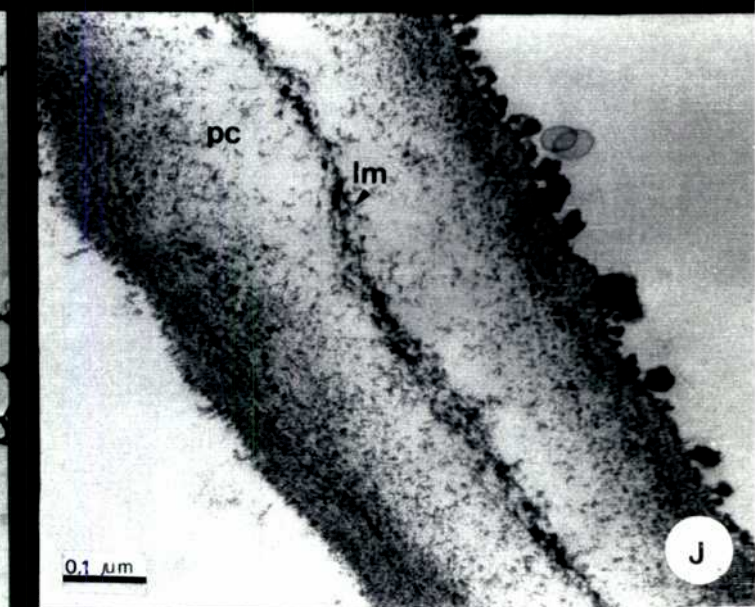
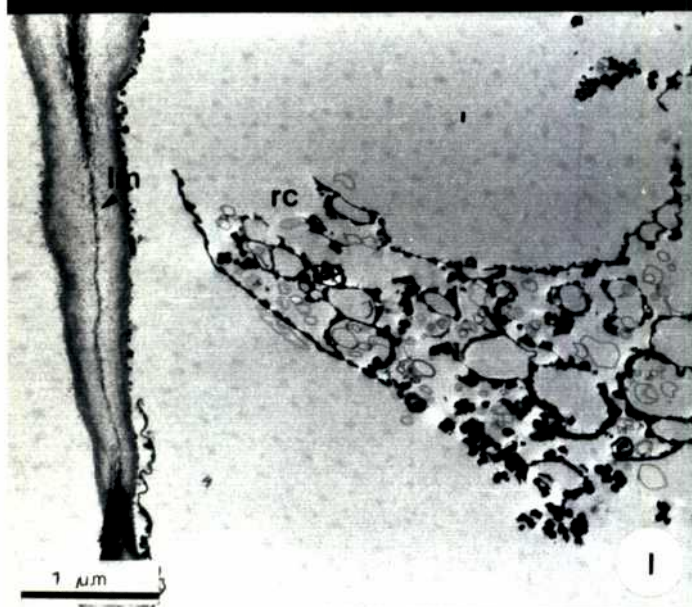
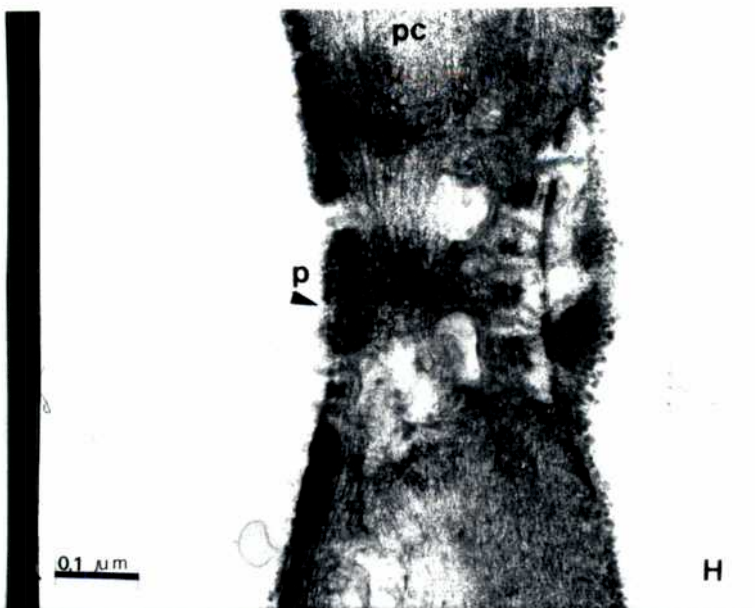
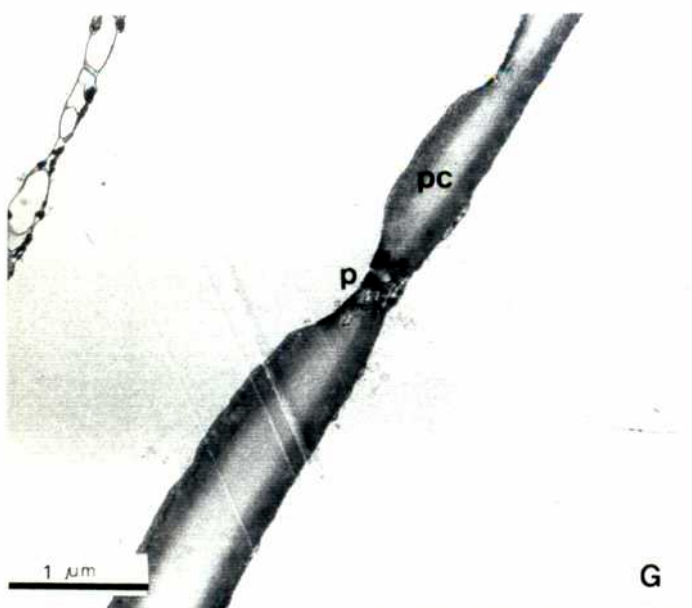


Lámina VII: Caracteres anatómicos estructurales de la frutilla en corte transversal: fotomicrografías con MO. **A-B**, testigo; **A**, zona subepidérmica (células isodiamétricas y turgentes, citoplasma organizado); **B**, zona de los haces vasculares (tejido más compactados con menos espacios intercelulares). **C-D**, frutilla con tratamiento VG5C₁; **C**, zona subepidérmica (colapso celular y contracción del citoplasma y/o ruptura membranas celulares); **D**, zona intermedia (deformación celular y contracción del citoplasma). **E-F**, resultados del tratamiento VG5; **E**, zona subepidérmica(contracción celular y deformación); **F**, zona de haces vasculares(alto nivel de colapso celular). **ei**:espacio intercelular, **hv**:haces vasculares

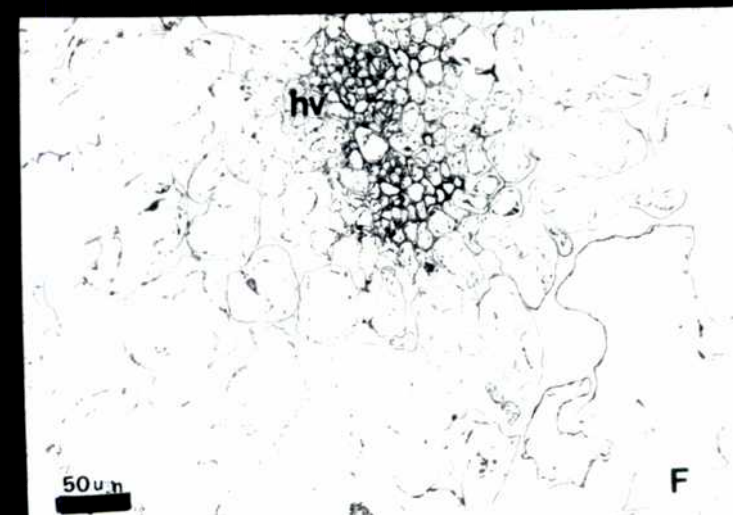
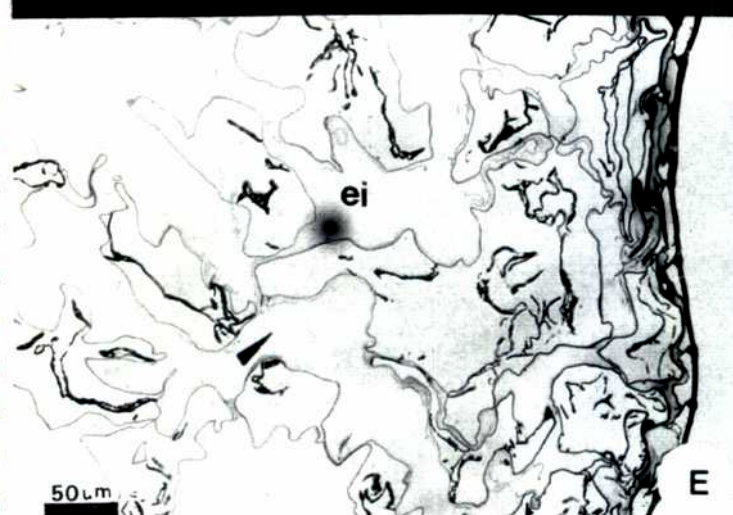
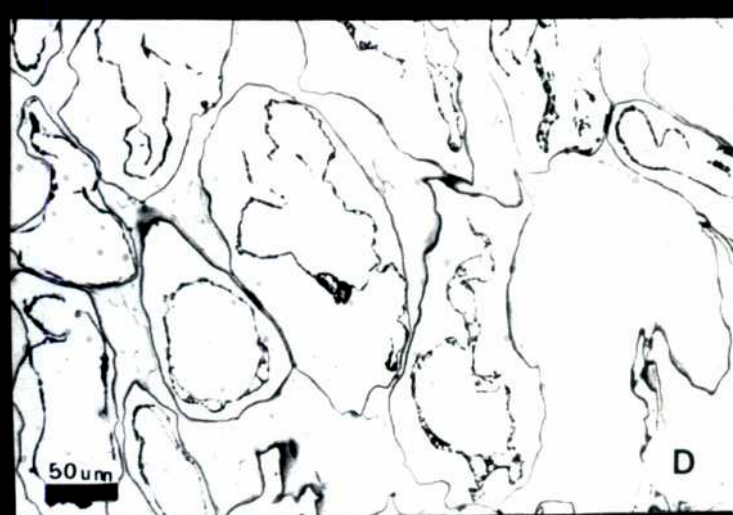
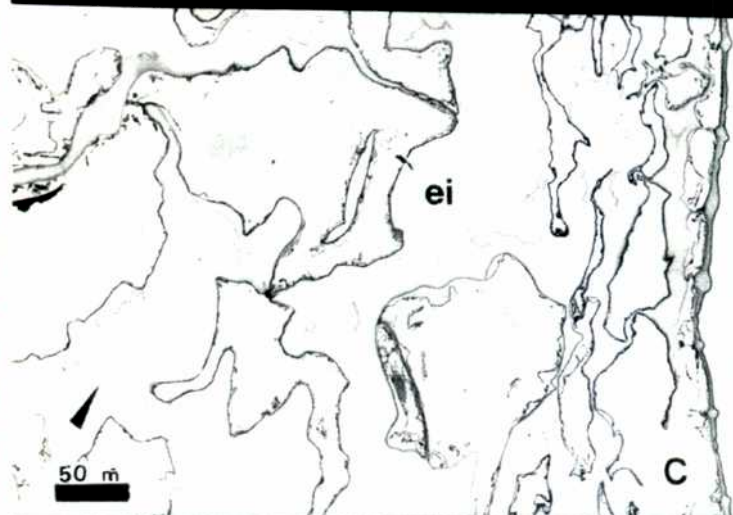
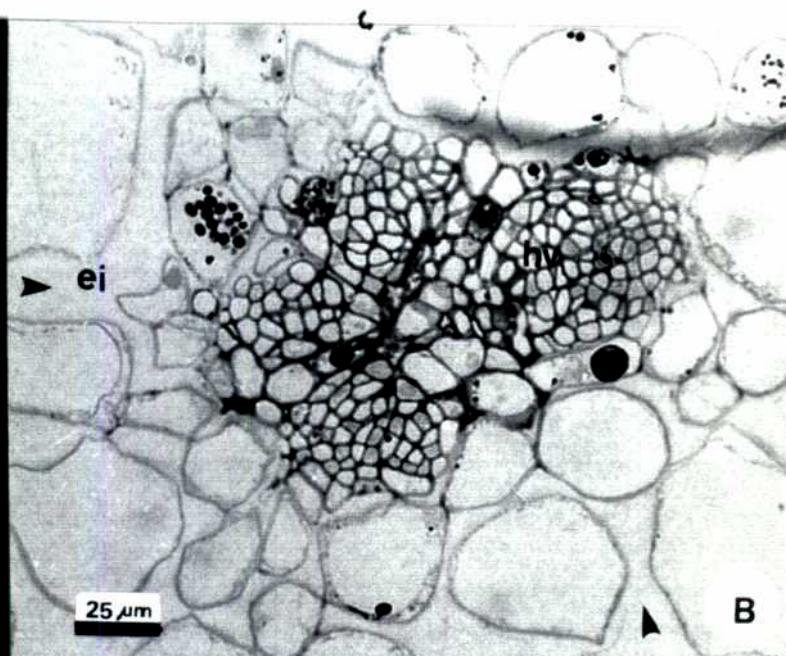
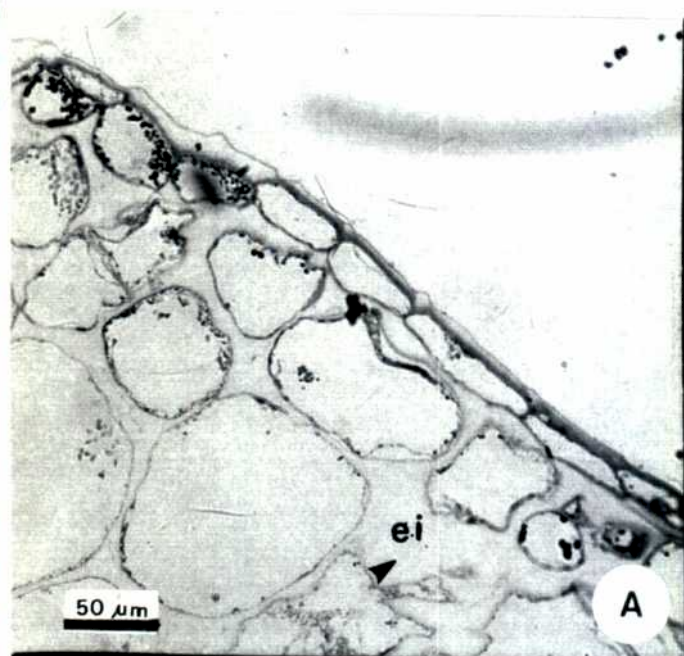
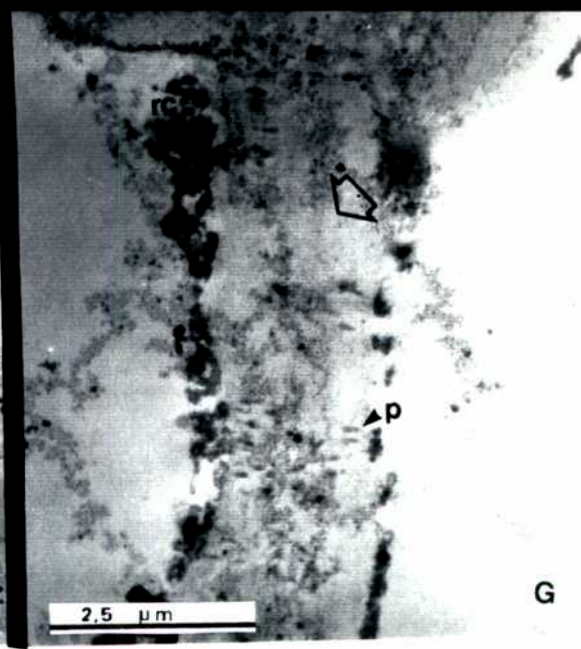
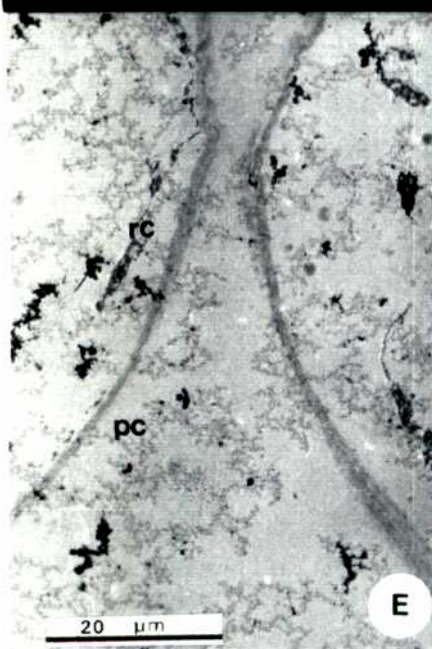
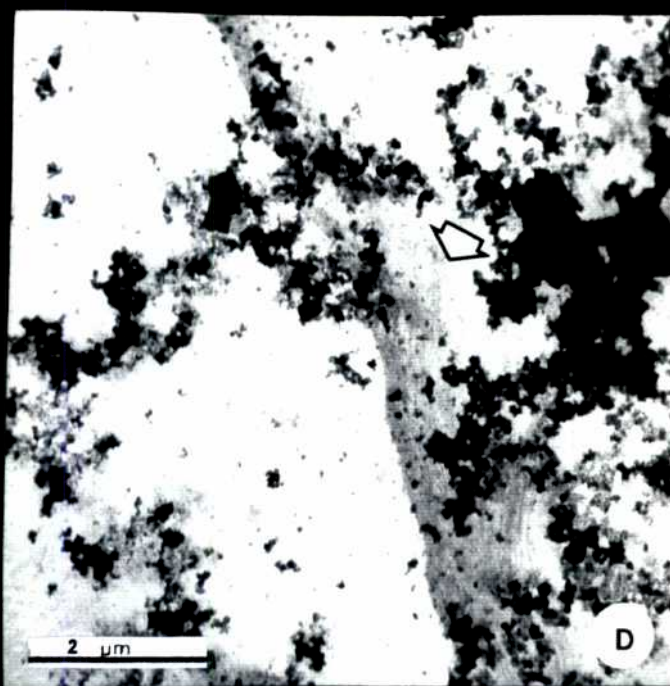
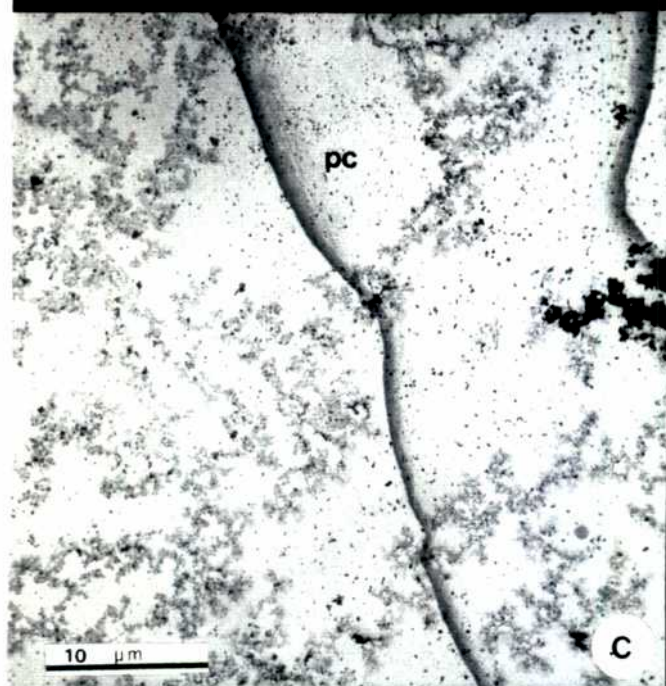
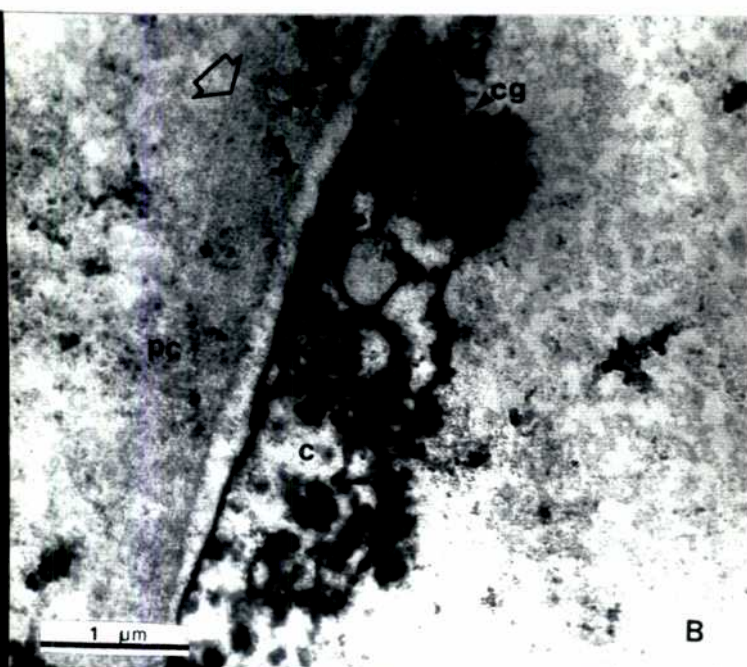


Lámina VIII: A-G, caracteres anatómicos ultraestructurales de la frutilla en corte transversal: fotomicrografías con MET. A-B, testigo: A, pared celular electrónicamente densa, aspecto general; B, detalle (flecha); C-D, frutilla con tratamiento VG3, (pared celular electrónicamente menos densa): C, aspecto general; D, detalle (flecha); E-G, frutilla con tratamiento AG3, (rotura de pared celular): E-F, aspecto general; G, detalle (flecha). c=citoplasma; cg=cuerpo de Golgi; ei=espacio intercelular; p=plasmodesmos; rc=restos citoplasmáticos.



En las Láminas IX y X, (fotomicrografías con MET y MEB respectivamente) se observa la estructura de las células parenquimáticas de las frutillas sometidas al tratamiento VG5 y al tratamiento VG5C₁. En MET las paredes sin agregado de calcio aparecerían electrónicamente un poco menos densas (Lám.IX:A-C) que las frutillas tratadas con calcio (Lám.IX:D-E). Sin embargo, las células adyacentes permanecen fuertemente unidas a través del plasmodesmo (Lám.X:A-B). El efecto de la adición de calcio es más evidente cuando se analiza por MEB. Las células tratadas con calcio (Lám.X:G-H) retienen el arreglo original de las células y su ordenamiento (Lám.X:A-B), pero las que no fueron tratadas exhiben un colapso celular mucho más severo (Lám.X:C-F).

La Lámina IV compara el mapeo de la distribución de calcio obtenida por el análisis de dispersión de rayos X para el testigo, para frutillas con el tratamiento VG5C₁ y para frutillas con tratamiento VG5. Se visualiza claramente la mayor concentración de calcio en la frutilla con tratamiento VG5C₁ respecto del control, lo que indicaría que la adición externa de calcio aumenta el contenido del mismo en el tejido de la fruta. En frutillas con tratamiento VG5, sin adición externa de calcio, se manifiesta una mayor concentración de calcio que en las frutillas con tratamiento VG5C₁, pero esto puede ser debido al severo colapso celular sufrido por el tejido de la fruta.

Los cambios en las características texturales determinados en forma instrumental correlacionaron adecuadamente con las observaciones realizadas.

Cuando la impregnación se realizó con glucosa en muestras sin tratamiento térmico, se pudieron observar mejores valores texturales que en las muestras en las mismas condiciones y con tratamiento térmico. La observación microscópica corroboraría que el tejido celular no sufre grandes cambios en su conformación, manteniendo bastante bien las estructuras de la pared celular. En particular, es importante notar la integridad de la laminilla media y de los plasmodesmos, factores estructurales fundamentales en la adhesión celular.

Si se comparan estos resultados con los obtenidos analizando el efecto combinado del tratamiento térmico (en vapor o en agua en ebullición) y la adición de calcio, el análisis estructural confirma que el tratamiento térmico en vapor saturado es más favorable que en agua en ebullición. Si además se adicionan iones calcio, el mantenimiento de las características texturales y estructurales es más significativo. En conclusión, dado que la operación de escaldado no puede obviarse, la frutilla tratada térmicamente con vapor saturado, impregnada con glucosa a niveles de $a_{w,q}$ 0,93 ó 0,95 y con adición de calcio será de una mayor calidad textural.

Lámina IX: A-E, caracteres anatómicos estructurales de la frutilla en corte transversal. Fotomicrografías con MET. **A-C**, tratamiento VG5, **A**, pared celular (baja densidad electrónica y plasmodesmo); **B**, detalle plasmodesmo; **C**, detalle de pared celular (con baja densidad electrónica); **D-E**: tratamiento VG5C₁, **D**, aspecto general de la pared celular (con mayor densidad electrónica, laminilla media y restos del citoplasma); **E**, detalle de pared celular. **pc**=pared celular, **c**=citoplasma.

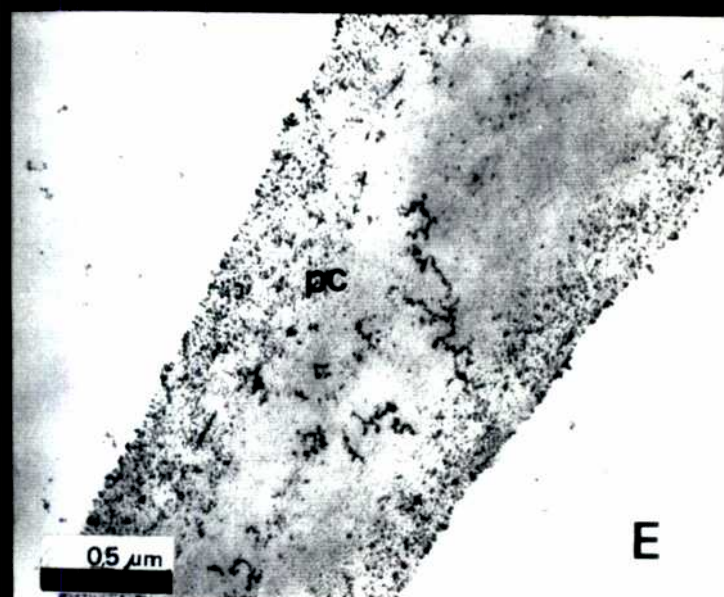
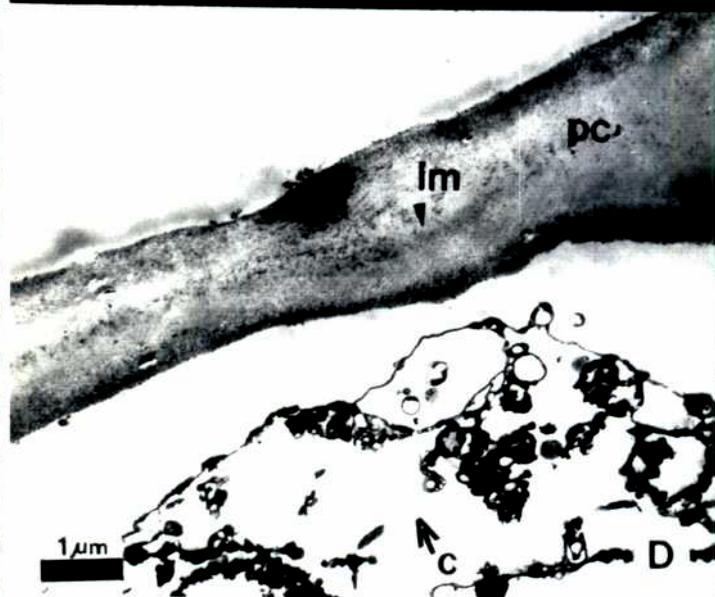
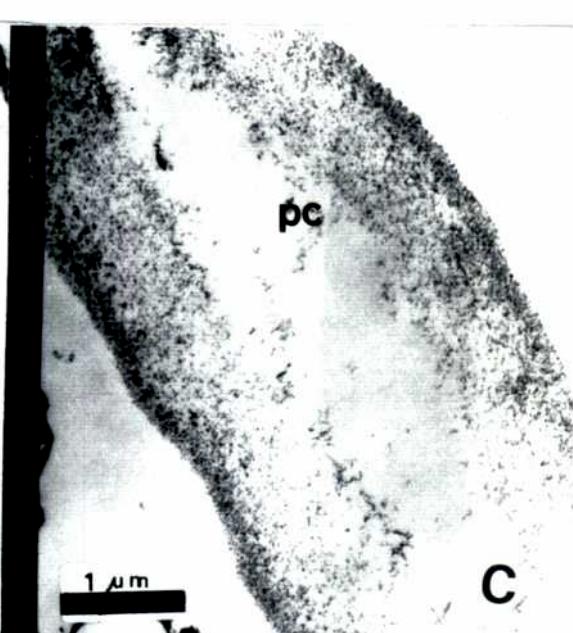
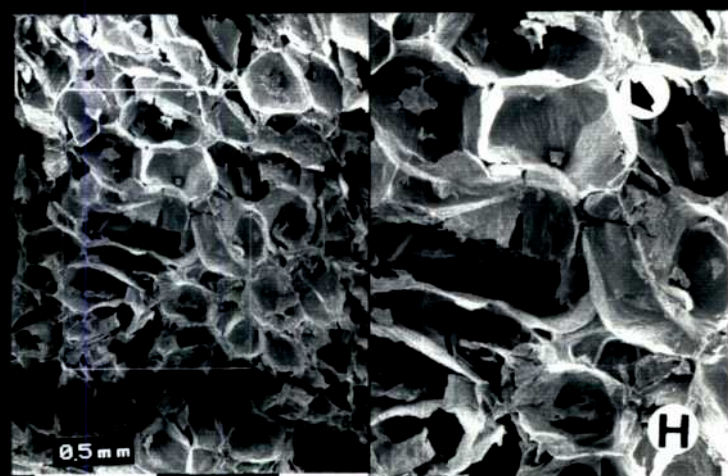
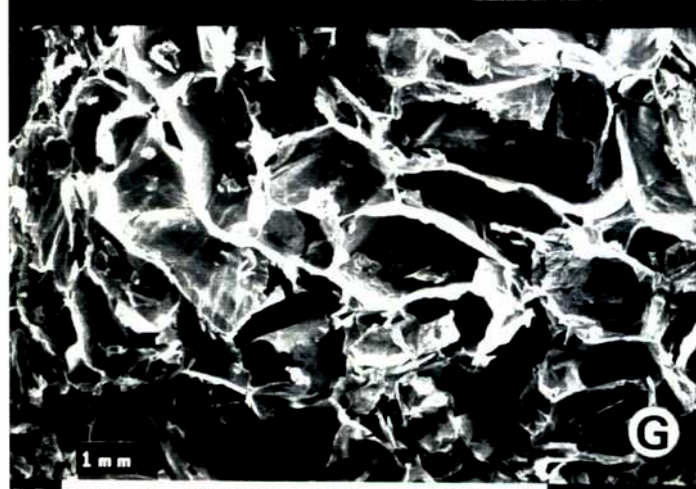
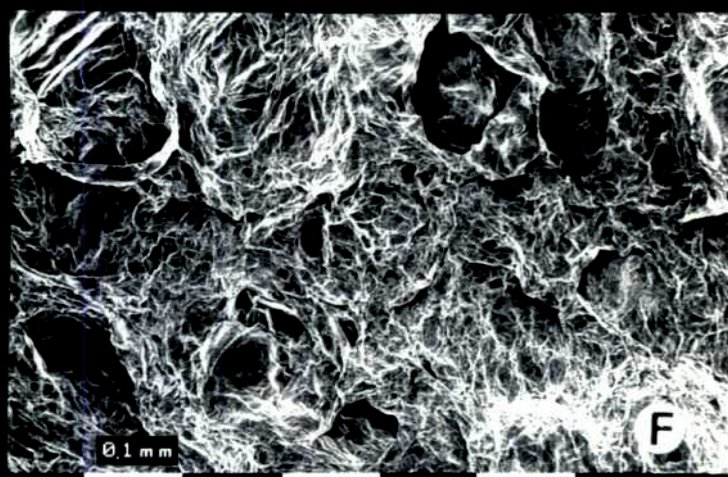
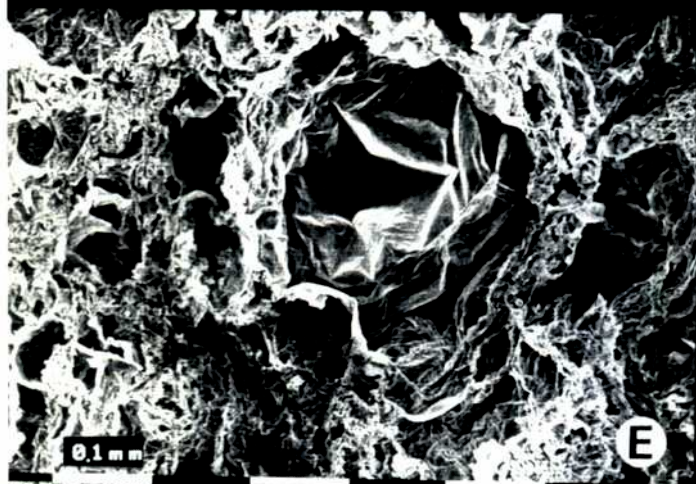
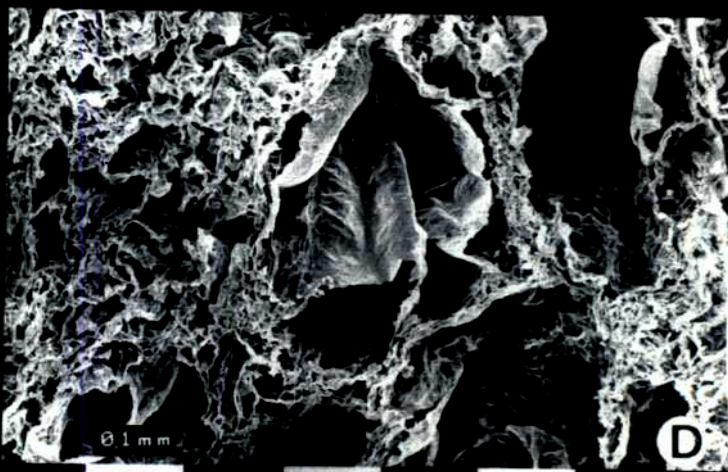
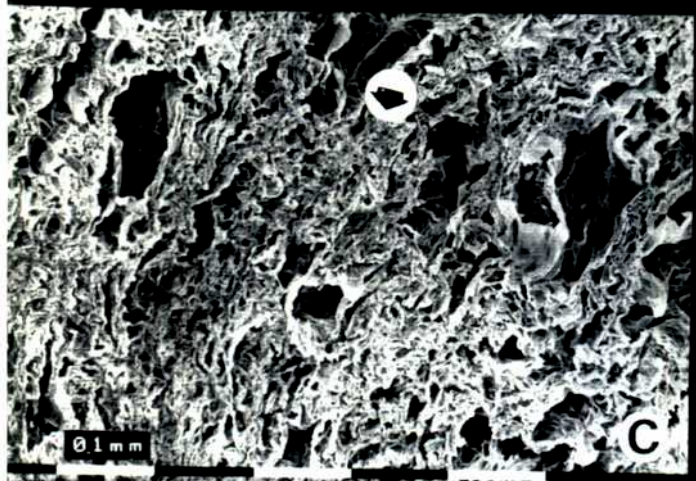
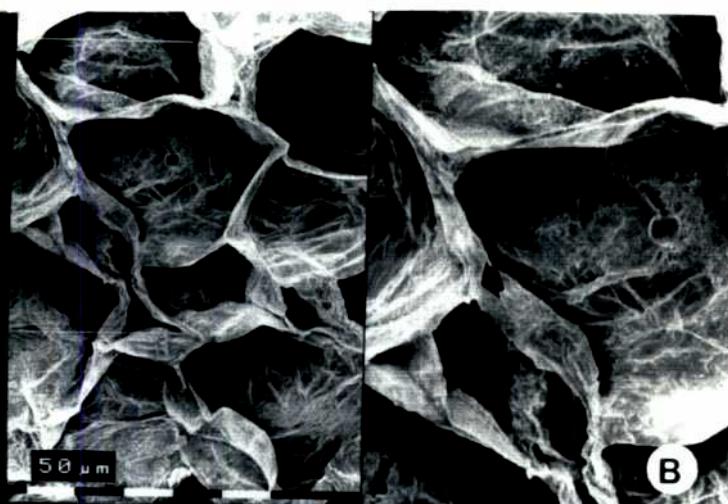
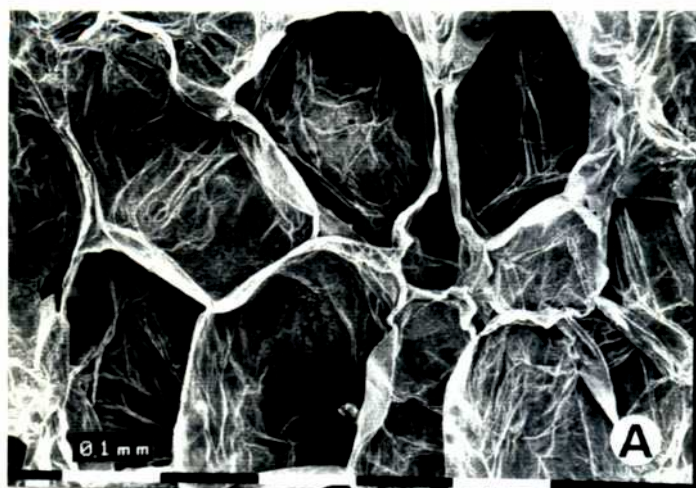


Lámina X: A-H, caracteres anatómicos ultraestructurales de la frutilla en corte transversal. Fotomicrografías con MEB. A-B, testigo: A, zona subepidérmica (tejido celular ordenado, células isodiamétricas y turgentes), B, detalle; C-F: frutillas con tratamiento VG5, (tejido celular altamente colapsado); G-H: frutilla con tratamiento VG5C₁; G, tejido celular (con el arreglo original de las células y menores espacios intercelulares que el testigo); H, detalle del tejido.



Los resultados reportados en la literatura sobre el efecto de estos tratamientos en las características texturales de los tejidos vegetales no son siempre coincidentes. Por ejemplo, He y col (1984) analizaron el efecto del calcio y la sacarosa sobre la textura de arvejas enlatadas. La adición de calcio aumenta la dureza de las arvejas por reacción con las cadenas de pectina adyacentes. Si se adiciona sacarosa, esta va a aumentar aún más el efecto del catión divalente. Sugieren que probablemente este hecho suceda debido a la interacción del calcio, la sacarosa y la pectina formando un gel fuerte.

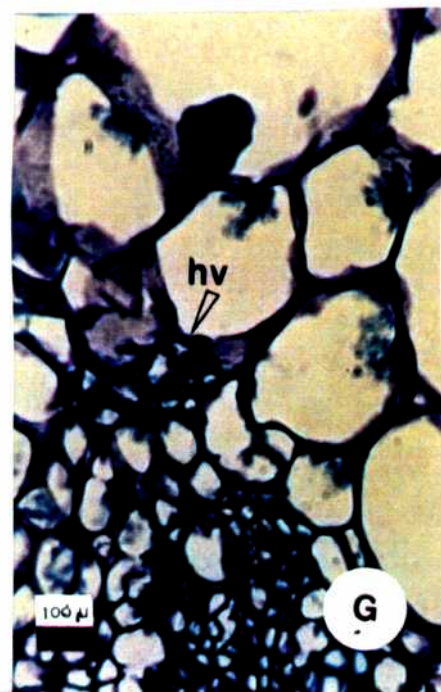
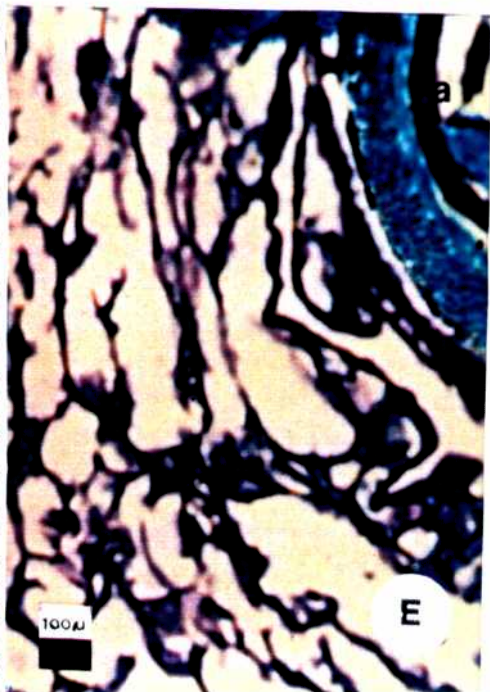
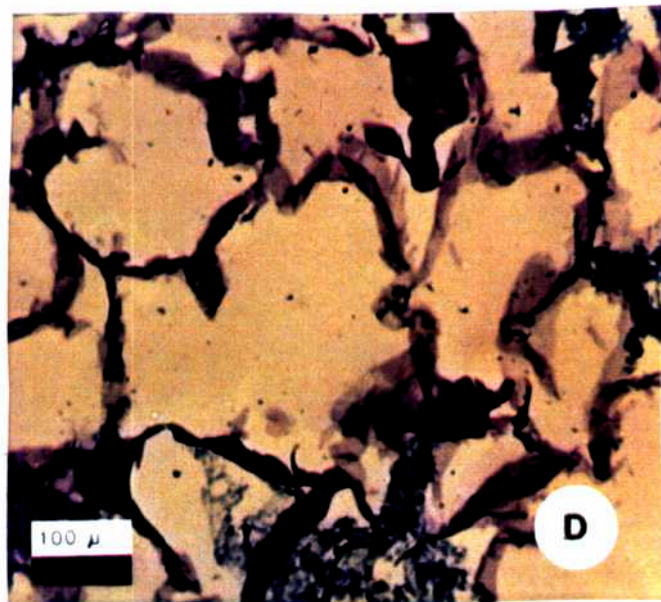
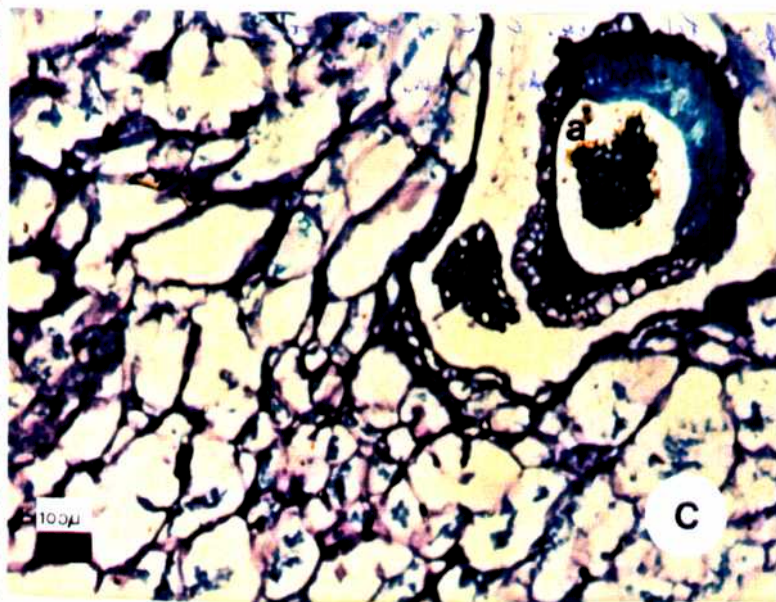
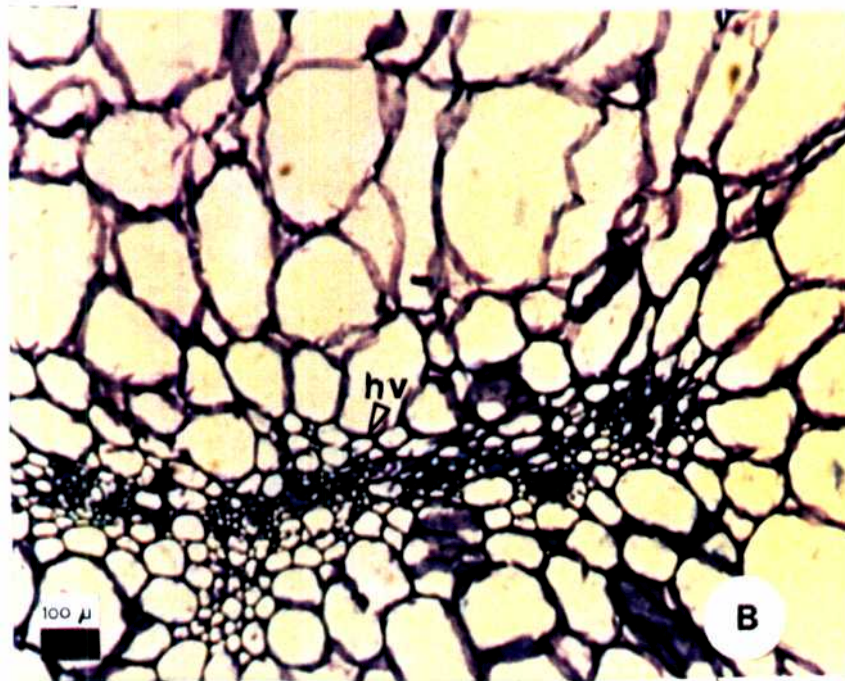
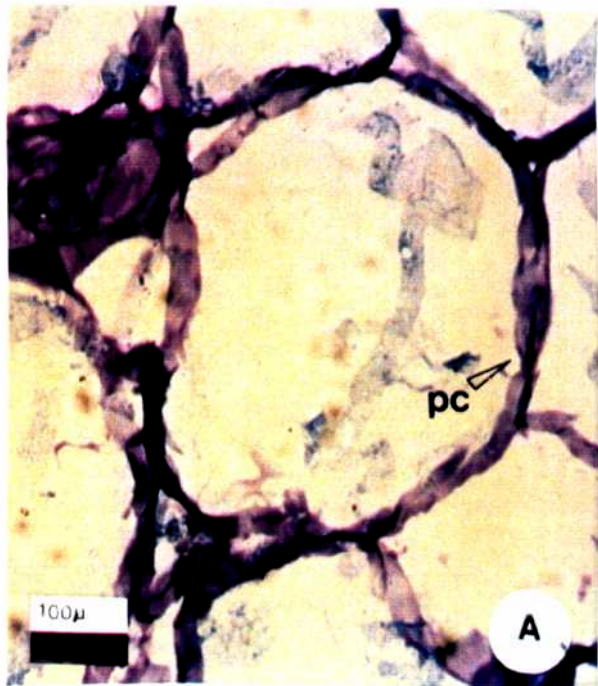
Monsalve-Gonzales y col (1993), por su parte, analizaron la transferencia de masa y los cambios texturales durante el procesamiento de manzanas por métodos combinados (ajuste de a_w con glucosa o sacarosa en el rango 0,95-0,97, control del pH y agregado de 4-hexilresorcinol). La penetración de azúcar dentro de la fruta generó ablandamiento de la misma, lo cual se reflejó en las mediciones texturales. El ingreso de azúcar tendría una relación directa con el ablandamiento, siendo más pronunciados ambos fenómenos con la acidificación del medio. Agregados de calcio mayores a 0,30% p/p minimizaron el ablandamiento pero no fueron efectivos para reponer su fragilidad.

4.2.2.4 Estudio adicional de la pared celular por coloración con fast green, azul de cresil y técnica de PAS

A los efectos de observar la integridad de la pared celular del tejido de la frutilla, se realizaron también coloraciones específicas de pared en la frutilla fresca (F) y en los ensayos G5C₁ y G3C₁. Los colorantes utilizados fueron azul de cresil, que tiñe las paredes celulares en color borravino; fast green, que tiñe únicamente paredes celulares primarias en color azul y la técnica de coloración de PAS, que colorea las paredes celulares primarias por reacción con los grupos aldehído de los polisacáridos existentes en ellas. Las preparaciones se observaron al microscopio óptico.

En la **Lámina XI** se muestran los tejidos coloreados con azul de cresil. En la frutilla fresca (Lám.XI:A-B), puede observarse que las paredes celulares están intactas, con coloración intensa y continua. Las células se observan isodiamétricas en la zona subepidérmica (Lám.XI:A). En la zona de los haces vasculares (Lám.XI:B) hay una neta organización del tejido celular con tinción de pared muy nítida.

Lámina XI: A-F, Fotomicrografías con MO de tejido de frutilla preparado por tinción con azul de cresil. A-B, testigo; A, zona interna; B, zona de los haces vasculares. C-D, frutilla con tratamiento G5C₁; C, zona subepidérmica; D, zona interna. E-F, frutilla con tratamiento G3C₁; E, zona subepidérmica; F, zona de los haces vasculares. a=aquenio; pc=pared celular; hv=haces vasculares.



Para la muestra G5C₁, la zona subepidérmica muestra compactación del tejido celular debido a la impregnación con glucosa hasta el nivel de $a_{weq} = 0,95$ (Lám.XI:C). En la zona interna del tejido (Lám.XI:D), las paredes celulares presentan buena nitidez en la coloración a pesar del tratamiento.

En la muestra que fue deshidratada a niveles de $a_{weq} = 0,93$, la zona externa (Lám.XI:E) muestra un mayor nivel de compactación que la muestra G5C₁ y al igual que esta última, en la zona interna del tejido (Lám.XI:F) las paredes celulares muestran buena coloración. Esta coloración confirma las observaciones anteriores en MET: este tratamiento no genera rotura de las paredes celulares. En la zona cercana a los haces vasculares (Lám.XI:G), donde las células se conservan intactas e isodiamétricas, se observa también compactación del tejido con un desarrollo de color muy acentuado.

Al colorear el tejido vegetal con fast green (Lámina XII), pueddieron realizarse las siguientes observaciones:

En el caso de la frutilla fresca, en la zona subepidérmica (Lám.XII:A), las células están turgentes e isodiamétricas. En la zona interna (Lám.XII:B), las paredes celulares se observan intactas.

En el caso de la frutilla con tratamiento de impregnación con glucosa a nivel de $a_{weq} = 0,95$ y con adición de calcio (G5C₁) (Lám.XII:C-D), el tejido celular tanto en la zona interna como la externa se encuentra fuertemente compactado y las células deformadas.

En el ensayo G3C₁, ambas zonas (subepidérmica e interna) muestran un alto grado de compactación y desorganización del tejido celular (Lám.XII:E-F), estando estos resultados en coincidencia con los obtenidos con la coloración azul de cresil.

La Lámina XIII muestra el tejido vegetal en la zona de los haces vasculares coloreado con la técnica de PAS. En la frutilla fresca (Lám.XIII:A), las células mantienen su característica isodiamétrica y el citoplasma se encuentra localizado en forma parietal. En las muestras impregnadas con glucosa a $a_{weq} 0,93$ o $0,95$ y con adición de calcio (Lám.XIII:B-C), la organización del tejido se mantiene probablemente debido a la zona específica que se ha analizado, pero hay retracción del citoplasma en ambos casos y especialmente en la muestra G3C₁, en la cual el nivel de deshidratación es mayor.

Las observaciones realizadas mediante estas coloraciones corroboran las observaciones microscópicas anteriores.

Lámina XII: A-F, fotomicrografías con MO de tejido de frutilla preparado por tinción con fast green. A-B, testigo: A, zona subepidérmica, tejido celular organizado; B, zona interna. C-D, frutilla con tratamiento G5C₁: C, zona subepidérmica; D, zona interna; E-F, frutilla con tratamiento G3C₁: E, zona subepidérmica; F, zona interna.

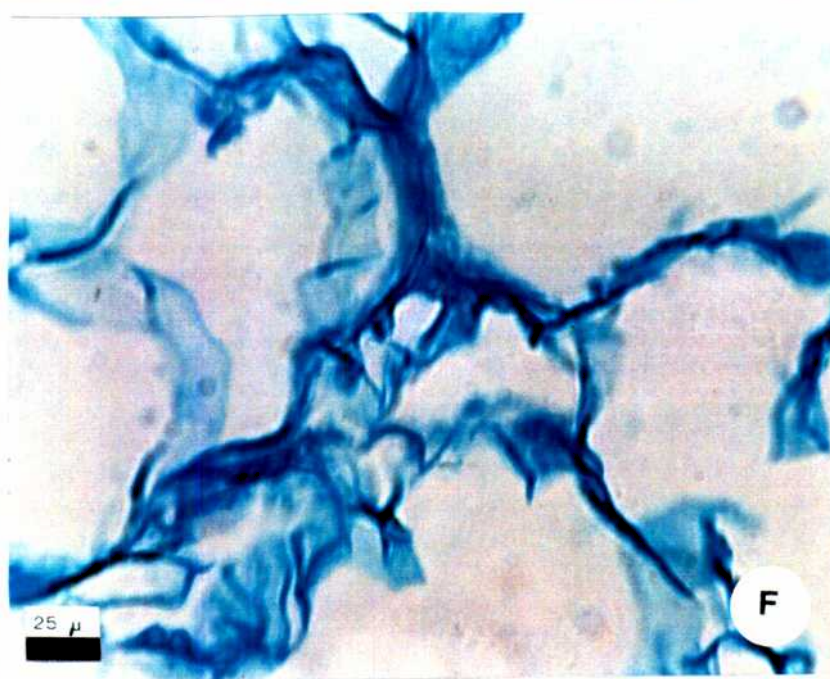
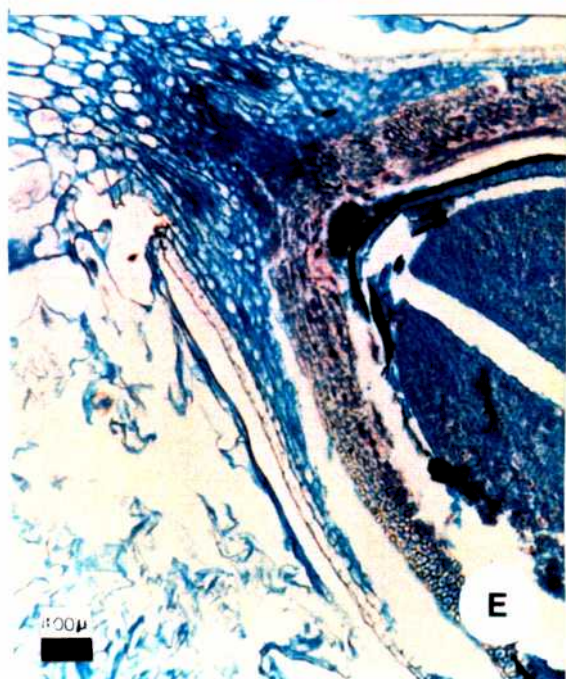
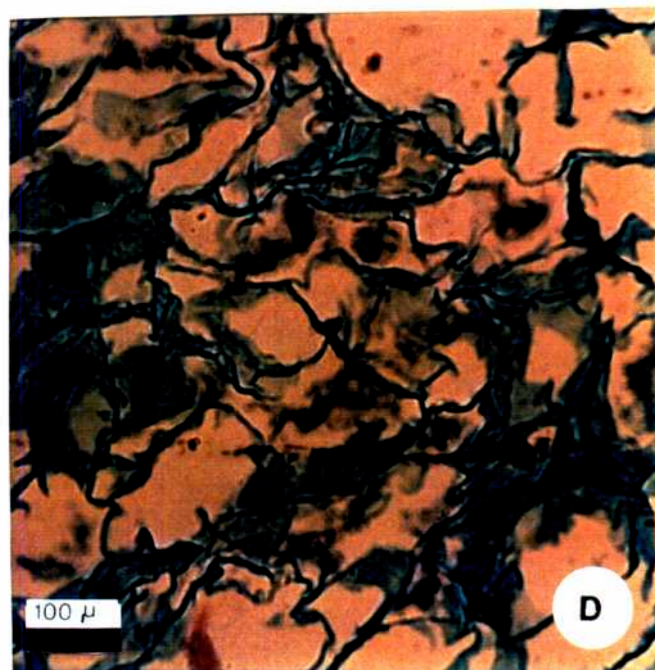
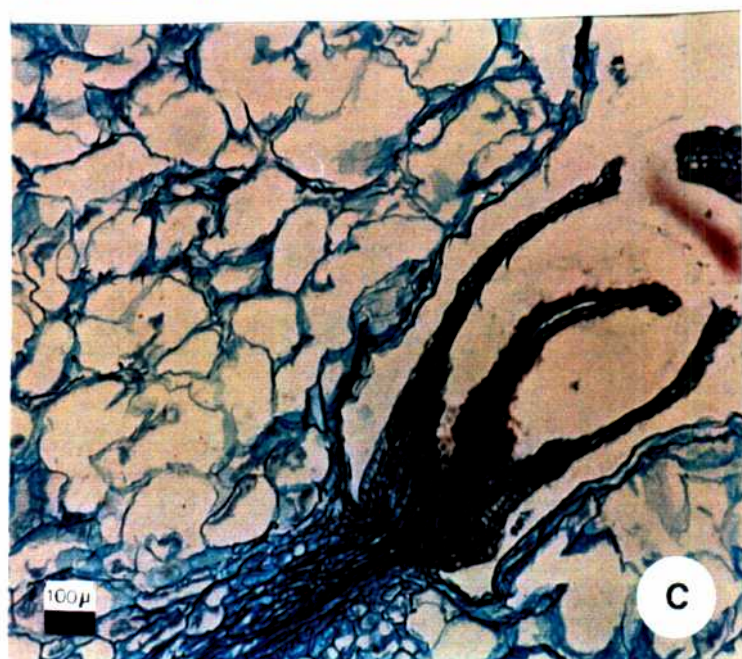
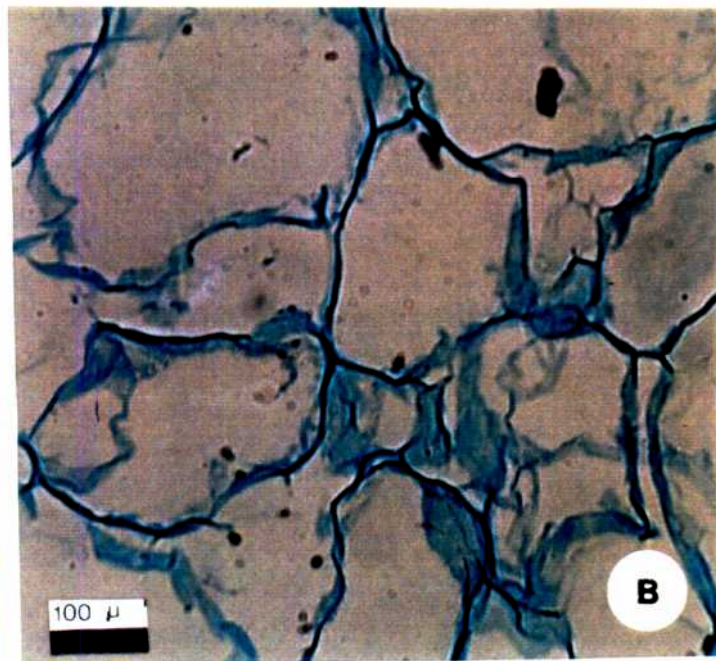
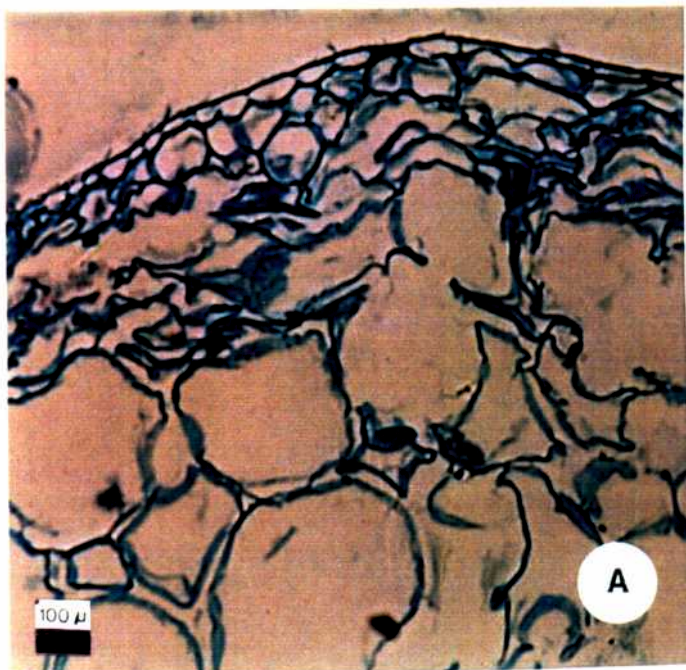
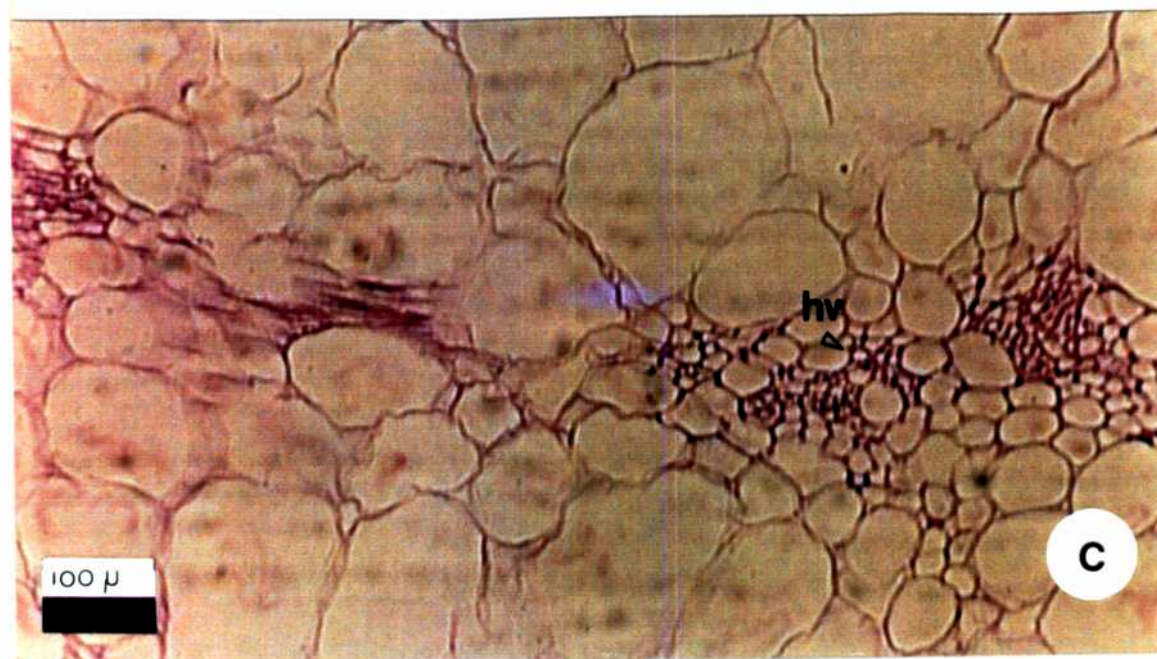
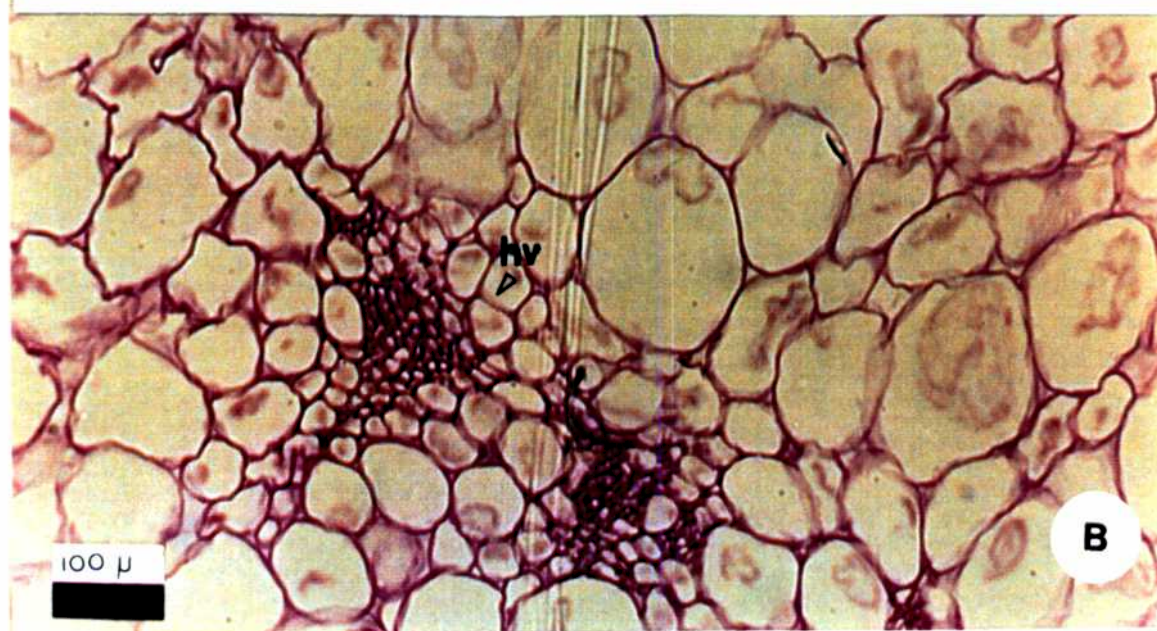
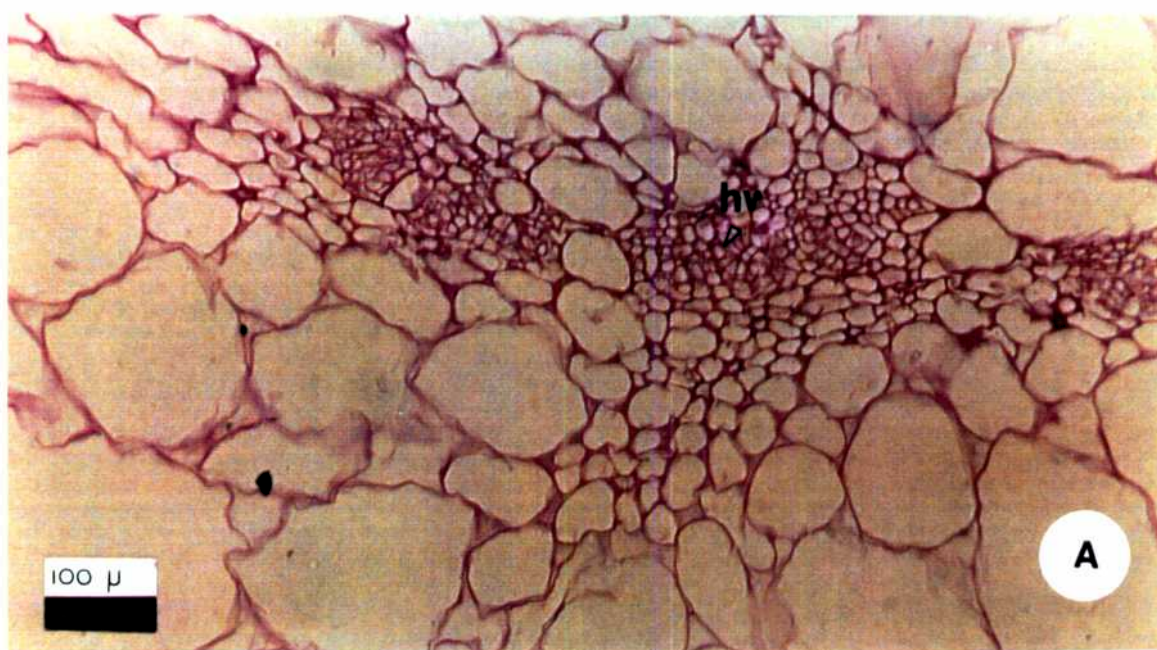


Lámina XIII: A-C, fotomicrografías con MO de tejido de frutilla preparado por tinción con la técnica de PAS. A, testigo, zona de los haces vasculares, (tejido celular y citoplasma organizado); B, frutilla con tratamiento G5C₁, zona de los haces vasculares;; C, resultado tratamiento G3C₁, zona de los haces vasculares.hv=haces vasculares.



4.3 Efecto del tipo de humectante y el nivel de a_w , la adición de calcio y el tratamiento térmico.

4.3.1 Análisis instrumental de la textura

En esta segunda etapa del trabajo se analizó el efecto del escaldado en vapor, el tipo de soluto de impregnación y la adición de calcio en las características texturales de las frutillas después del procesamiento (6 días). Los humectantes utilizados fueron glucosa, sacarosa y jarabe de glucosa y los niveles de a_{weq} 0,93, 0,95 y 0,97.

La **Figura 4 A)** muestra los valores promedio de la $F_{máx}$ para frutilla fresca, frutilla escaldada y frutilla impregnada con sacarosa, con y sin tratamiento térmico y con adición o no de iones calcio. En la **Figura 4 B)** pueden observarse los valores de contenido de humedad de las muestras respectivas. Las **Figuras 5 A) y B)** muestra los datos de $F_{máx}$ y humedad para la frutilla que ha sido impregnada con glucosa. Las **Figuras 6 A) y 6 B)** permiten observar los datos de $F_{máx}$ y contenido de humedad para la frutilla impregnada con jarabe de glucosa.

Los datos experimentales de $F_{máx}$ y el valor de $F_{máx}$ promedio para frutilla fresca y para frutilla sometida a tratamientos de impregnación con azúcares a distintas actividades de agua, con y sin la adición de calcio y con y sin tratamiento térmico previo se detallan en el **Apéndice 1, Tabla 1.1.C**.

En la **Figura 7** pueden observarse ejemplos del registro de los ensayos de extrusión para las muestras fresca (F), escaldada en vapor saturado (V) y las muestras G3C, S3C, VS3 y VG3.

Los datos de $F_{máx}$ fueron analizados por medio de un ANOVA MULTIFACTOR teniendo en cuenta los factores que afectan la textura y que forman parte del proceso de preservación, a saber:

- ♦ Adición de calcio
- ♦ Tratamiento térmico (escaldado)
- ♦ Tipo de azúcar utilizado en el tratamiento (glucosa, sacarosa, jarabe de glucosa)
- ♦ Niveles de actividad de agua (0,93; 0,95: 0,97)

Figura 4: A) Valores promedio de $F_{\text{máx}}$ de frutilla fresca, frutilla escaldada y frutilla impregnada con sacarosa, con y sin escaldado y con o sin la adición de calcio. B) Contenido de humedad. 1-fresca, 2-escaldada. 3-S3, 4-S5, 5-S7, 6-S3C₁, 7-S5C₁, 8-S7C₁, 9-VS3, 10-VS5, 11-VS7, 12-VS3C₁, 13-VS5C₁, 14-VS7C₁.

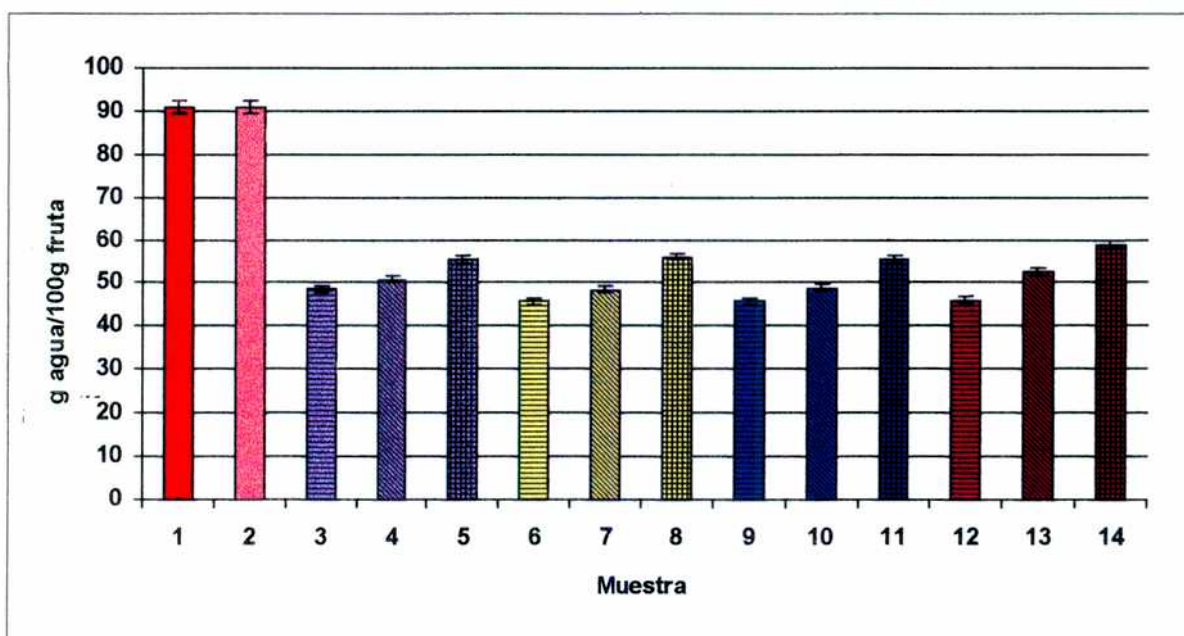
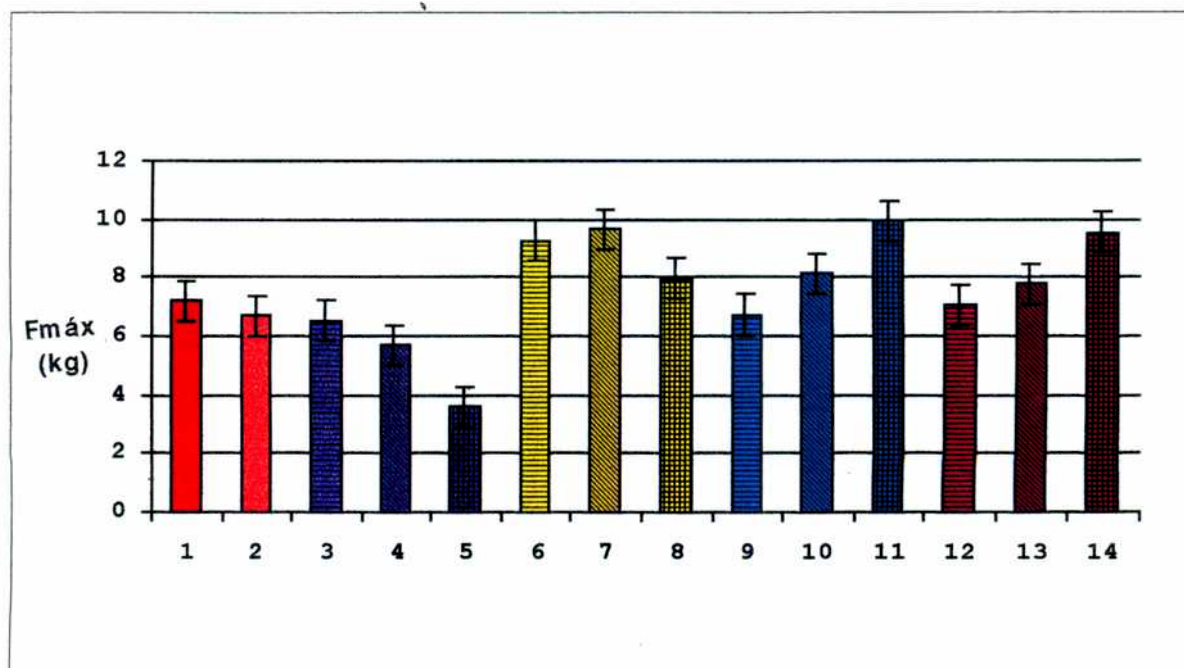


Figura 5: A) Valores promedio de $F_{\text{máx}}$ de frutilla fresca, frutilla escaldada y frutilla impregnada con glucosa, con y sin escaldado y con o sin la adición de calcio. B) Contenido de humedad. 1-fresca, 2-escaldada. 3-G3, 4-G5, 5-G7, 6-G3C₁, 7-G5C₁, 8-G7C₁, 9-VG3, 10-VG5, 11-VG7, 12-VG3C₁, 13-VG5C₁, 14-VG7C₁.

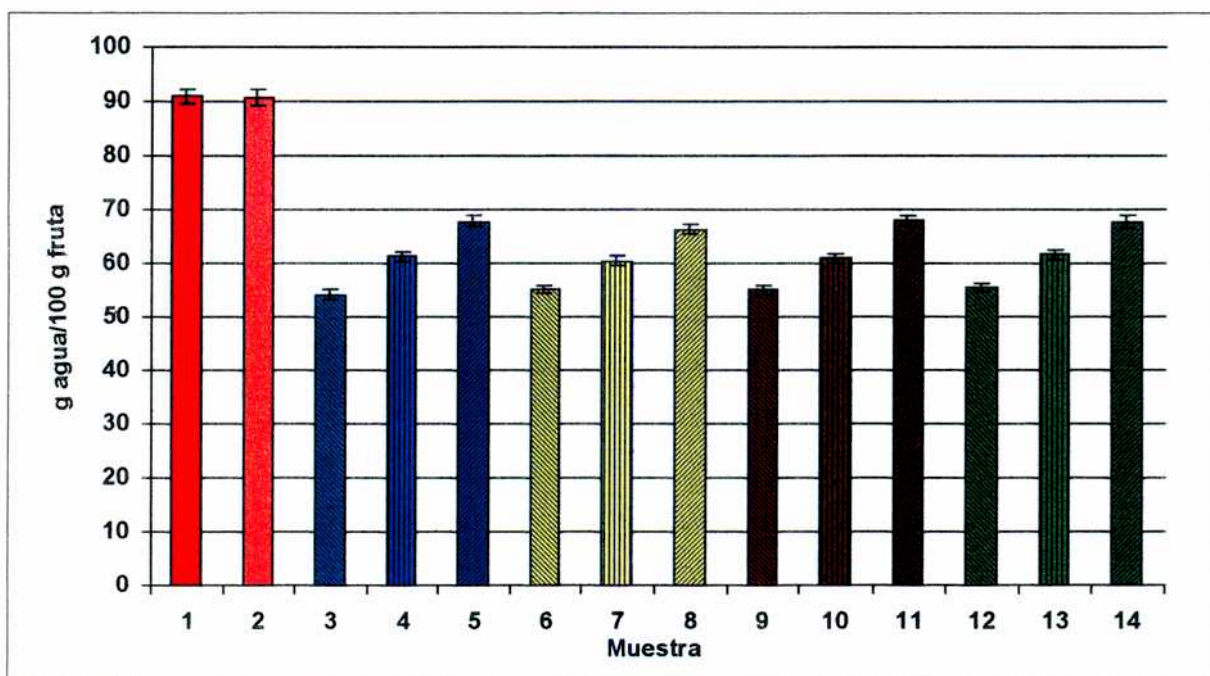
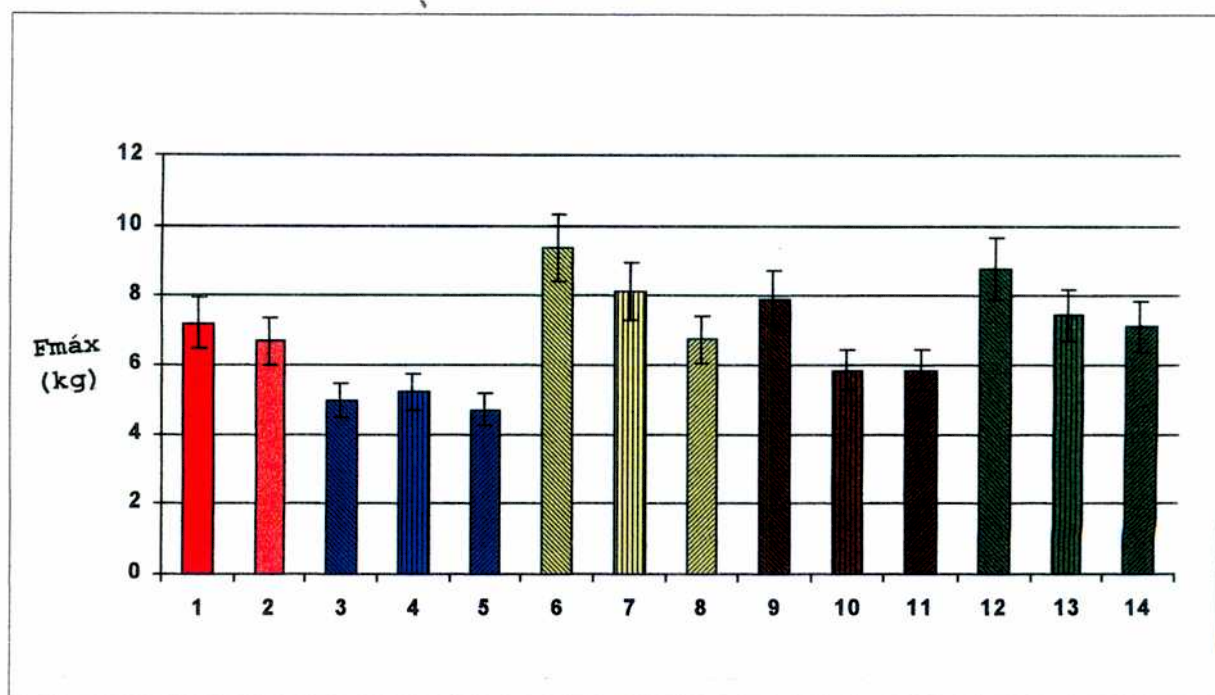
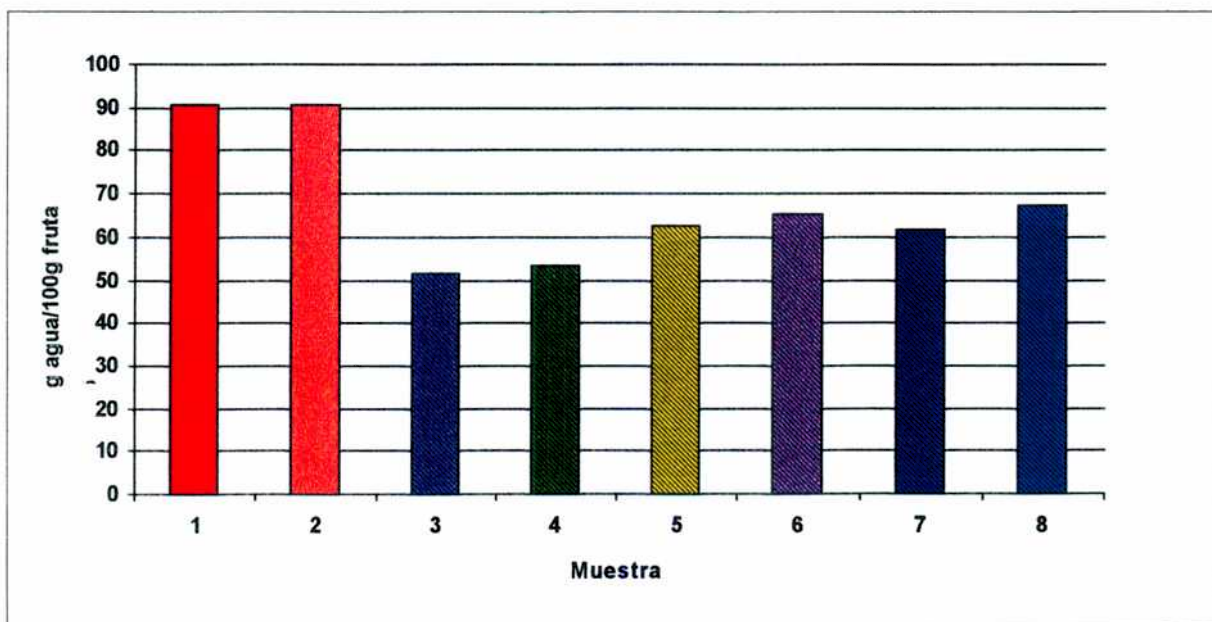
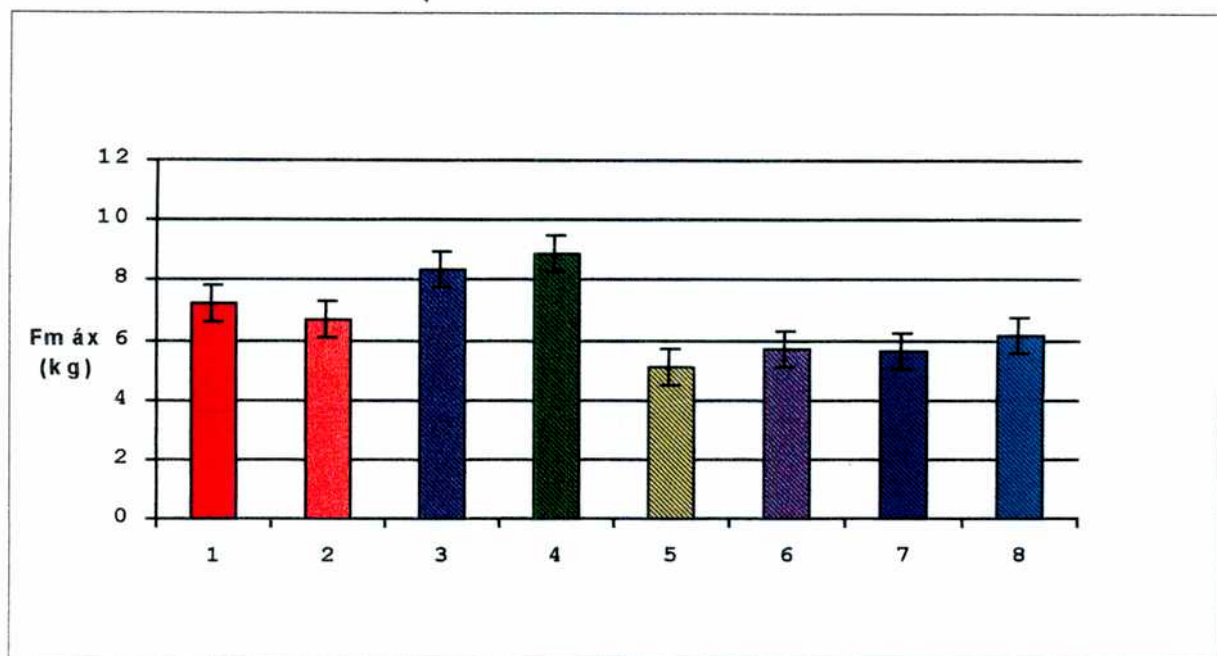


Figura 6: A) Valores promedio de $F_{\text{máx}}$ de frutilla fresca, frutilla escaldada y frutilla impregnada con jarabe de glucosa, con y sin escaldado y con o sin la adición de calcio. B) Contenido de humedad. 1-fresca, 2-escaldada. 3-J5C₁, 4-J7C₁, 5-VJ5, 6-VJ7, 7-VJ5C₁, 8-VJ7C₁.



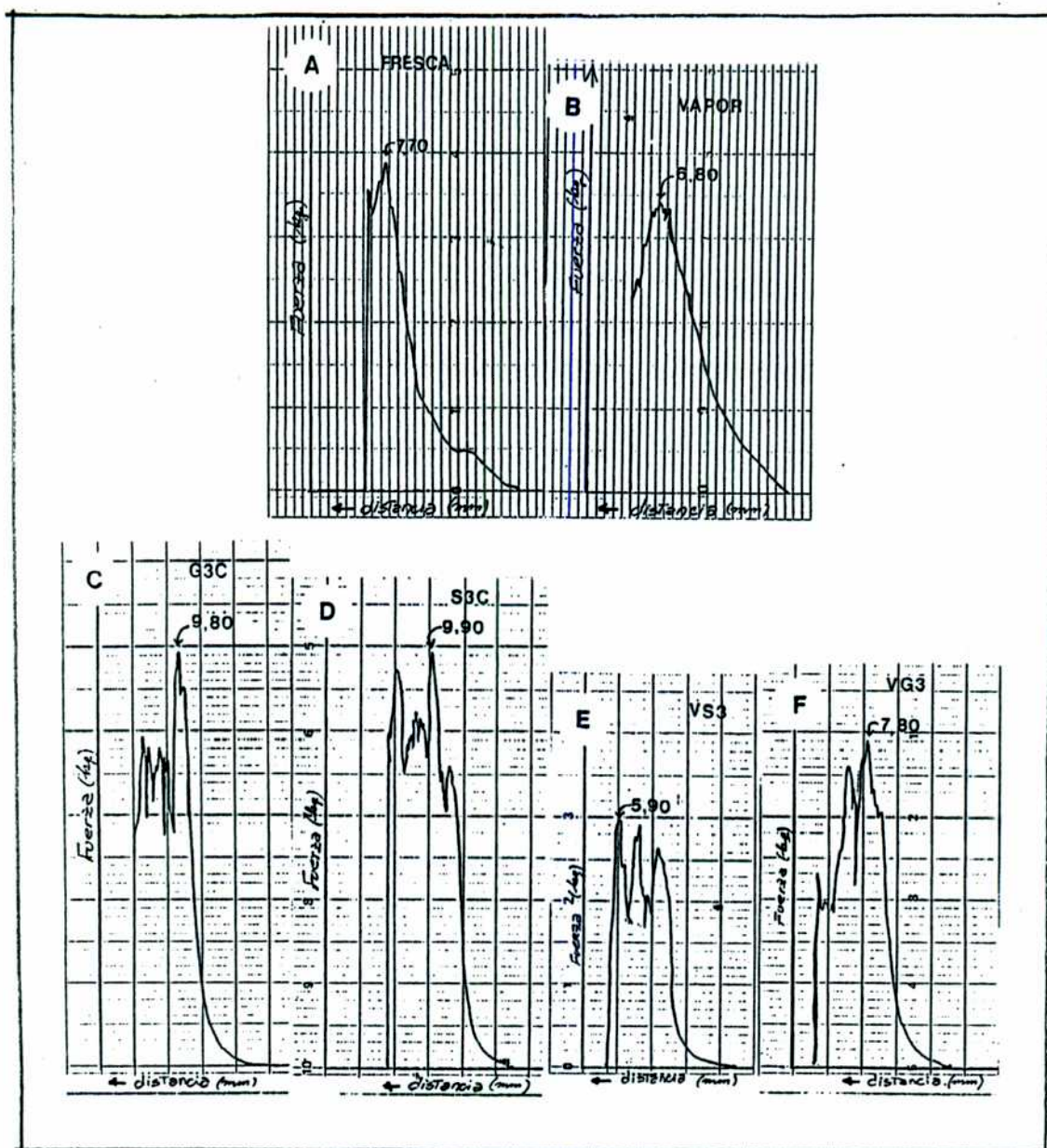


Figura 7:Curvas fuerza-desplazamiento de los ensayos de extrusión. A) frutilla fresca; B) frutilla escaldada en vapor saturado; C) muestra G3C; D) muestra S3C; E) muestra VS3 y F) muestra VG3. Escala 5:10.

En todos los casos se realizó además un análisis de comparaciones múltiples por el método de Tukey.

En la **Tabla 6** se reportan los resultados de la aplicación del ANOVA Multifactor considerando todos los efectos.

Tabla 6: Análisis de varianza para la $F_{máx}$ de frutillas con distintos tratamientos .

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Efectos:				
a_w	2	7,5926	3,7963	1,76
Calcio	1	211,5937	211,5937	98,12*
Escaldado	1	11,2560	11,2560	5,22*
Azúcar	2	51,2402	25,6201	11,88*
Residual	233	502,4409	2,1564	
Total	239	765,4409		

gl: grados de libertad

* : significativo al nivel 5%

CM: cuadrado medio

SC: suma de cuadrados

Del análisis de la Tabla 6 surge que:

- No existe diferencia significativa entre los niveles de a_w .
- Existe diferencia significativa respecto de la adición de calcio, la aplicación del tratamiento térmico y el tipo de azúcar utilizado
- No existen interacciones entre los efectos analizados.

Mediante la aplicación del Test de Tukey se pueden obtener las siguientes conclusiones para cada factor:

- a_w : no existen diferencias significativas para los distintos niveles de aplicación.
- Ca^{2+} : existe diferencia significativa para los niveles de calcio, siendo $F_{máx}$ muestras con calcio > $F_{máx}$ muestras sin adición de Ca^{+2} .
- Escaldado: existe diferencia significativa para los niveles de tratamiento térmico, siendo $F_{máx}$ con escaldado > $F_{máx}$ sin escaldado.
- Tipo de azúcar: existe diferencia significativa en la $F_{máx}$ cuando se compara glucosa y sacarosa o cuando se compara sacarosa y jarabe de glucosa. No hay diferencia significativa entre glucosa y jarabe de glucosa.

Dado que de la tabla 6 puede observarse que existe diferencia significativa de acuerdo al tipo de humectante utilizado en la impregnación, se analizaron por ANOVA los datos de $F_{\text{máx}}$ para cada grupo de azúcar utilizado: glucosa, sacarosa y jarabe de glucosa.

En la **Tabla 7**, correspondiente a GLUCOSA como agente de impregnación, se observa que existe una alta diferencia significativa tanto para los efectos de los distintos factores como para sus interacciones ($\alpha = 0.000$).

Tabla 7 :Análisis de varianza para la $F_{\text{máx}}$ de frutillas con tratamientos de impregnación con glucosa

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Efectos:				
A: a_w	2	31,1933	15,5966	43,10*
B:Calcio	1	86,3932	86,3931	238,74*
C:Escaldado	1	18,4012	18,4012	50,85*
Interacción:				
AB	2	11,8757	5,9378	16,41*
AC	2	10,4118	5,2059	14,38*
BC	1	35,0054	35,0054	96,74*
ABC	2	4,5155	2,2577	6,24*
Residual	84	30,3971	0,3619	
Total	95	228,1934		

gl: grados de libertad

* : significativo al nivel 5%

CM: cuadrado medio

SC: suma de cuadrados

Por aplicación del Test de Tukey se observa para cada efecto que:

- a_w : son grupos heterogéneos. $F_{\text{máx}} 0,93 > F_{\text{máx}} 0,95$; $F_{\text{máx}} 0,93 > F_{\text{máx}} 0,97$ y $F_{\text{máx}} 0,95 > F_{\text{máx}} 0,97$.
- Calcio: existe diferencia significativa. $F_{\text{máx}}$ con calcio $> F_{\text{máx}}$ sin calcio
- Escaldado: existe diferencia significativa. $F_{\text{máx}}$ con escaldado $> F_{\text{máx}}$ sin escaldado.

- Interacción a_w /calcio: se observa mayor influencia de la a_w en la $F_{\max}$ cuando existe adición de calcio. El orden es $0,93 > 0,95 > 0,97$.
- Interacción a_w /escaldado: la a_w tiene un mayor efecto en la $F_{\max}$ cuando las muestras son sometidas al tratamiento térmico. Para $a_w=0,93$ este efecto es mayor que para $a_w=0,97$.
- Interacción escaldado/calcio: Cuando las muestras no fueron sometidas a escaldado, el aumento de $F_{\max}$ depende mucho de la adición de calcio. Cuando son escaldadas, la $F_{\max}$ es mayor cuando tiene adicionado calcio que cuando no lo tiene.

En la **Tabla 8** utilizando SACAROSA en la impregnación de las muestras, puede observarse que existe diferencia significativa para los efectos calcio y escaldado, no así para el efecto a_w . Existen interacciones significativas cruzadas a_w -escaldado y calcio-escaldado

Tabla 8 :Análisis de varianza para la $F_{\max}$ de frutillas con tratamientos de impregnación con sacarosa

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Efectos:				
A: a_w	2	3,1505	1,5751	2,62
B:Calcio	1	79,3884	79,3884	132,17*
C:Escaldado	1	29,2604	29,2604	48,71*
Interacción:				
AB	2	1,2517	0,6258	1,04
AC	2	111,2141	55,6070	92,57*
BC	1	91,4551	91,4551	152,25*
ABC	2	6,9544	3,4772	5,78*
Residual	84	50,4556	0,6006	
Total	95	373,1300		

gl: grados de libertad

* : significativo al nivel 5%

CM: cuadrado medio

SC: suma de cuadrados

Por aplicación del Test de Tukey, se observa que:

- a_w : todos los niveles son grupos homogéneos, no existen diferencias significativas
- Calcio: existe diferencia significativa. $F_{máx}$ con calcio > $F_{máx}$ sin calcio
- Escaldado: existe diferencia significativa. $F_{máx}$ con escaldado > $F_{máx}$ sin escaldado
- Interacción a_w /escaldado: Para $a_w = 0,95$ y $a_w = 0,97$, $F_{máx}$ es mayor cuando las muestras se tratan térmicamente. Para $a_w = 0,93$, la $F_{máx}$ es mayor cuando no es tratada térmicamente.
- Interacción Ca/escaldado: existe gran influencia de la adición de calcio en $F_{máx}$ cuando la muestra no es tratada térmicamente. No sucede lo mismo con las muestras escaldadas que mantienen aproximadamente el mismo valor de $F_{máx}$.

El análisis de los datos de $F_{máx}$ cuando se utiliza JARABE DE GLUCOSA puede observarse en la **Tabla 9**. Para todos los factores aplicados, los resultados del análisis denotan alto nivel de significación. No existe interacción entre los efectos.

Tabla 9: Análisis de varianza para la $F_{máx}$ de frutillas con tratamientos de impregnación con jarabe de glucosa (muestras VJ5, VJ7, VJ5C y VJ7C).

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Efectos:				
A: a_w	1	3,6025	3,6025	7,55*
B:Calcio	1	2,0503	2,0503	6,12*
Interacción:				
AB	1	0,0253	0,0253	0,076
Residual	28	9,3781		
Total	31	13,9855	0,4712	

gl: grados de libertad

* : significativo al nivel 5%

CM: cuadrado medio

SC: suma de cuadrados

La aplicación del Test de Tukey muestra los siguientes resultados:

- a_w : existe diferencia significativa entre los niveles aplicados. $F_{máx} a_w 0,97 > F_{máx} a_w 0,95$
- Calcio: existe diferencia significativa. $F_{máx} \text{ con calcio} > F_{máx} \text{ sin calcio}$.

De acuerdo con los análisis de los ANOVA y los Test de Tukey aplicados para todos los tratamientos, si bien existen algunos resultados que son poco claros pueden obtenerse las siguientes conclusiones generales:

Con respecto al tipo de azúcar utilizado en cada tratamiento, se presentan diferencias significativas si se utiliza glucosa o sacarosa, no existiendo diferencias entre glucosa y jarabe de glucosa.

El nivel de a_w no presenta un comportamiento homogéneo en todos los tratamientos. En el caso de glucosa y jarabe de glucosa tiene un efecto significativo pero no es significativo para sacarosa.

En las muestras tratadas con glucosa y jarabe de glucosa el aumento de la $F_{máx}$ es coincidente con el contenido de agua, no sucediendo lo mismo con las muestras impregnadas con sacarosa a pesar de que, como era de esperarse, a mayor reducción de a_w fue menor el contenido de humedad.

La adición de iones calcio en todos los casos favorece el mantenimiento o aumento de la calidad textural, lo cual indicaría la conservación de la estructura de la pared celular por la ocurrencia, según algunos autores, de entrecruzamiento entre los iones Ca^{+2} y los grupos carboxilo libres de las sustancias pécticas.

El escaldado, tanto en las muestras impregnadas con glucosa o con sacarosa, es favorable para el mantenimiento de la textura interactuando en su efecto con los otros factores considerados (nivel de a_w y adición de iones calcio).

Se observa para sacarosa que $F_{máx}$ tiene un comportamiento opuesto al de glucosa y jarabe de glucosa cuando las muestras fueron escaldadas. Ello podría deberse, en parte, al efecto de hidrólisis de la sacarosa catalizada por los sistemas enzimáticos y/o los ácidos orgánicos presentes en la frutilla de acuerdo a lo observado en el ítem 4.3.4.2.

El efecto de la impregnación con escaldado previo y con adición de calcio arrojó valores ligeramente mayores después del proceso al observado en el ítem 4.2 con respecto a la $F_{\text{máx}}$ de la frutilla escaldada. Debe tenerse en cuenta sin embargo, que en esta etapa se trabajó con frutillas de distinta variedad y con diferente grado de madurez.

Se ha reportado que la PE incrementa su actividad a medida que avanza la maduración del estado verde al estado maduro temprano pero disminuye en el estado maduro de "senescencia" (Barnes y Patchett, 1976).

En esta segunda parte se trabajó con frutillas un poco más maduras que para la primer parte las cuales tendrían entonces una mayor cantidad de PE.

La formación de grupos carboxilo libres por la activación térmica de la enzima incrementaría la ocurrencia de interacciones entre el calcio y los polímeros pécticos aumentando la rigidez.

Para glucosa y sacarosa la adición de Ca^{2+} incrementó la $F_{\text{máx}}$ en distinto grado dependiendo si la muestra había sido escaldada o no. El tratamiento térmico, al romper las vacuolas, liberaría calcio endógeno que quedaría disponible para interactuar con las pectinas demetiladas teniendo menos influencia la adición de calcio exógeno

4.3.2 Análisis de la ganancia de sólidos, la pérdida de agua y la reducción de peso.

Se realizó el cálculo de la ganancia de sólidos (GS), la pérdida de agua (PA) y la reducción de peso (RP) de las muestra a los seis días del tratamiento de impregnación con glucosa, sacarosa y jarabe de glucosa, cuando se había ya alcanzado el equilibrio de a_w entre el medio y la fruta. Los datos pueden observarse en la **Tabla 1.6 del Anexo 1**.

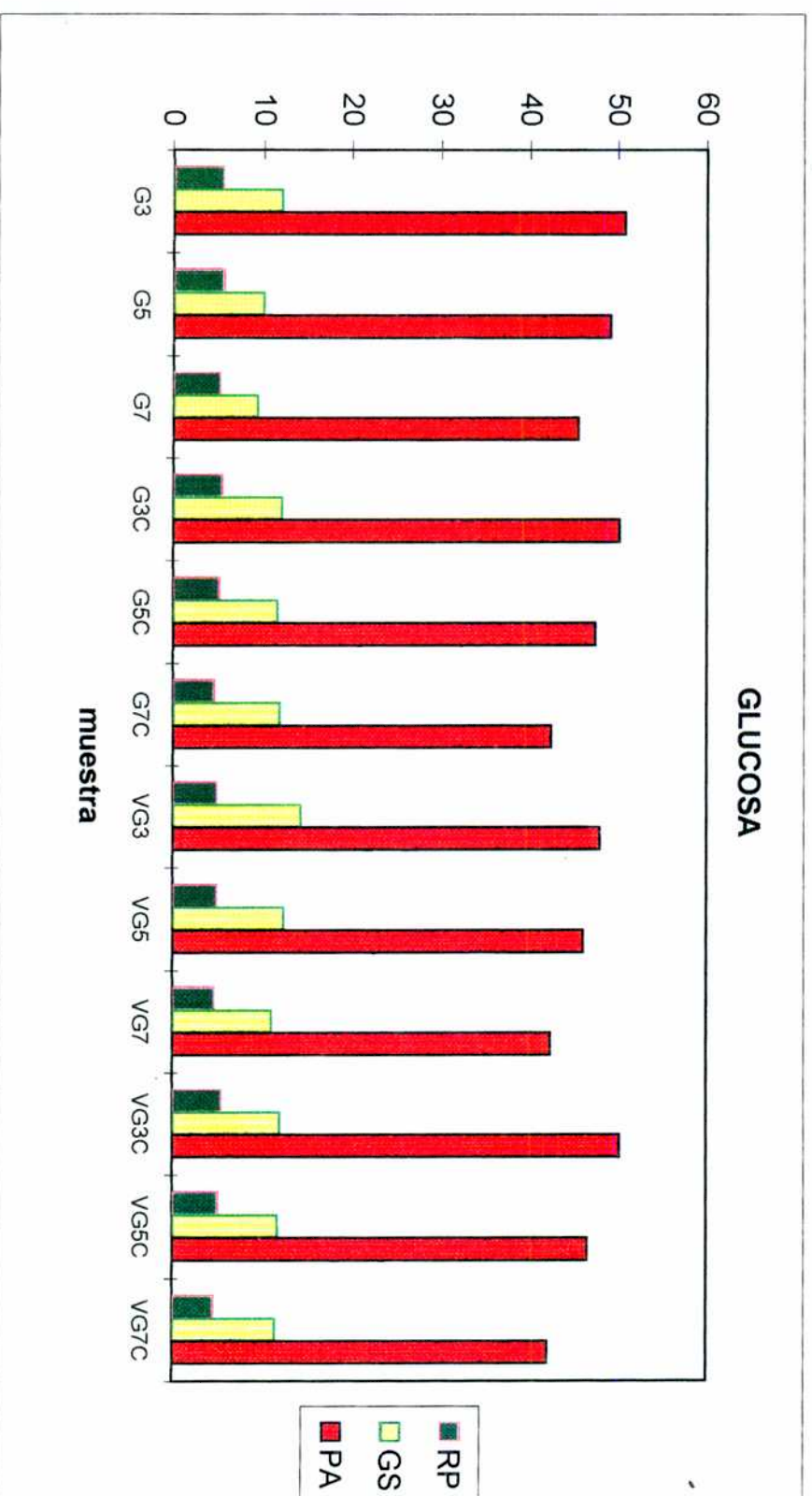
Para las muestras impregnadas con glucosa (**Figura 8-A**) la pérdida de agua es mayor a medida que se reduce la a_w . Los valores de ganancia de sólidos presentan el mismo comportamiento que los valores de pérdida de agua en las muestras sin calcio agregado. En las muestras con adición de calcio los valores son aproximadamente iguales. La reducción de peso es similar para todos los tratamientos de impregnación con glucosa.

Para las muestras impregnadas con sacarosa (**Figura 8-B**) y con tratamiento térmico, la ganancia de sólidos es mayor para las muestras de $a_{w\text{eq}} = 0,93$. Para las que no han sido tratadas térmicamente, independientemente del valor de la $a_{w\text{eq}}$, la ganancia de sólidos es similar.

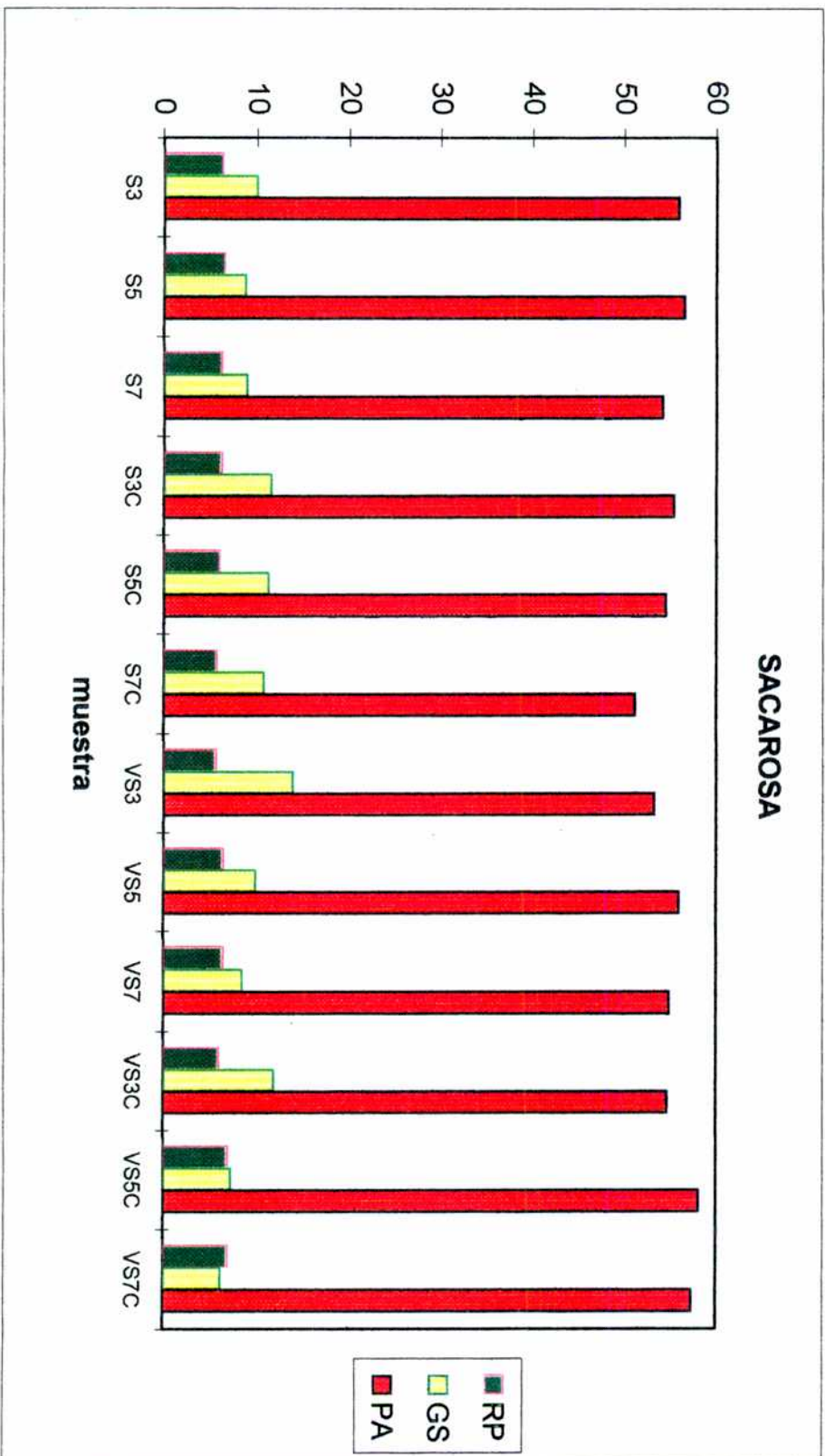
Figura 8 : Ganancia de sólidos (GS)(g/100g fruta fresca); pérdida de agua (PA)(g/100g fruta fresca) y reducción de peso (RP)(g/100g sólidos iniciales) de las frutillas con distintos tratamientos.

- A)** muestras impregnadas con glucosa,
B) muestras impregnadas con sacarosa,
C) muestras impregnadas con jarabe de glucosa.

A)



B)



c)

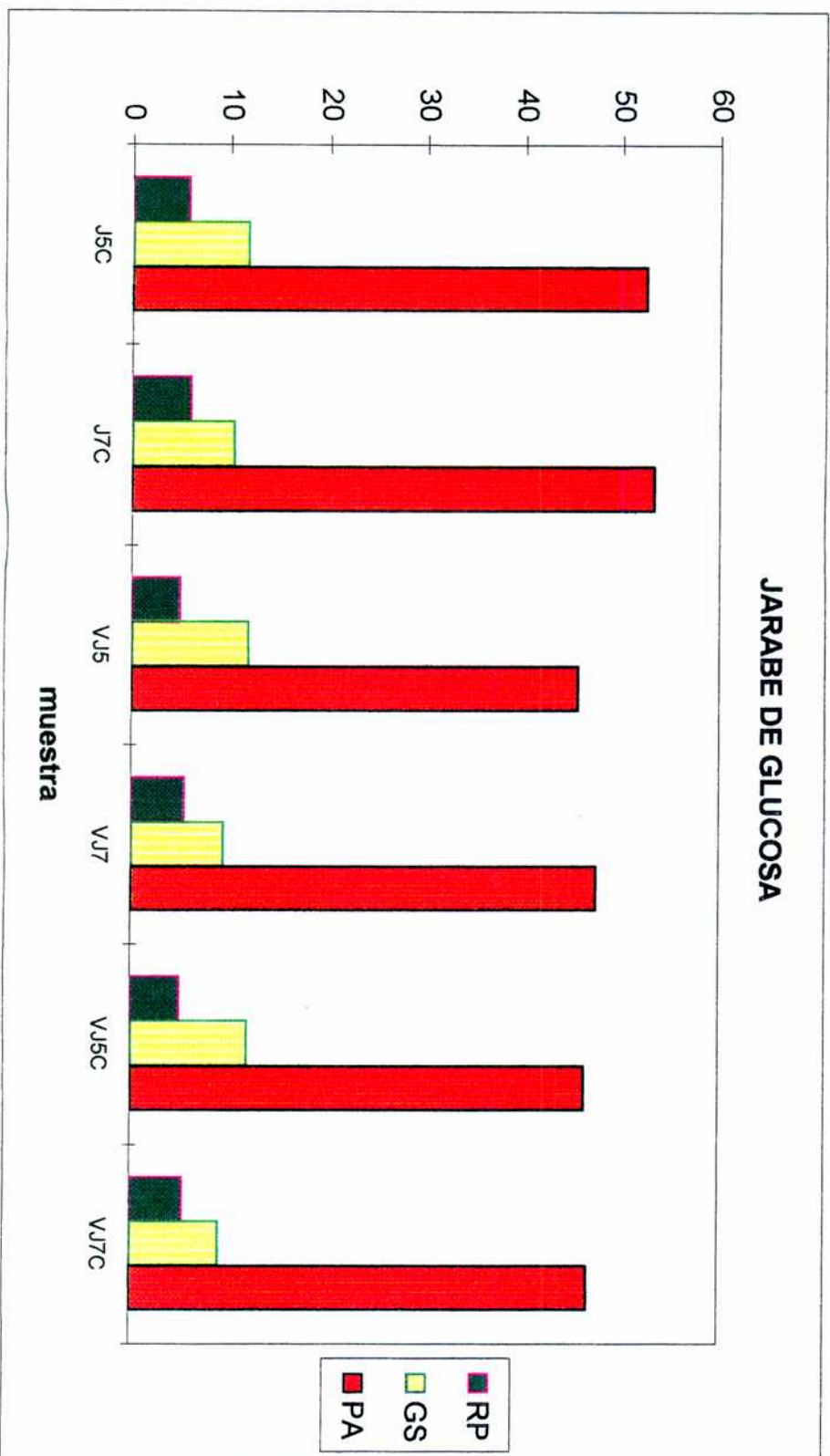
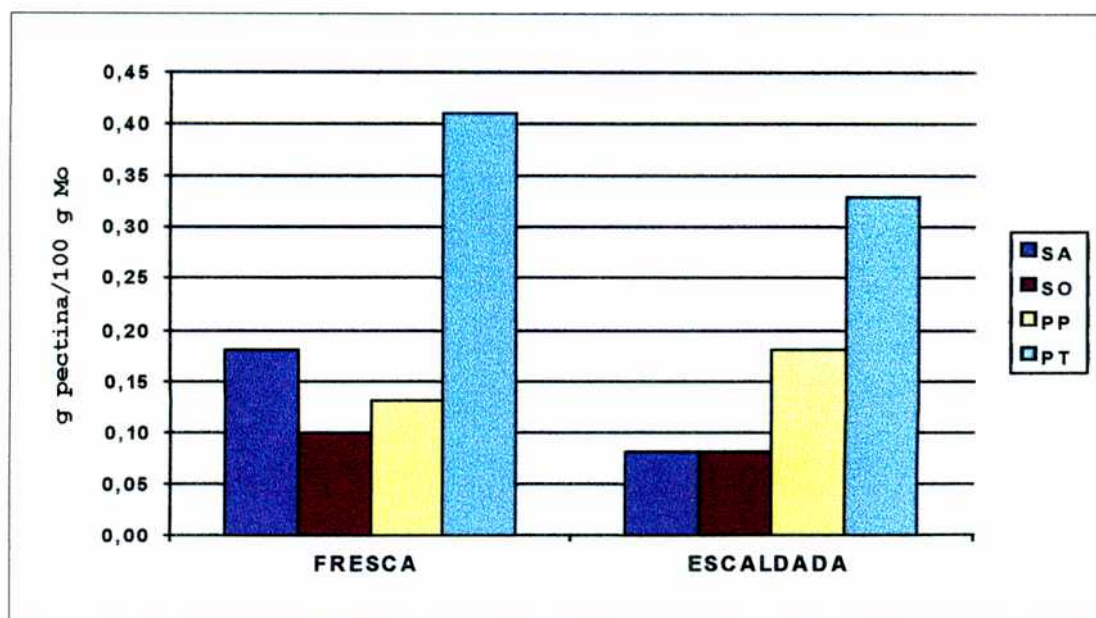
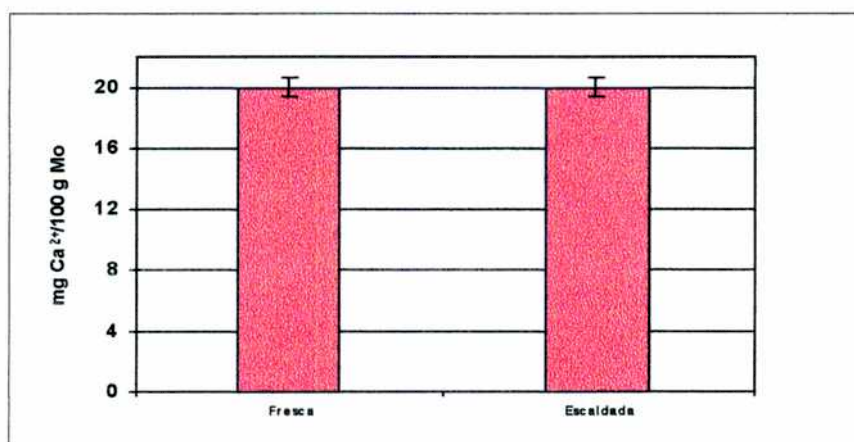


Figura 9: Frutilla fresca y frutilla escaldada en vapor: **A)** Valores promedio de contenido de pectina total (PT), fracción soluble en agua (SA), fracción soluble en álcali (SO) y fracción insoluble (PP). **B)** Valores promedio del contenido de calcio. **C)** Valores promedio de Fmáx.

A)



B)



C)

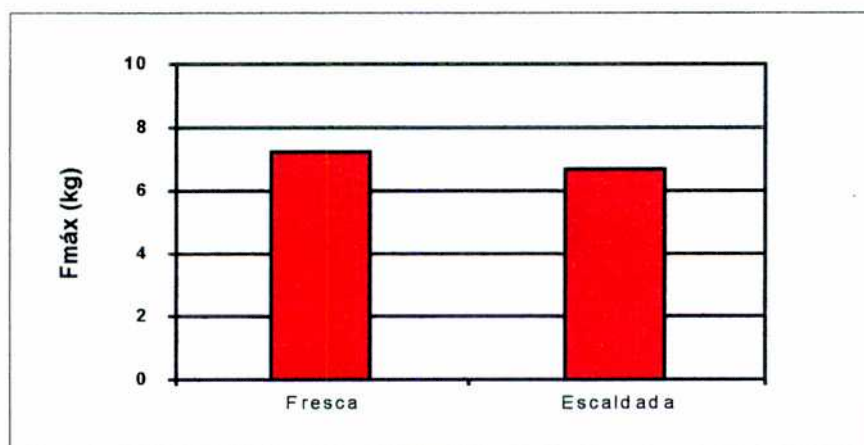
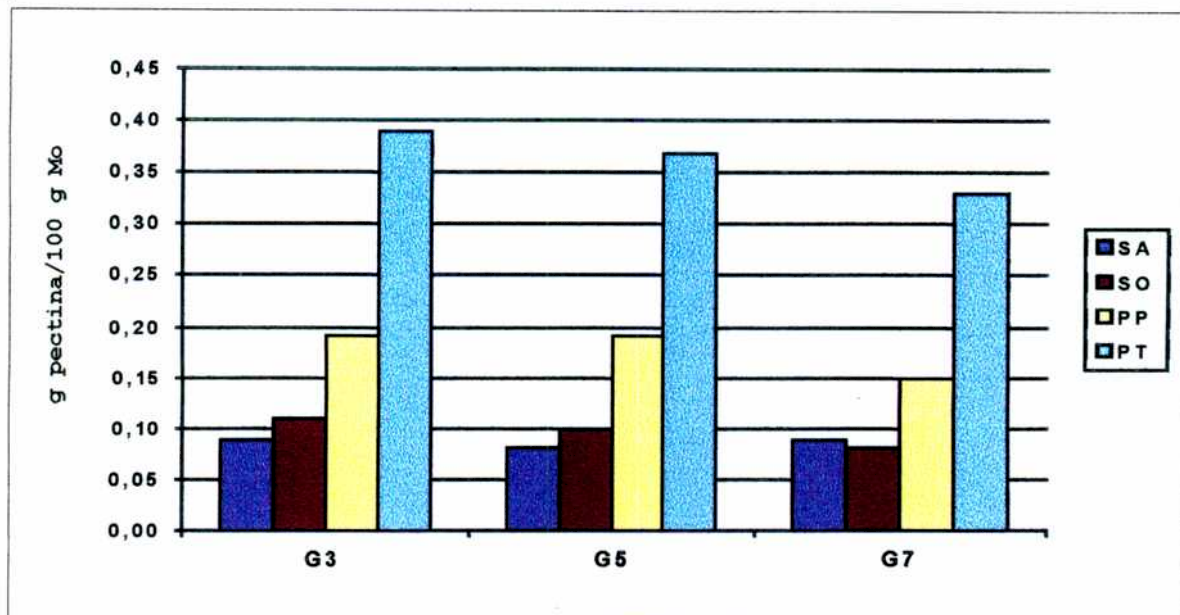
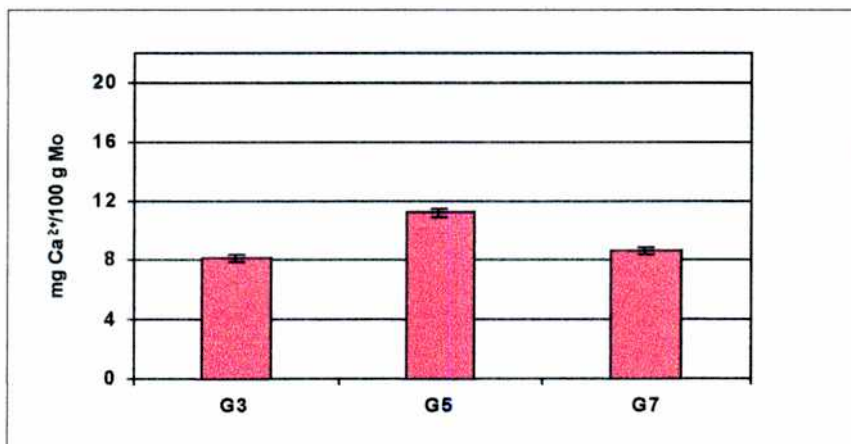


Figura 10: Muestras G3, G5 y G7: **A)** Valores promedio de contenido de pectina total (PT), fracción soluble en agua (SA), fracción soluble en alcali (SO) y fracción insoluble (PP). **B)** Valores promedio del contenido de calcio. **C)** Valores promedio de $F_{m\acute{a}x}$.

A)



B)



C)

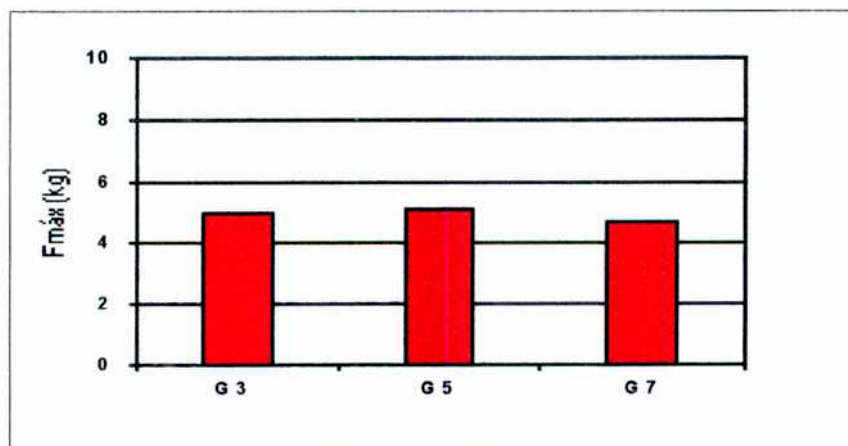
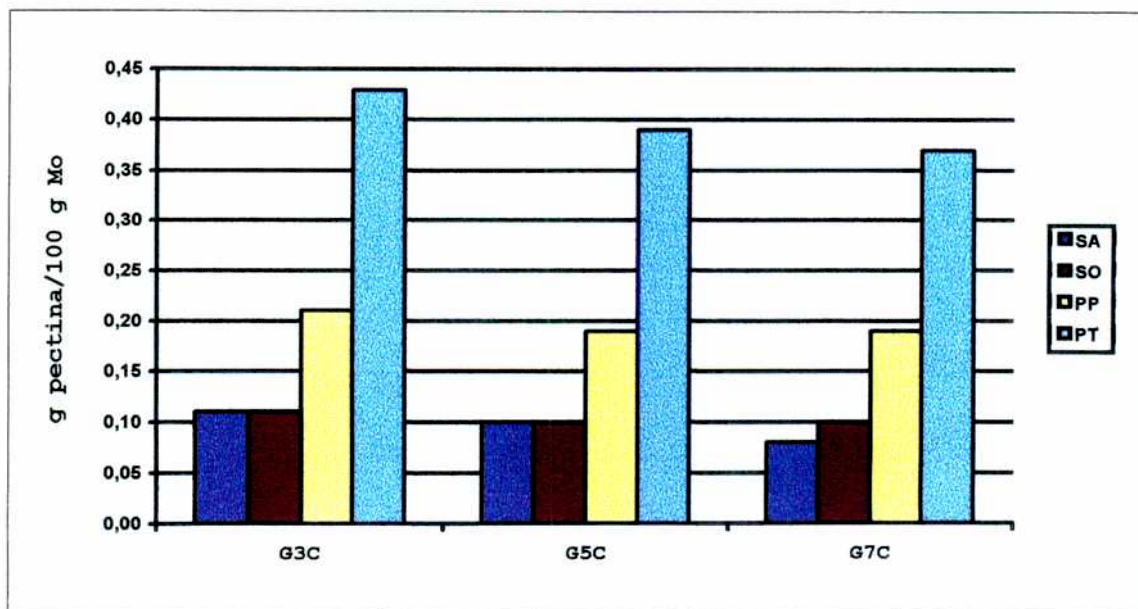
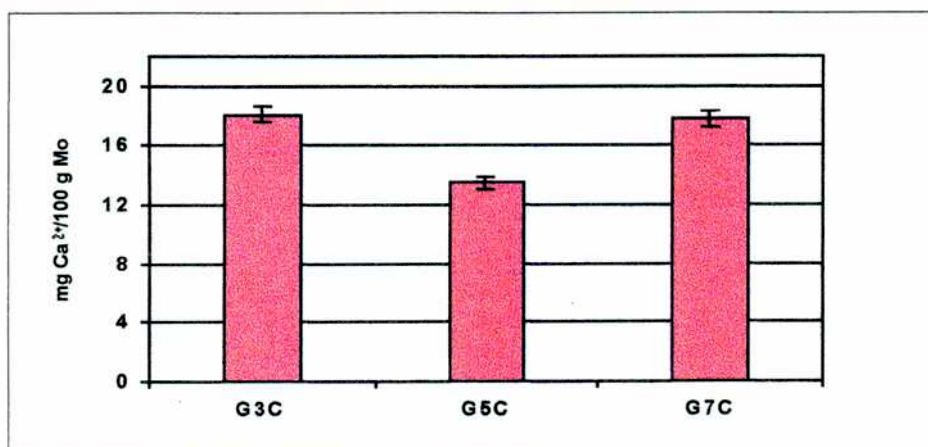


Figura 11 : Muestras G3C, G5C y G7C. **A)** Valores promedio de contenido de pectina total (PT), fracción soluble en agua (SA), fracción soluble en álcali (SO) y fracción insoluble. **B)** Valores promedio del contenido de calcio. **C)** Valores promedio de $F_{m\acute{a}x}$.

A)



B)



C)

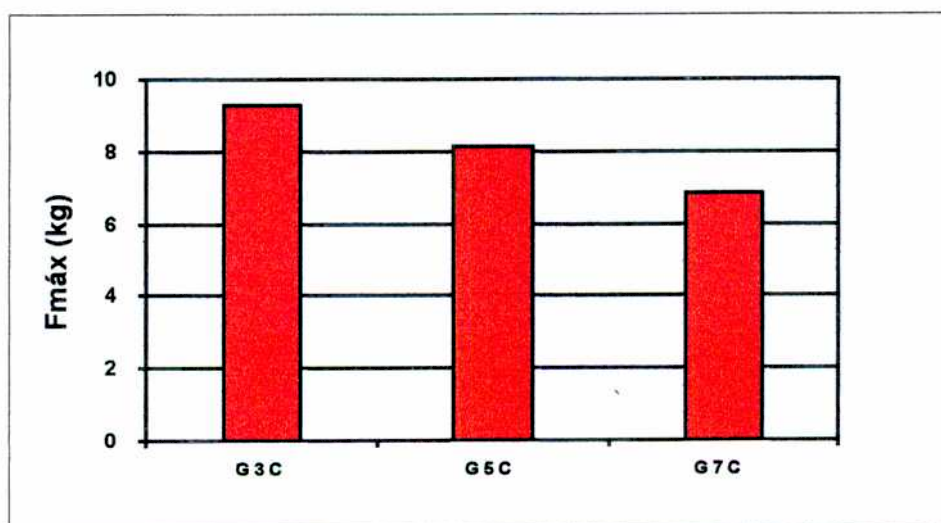


Figura 12 : Muestras VG3, VG5 y VG7. **A)** Valores promedio de contenido de pectina total (PT), fracción soluble en agua (SA), fracción soluble en álcali (SO) y fracción insoluble (PP) **B)** Valores promedio del contenido de calcio. **C)** Valores promedio de F_{máx}.

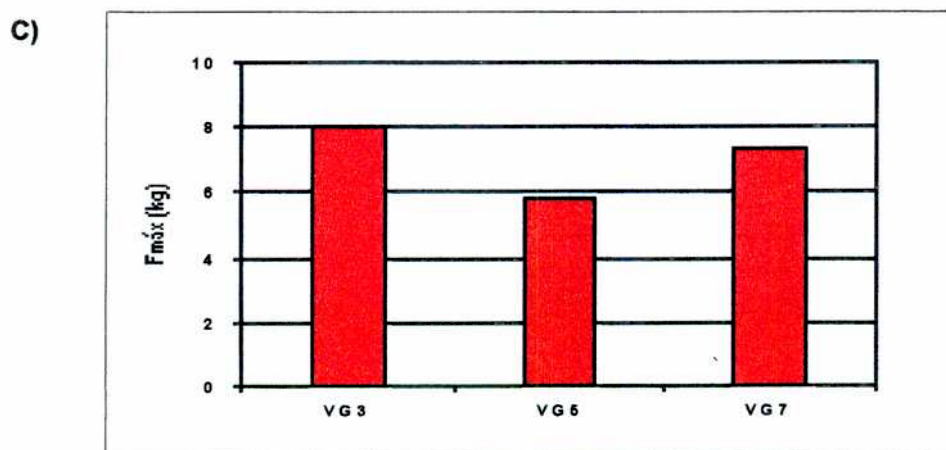
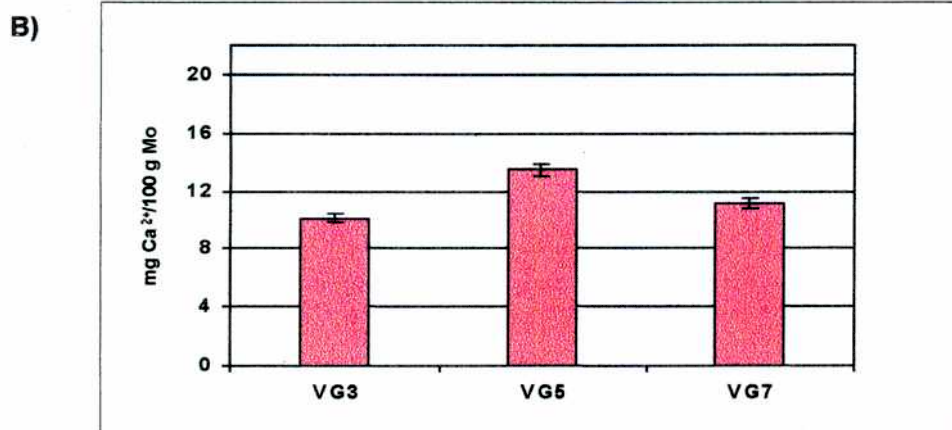
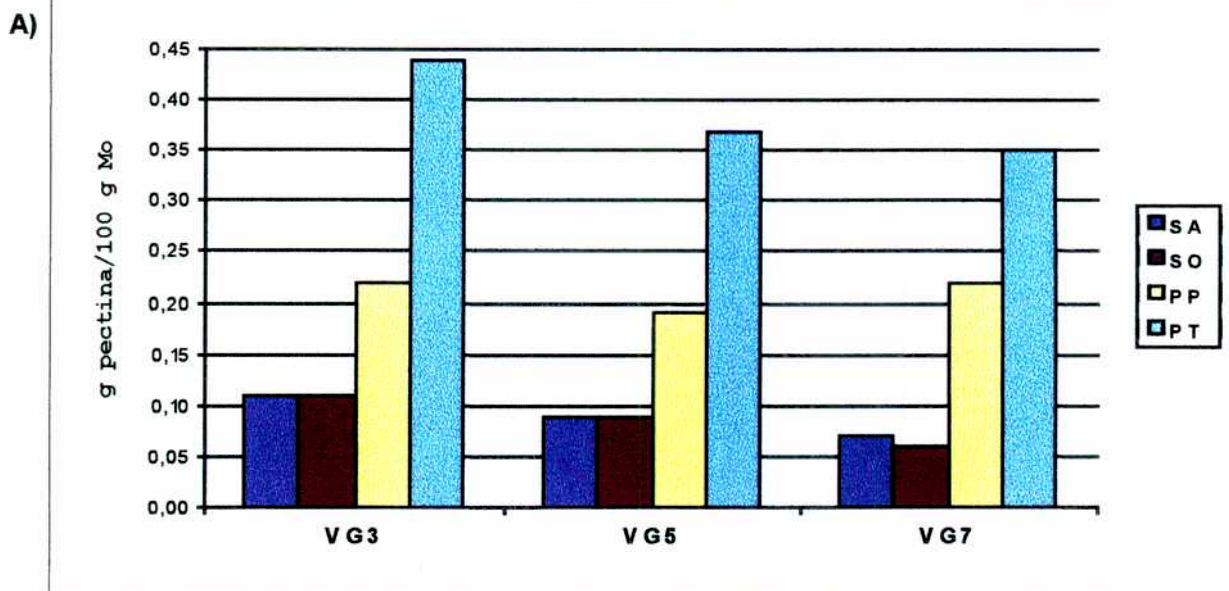
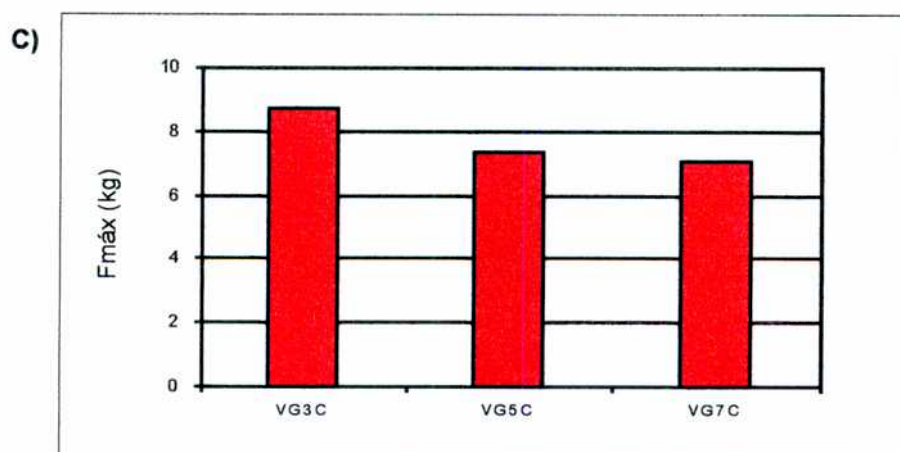
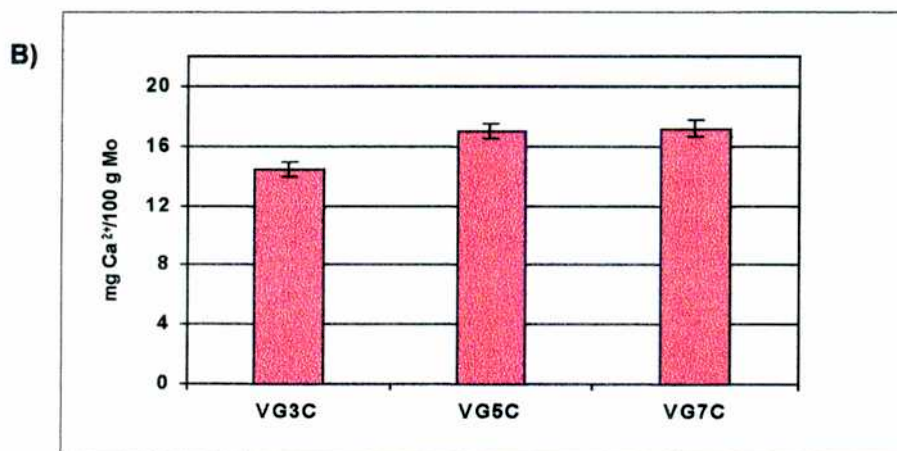
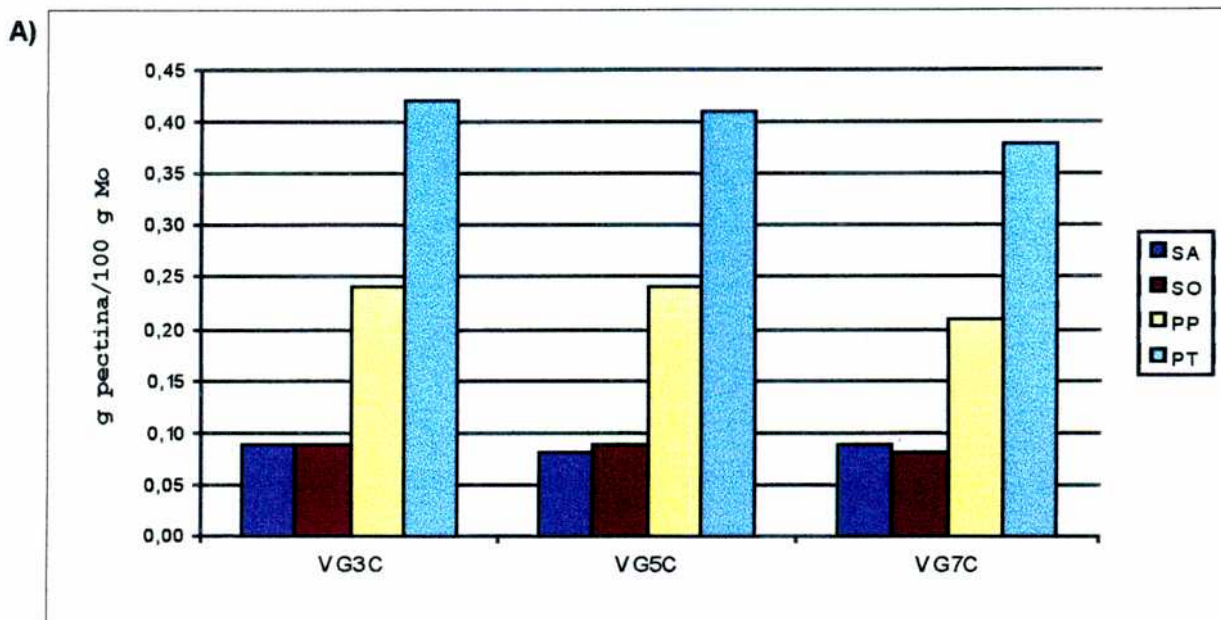


Figura 13. Muestras VG3C, VG5C y VG7C. **A)** Valores promedio de contenido de pectina total (PT), fracción soluble en agua (SA), fracción soluble en alcali (SO) y fracción insoluble (PP). **B)** Valores promedio del contenido de calcio. **C)** Valores promedio de Fmáx.



La **Figura 9-C** muestra los valores de $F_{\text{máx}}$ para la fruta fresca y la escaldada. Considerando las desviaciones estándar, no existiría diferencia significativa entre ambos valores.

En la **Figura 10-A** la fracción PP es mayor que en la fruta fresca para las muestras G3 y G5 y la fracción SA es menor en todos los casos. La fracción SO disminuyó levemente en el ensayo G7.

Los contenidos de calcio disminuyeron respecto del de la frutilla fresca (**Figura 10-B**).

Los valores de concentración de calcio son mayores que para las muestras G3, G5 y G7 pero inferiores a los de la fruta fresca (**Figura 11-B**).

Las características texturales son también mejores (**Figura 11-C**), que para la fruta fresca y para la fruta con igual tratamiento de impregnación pero sin calcio, siendo la $F_{\text{máx}} G3C_1 > F_{\text{máx}} G7C_1$ y $> F_{\text{máx}} G5C_1 > F_{\text{máx}} G7C_1$.

En la **Figura 11-A** pueden observarse las variaciones de las fracciones de pectina para las muestras $G3C_1$, $G5C_1$ y $G7C_1$. La fracción SO fue igual a la de la fruta fresca en todas las muestras adicionadas. La fracción SA fue menor a la de la fruta fresca, siendo esta disminución más acentuada en la muestra $G7C_1$. La fracción PP fue mayor en la del testigo en todas las muestras y similar entre ellas.

En las muestras escaldadas, sin y con la adición de calcio (**Figuras 12-A y 13-A respectivamente**), la fracción de PP es superior a la de la frutilla fresca y la fracción de SA es inferior; la fracción de SO es similar.

La concentración de calcio para las muestras $VG3C_1$, $VG5C_1$ y $VG7C_1$ (**Figura 13-B**), es mayor que para aquellas que no fueron adicionadas (**Figura 12-B**) pero menor que para la fruta fresca.

Los valores de $F_{\text{máx}}$ para las muestras de a_{weq} 0,93 (**Figura 12-C y Figura 13-C**) son ligeramente superiores a los de la frutilla fresca.

Se realizó un análisis de regresión múltiple comprobándose que no existe relación lineal entre $F_{\text{máx}}$, PT y contenido de calcio. Sin embargo puede existir correlación entre cada par.

Se determinó el coeficiente de correlación entre $F_{\text{máx}}$ -PT; $F_{\text{máx}}$ -Ca; PT-Ca y $F_{\text{máx}}$ -PP y se analizó su grado de significación para una probabilidad de 0,05 por medio de un test de hipótesis calculando el estadístico t_s .

En la **Tabla 10** pueden observarse los valores de r , r^2 y t_s . Existe una correlación lineal entre $F_{\text{máx}}-\text{PT}$, $F_{\text{máx}}-\text{Ca}$ y $F_{\text{máx}}-\text{PP}$.

Tabla 10: Coeficiente de correlación entre firmeza, contenido de PT, contenido de calcio y de PP.

		PT	Calcio	PP
$F_{\text{máx}}$	r	0,6245	0,6303	0,5558
	r^2	39,02	39,73	30,9
	t_s	2,7709*	2,8125*	2,3163*
PT	r	-----	0,3726	-----
	r^2	-----	13,89	-----
	t_s	-----	1,3911 NS	-----

* significativo al nivel $\alpha = 0,05$

NS no significativo

$t_{(12,0.05)} = 2,17$

No existe correlación entre cantidad de calcio y de pectina total ($t_s < t_{(12,0.05)}$).

La desesterificación produce materiales pécticos que son menos solubles y por lo tanto puede considerarse que actúan más eficientemente en el reforzamiento intercelular (van Buren, 1974). En general, cuanto mayor es la cantidad de pectina insoluble más firme es la textura.

La pectina soluble, con grupos carboxilo libres, puede insolubilizarse por "cross-linking" a polímeros adyacentes con cationes divalentes como calcio o magnesio.

Los sólidos insolubles en alcohol disminuyeron en la frutilla escaldada respecto de la frutilla fresca (2,07% p/p versus 3,01% p/p, base Mo). Las muestras G5 y G7 tuvieron valores similares a los de la fruta fresca y en el resto de las muestras los SIA aumentaron (3,20% p/p - 5,19% p/p, base Mo). Estos datos pueden observarse en la **tabla 1.3** del **Anexo 1**.

Puede concluirse:

- Respecto de las cantidades de calcio presentes en las muestras, las determinaciones analíticas arrojaron resultados esperados. La frutilla fresca y la frutilla escaldada tuvieron el mismo contenido (20 mg/100g frutilla). En las muestras con el agregado de calcio los valores fueron significativamente superiores a los de las muestras que no fueron adicionadas, y que sufrieron el mismo tratamiento, pero inferiores a los de la fruta fresca. Probablemente, los menores valores de contenido

de calcio en las muestras impregnadas se deban parcialmente a la pérdida de calcio por difusión al medio de impregnación.

- Respecto de la composición de pectinas, todos los tratamientos implican una disminución apreciable de la concentración de la fracción SA y un aumento de la concentración de la fracción PP, mientras que no hubo variación en la concentración de la fracción SO. La difusión al medio de impregnación y/o al agua de enfriamiento durante el escaldado explicaría en parte la disminución de la concentración de las pectinas solubles en agua. El aumento de la concentración de protopectinas podría estar basado en las siguientes observaciones. La protopectina está esterificada en menor grado que las otras dos fracciones y es insoluble en agua, presumiéndose que está fuertemente ligada a hemicelulosas y a la celulosa (Ilker y Szczesniak, 1990; Albersheim y col, 1960). La suma de las fracciones sólo dan cuenta de parte de la pectina total. Ello se debe a la existencia de "pectina no extraíble", que consiste en una pectina insoluble difícil de cuantificar por las técnicas de solubilización diferencial, que son las que aquí se emplearon (Proctor y Peng, 1989). Los tratamientos de escaldado y/o impregnación podrían aumentar la extractabilidad de esta pectina "no extraíble. Por otro lado, Levi y col (1988) reportaron que el escaldado afectó significativamente la fracción PP en duraznos, siendo el contenido de la misma mayor que en la fruta fresca después de 5 minutos de escaldado debido probablemente a la estabilización de la PP. Tiempos de escaldado mayores, sin embargo, condujeron a una extensiva degradación de pectina inducida por el calor.

4.3.4 Análisis de la pérdida de peso, variación de humedad, contenido de azúcares, ganancia de sólidos y pérdida de agua de las frutillas durante la impregnación con glucosa y con sacarosa.

Las determinaciones se llevaron a cabo en frutillas tratadas con sacarosa o con glucosa para alcanzar $a_{\text{waq}} = 0,95$, con adición de calcio como lactato de calcio a un nivel del 0,1% p/p, escaldadas con vapor y sin escaldar (G5C₁, VG5C₁, S5C₁ y VS5C₁). Los análisis se realizaron durante 168 horas de impregnación para muestras tratadas con glucosa y 171 horas para muestras tratadas con sacarosa. Los tiempos intermedios fueron 2, 3, 4, 5, 6, 7, 17, 24, 48, 72 y 96 horas.

4.3.4.1 Pérdida de peso

A los efectos del cálculo de la pérdida de peso (PPe) de las muestras, se consideró el peso inicial de fruta utilizada y el peso a cada tiempo de impregnación (**item 3.11, Materiales y métodos**). Los datos obtenidos pueden observarse en la **tabla 1.7.1 del Anexo 1**.

Todas las muestras presentaron un comportamiento similar (**Figuras 14, 15, 16 y 17**). Estas curvas se ajustaron con una ecuación logarítmica de la forma:

$$y=a \ln x+ b.$$

donde y = pérdida de peso; x = tiempo de impregnación; a, b = constantes de ajuste.

Para estos ajustes los valores de R^2 fueron superiores a 0,92. La bondad del ajuste puede observarse también en las **figuras 14, 15, 16 y 17**. Los valores de pérdida de peso al final del tratamiento para las muestras impregnadas con glucosa fueron menores que para aquellas en las cuales la impregnación se realizó con sacarosa. A su vez, para las muestras impregnadas con sacarosa la pérdida de peso a las 171 horas fue ligeramente mayor en las muestras que no habían sido tratadas térmicamente. En el caso de las muestras impregnadas con glucosa no se observó tal diferencia.

Las ecuaciones de ajuste de la pérdida de peso en función del tiempo de impregnación para cada tratamiento se detallan a continuación:

- Muestra G5C₁: $y = 12,815 \ln (x) - 13,65$ $R^2: 0,92$
- Muestra VG5C₁: $y = 10,801 \ln (x) - 4,1566$ $R^2: 0,95$
- Muestra S5C₁: $y = 15,249 \ln (x) - 4,4192$ $R^2: 0,97$
- Muestra VS5C₁: $Y = 12,319 \ln (x) + 5,3754$ $R^2: 0,95$

En las **Figuras 16 y 17** pueden compararse más fácilmente los datos de las muestras escaldadas con vapor e impregnadas con glucosa o con sacarosa y con la adición de calcio (VG5C₁ y VS5C₁) y de las muestras sin escaldar e impregnadas con glucosa o con sacarosa y con la adición de calcio (G5C₁ y S5C₁).

La igualdad o la diferencia de las curvas obtenidas se analizó por medio de la prueba de comparación de a pares, considerando que las muestras no eran independientes. Los individuos eran los mismos. Las muestras que se analizaron fueron las que estaban tratadas térmicamente y tenían como agente de impregnación glucosa o sacarosa (VG5C₁-VS5C₁) y por otro lado muestras sin tratar térmicamente e impregnadas con los dos azúcares (G5C₁-S5C₁).

En las muestras tratadas térmicamente y con distinto agente de impregnación existió diferencia significativa entre las curvas ($\alpha < 0,05$), obteniéndose el mismo resultado en el caso en que las muestras no fueron tratadas térmicamente.

Figura 14 : Pérdida de peso de las muestras impregnadas con glucosa.

- ♦ sin tratamiento térmico
- con tratamiento térmico
- predicha.

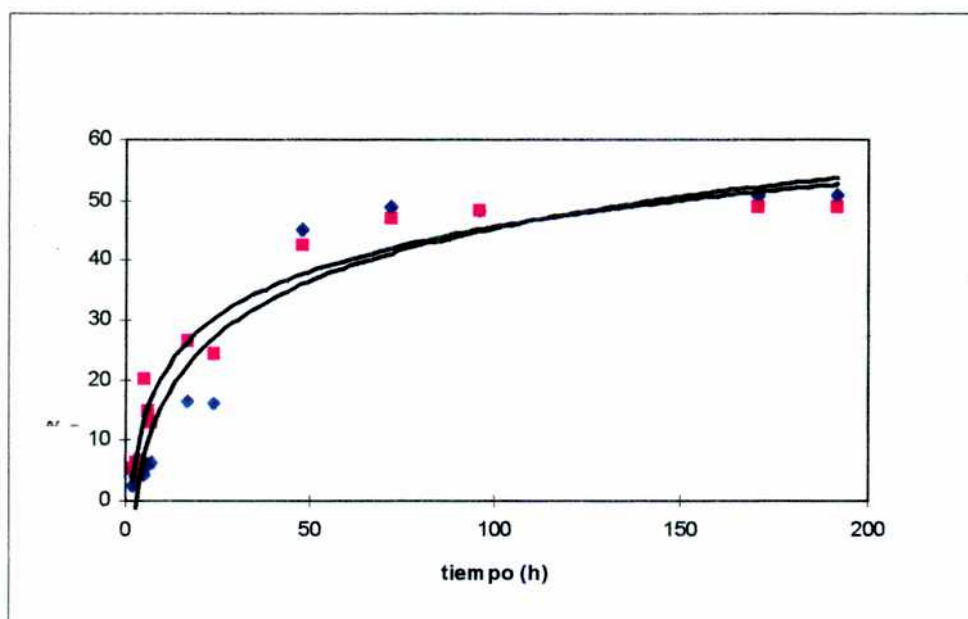


Figura 15 : Pérdida de peso de las muestras impregnadas con sacarosa.

♦ sin tratamiento térmico
 ■ con tratamiento térmico
 — predicha.

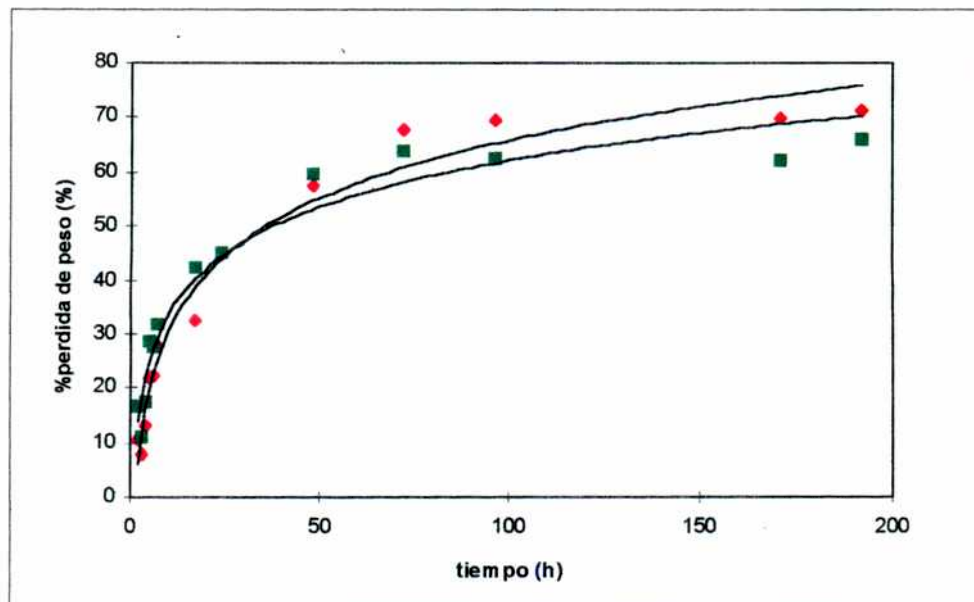


Figura 16: Pérdida de peso de las muestras con tratamiento térmico previo e impregnadas con sacarosa o con glucosa.

■ impregnada con sacarosa;
 ■ impregnada con glucosa;
 — predicha.

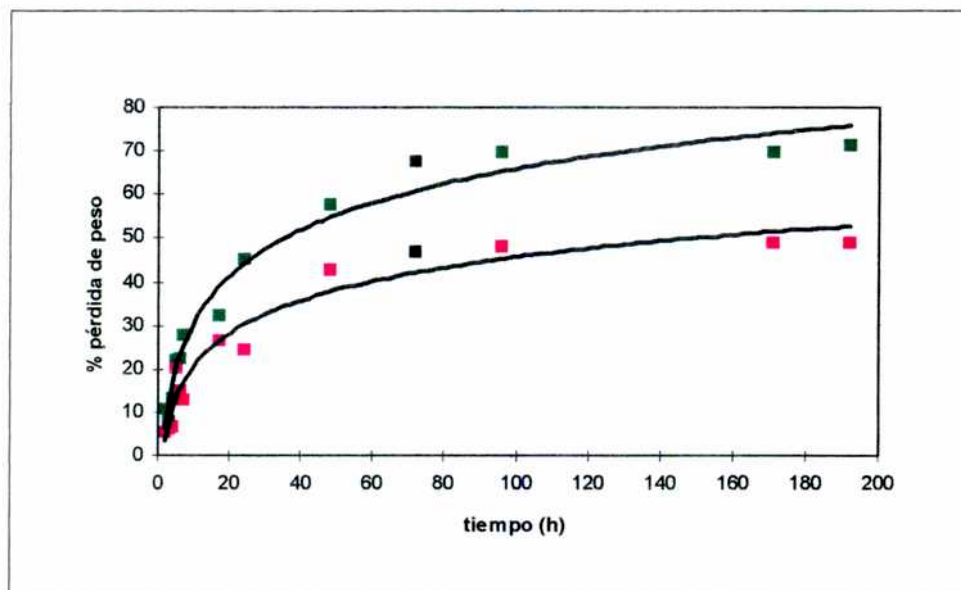
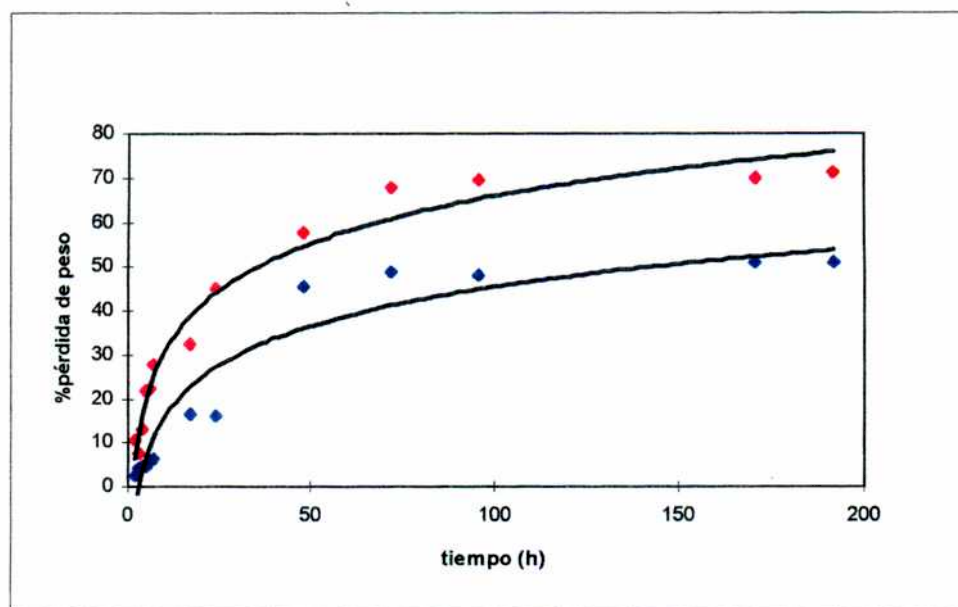


Figura 17: Pérdida de peso de las muestras sin tratamiento térmico previo e impregnadas con sacarosa y glucosa.

- ♦ impregnada con glucosa
- ♦ impregnada con sacarosa
- predicha.



4.3.4.2 Contenido de azúcares

Se analizaron los contenidos de glucosa, sacarosa y fructosa en las muestras G5C₁, VG5C₁, S5C₁ Y VS5C₁.

Los datos, referidos a la masa inicial de fruta (Mo) se observan en la **tabla 12** los datos referidos a la masa de fruta al t=t en la **tabla 1.7.2** del **Anexo 1**.

En las muestras impregnadas con glucosa, el contenido de glucosa aumentó en función del tiempo de impregnación siendo este incremento más pronunciado en las muestras previamente escaldadas. El contenido de fructosa disminuyó en función del tiempo y esta disminución fue más acentuada para las muestras tratadas térmicamente. No se detectó la presencia de sacarosa. La mayor incorporación de glucosa a la fruta y la mayor pérdida de fructosa de las muestras escaldadas pueden explicarse en base a la ruptura de las membranas celulares por el tratamiento térmico, fenómeno que disminuye la resistencia a la transferencia de masa, tanto de la glucosa al interior del lumen como de la fructosa nativa, presente mayoritariamente en la vacuola, al medio externo.

Para las muestras impregnadas con sacarosa se observó un aumento del contenido de glucosa y del contenido de fructosa en función del tiempo de impregnación, siendo este incremento ligeramente mayor en las muestras con tratamiento térmico.

Hasta las 7 horas de tratamiento no se detectó sacarosa en ninguna de las muestras. A las 25 horas se detectó en las muestras escaldadas y a las 96 horas en las muestras con y sin escaldado, siendo sin embargo mucho mayor el contenido de sacarosa en las muestras tratadas térmicamente.

Este perfil de azúcares indicaría que ha ocurrido una reacción de hidrólisis de la sacarosa en las muestras impregnadas, ya sea por vía enzimática o bien catalizada por los ácidos orgánicos de la fruta. Este resultado coincide con el resultado reportado por Montes de Oca y col (1991) y por Giangiacomo y col (1987).

Los primeros autores trabajaron en jugos de fruta pasteurizados, con ajuste de pH y disminución de la actividad de agua con sacarosa. Este humectante, usualmente utilizado en alimentos de humedad intermedia, se hidroliza por ruptura de los enlaces glicosídicos generando dos unidades de monosacáridos. Esto es importante porque modifica la a_w del alimento preservado y puede generar pardeamiento no enzimático con los correspondientes cambios de sabor y aroma. La hidrólisis depende únicamente del pH y no del tipo de ácido presente cuando se trabaja con ácidos inorgánicos.

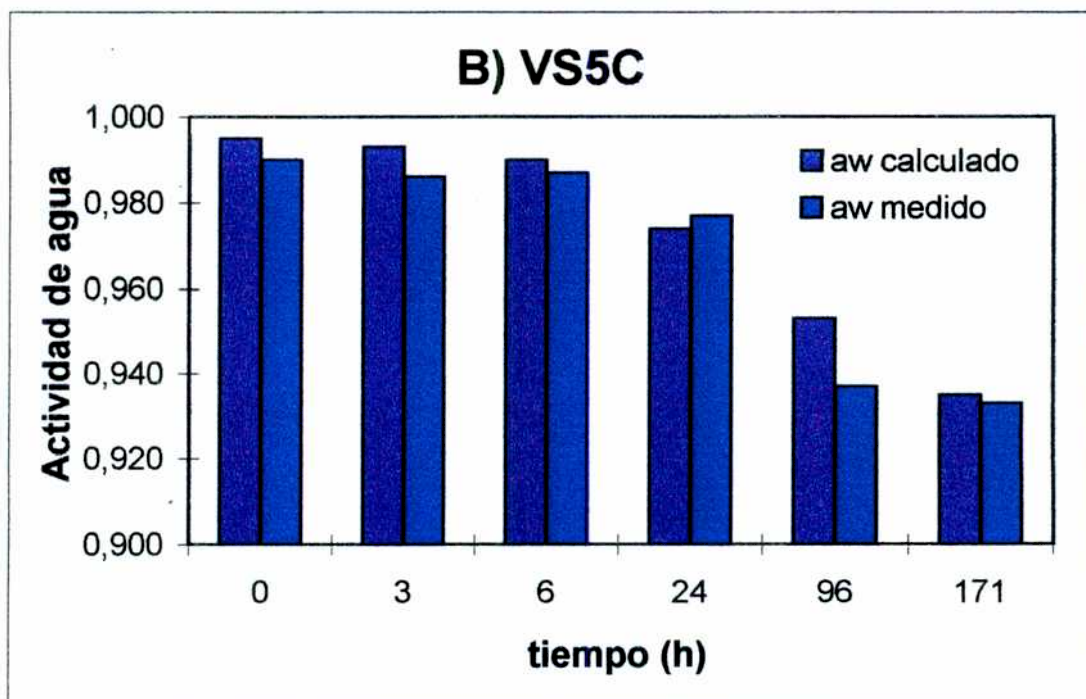
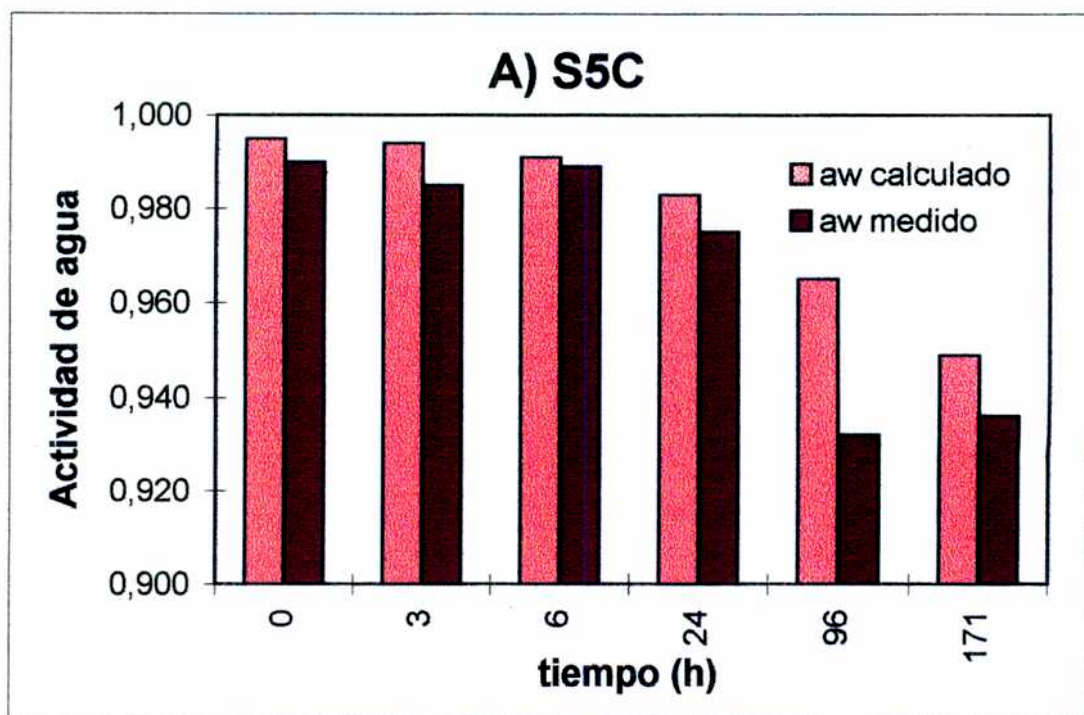
Por su parte, Giangiacomo y col (1987) encontraron que, en duraznos, ambas sacarosas, tanto la original como la que había penetrado por ósmosis, disminuían debido a la hidrólisis.

Se calcularon los valores de a_w de las muestras considerando que los únicos solutos responsables de la disminución de la a_w eran glucosa, fructosa y sacarosa usando la ecuación de Ross (1975). Los valores calculados en base a la composición de azúcares se muestran en la **Figura 18** conjuntamente con los valores medidos experimentalmente en las muestras. Se observa una concordancia bastante buena entre los datos medidos y los experimentales teniendo en cuenta la variabilidad biológica entre las muestras de los distintos tiempos, siendo en general los valores de a_w medidos ligeramente menores que los calculados. Podría deberse a la existencia de otros constituyentes de la frutilla que contribuyen a la disminución de la a_w .

Por otra parte los valores de a_w alcanzados a las 171 horas de tratamiento en las muestras tratadas con sacarosa fueron menores a la a_w de equilibrio que pretendía alcanzarse al considerar que no existía hidrólisis.

Este fenómeno debe ser tenido en cuenta cuando se comparan los datos entre sacarosa y los otros solutos utilizados en este trabajo de investigación, ya que las cantidades de sacarosa

Figura 18 : Valores de actividad de agua de las muestras durante la impregnación con sacarosa para llegar a $a_{w\text{eq}}=0,95$. **A)** sin escaldado **B)** con escaldado



agregada para alcanzar la a_{weq} no contempló la posibilidad de ocurrencia de esta reacción. Los valores teóricos de a_w si se considera la hidrólisis total de la sacarosa es 0,92.

4.3.4.3 Ganancia de sólidos , pérdida de agua y contenido de humedad

En la **Figura 19 a), b) c) y d)** se pueden observar los valores de la ganancia de sólidos (GS) y de la pérdida de agua (PA) de las muestras VS5C, S5C, VG5C y G5C respectivamente.

En todos los casos la pérdida de agua fue mucho mayor que la ganancia de sólidos al final del tratamiento de impregnación, indicando que el resultado neto durante el proceso de deshidratación por impregnación con solutos fue principalmente la remoción de agua.

En todas las muestras, a partir de las 72 horas de tratamiento, se observó que la PA se mantuvo aproximadamente constante, siendo este valor mayor en el caso de las muestras impregnadas con sacarosa (**Figura 19 a) y b)**.

La muestra G5C presentó un pico de aumento de pérdida de agua y de ganancia de sólidos a las seis horas de tratamiento (**Figura 19 c)** y un brusco aumento de pérdida de agua a las 48 horas.

La muestra VG5C presentó un pico de aumento de pérdida de agua a las 5 horas de tratamiento.

La **Figura 20 a)** representa los valores de contenido de humedad para las muestras en estudio durante el tiempo de impregnación. Las muestras impregnadas con glucosa mostraron mayor contenido de humedad que las impregnadas con sacarosa para todos los tiempos considerados.

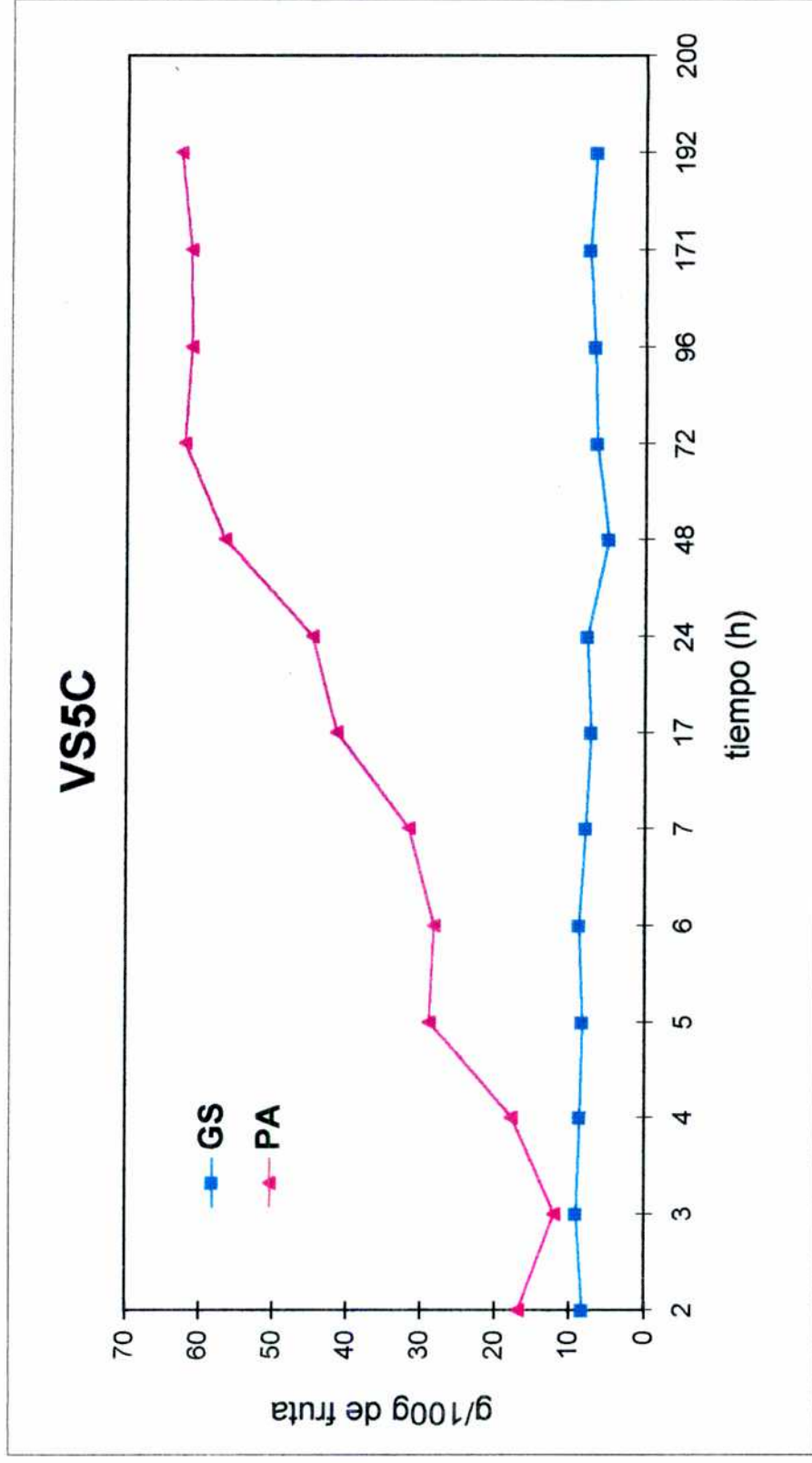
En el detalle de las primeras 17 horas de impregnación que se muestra en la **Figura 20 b)**, se pueden observar las oscilaciones que sufrió este parámetro en las muestras tratadas con glucosa. Esto se refleja en los parámetros calculados y graficados en la **Figura 19 c) y d)**.

Hubo una disminución pronunciada en la humedad entre las 5 y 17 horas de tratamiento para ambas muestras con o sin tratamiento térmico y luego un aumento brusco de este parámetro.

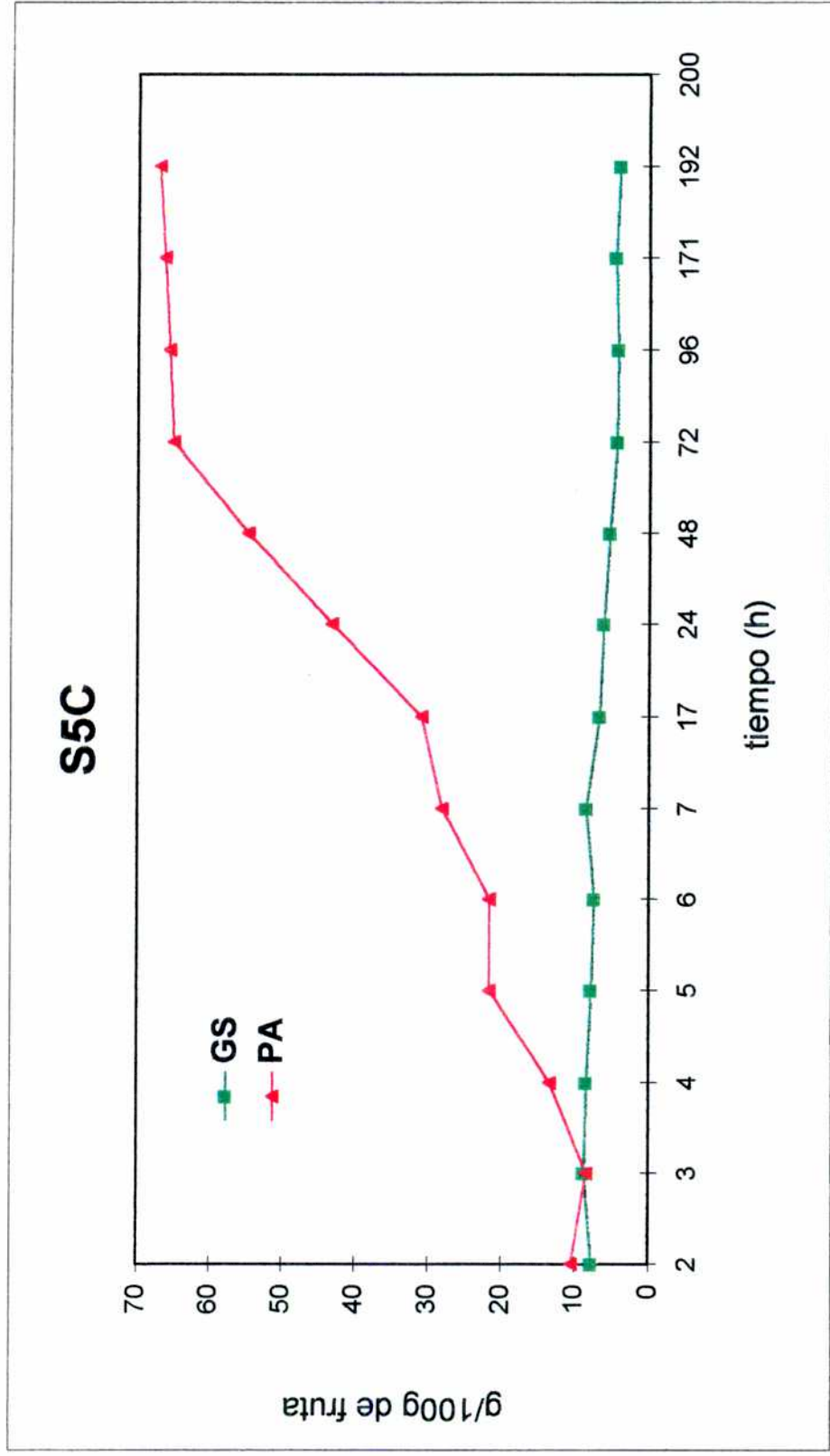
Figura 19 : Representación gráfica de ganancia de sólidos (GS)(g/100g fruta fresca) y pérdida de agua (PA) (g/100g fruta fresca).

a) muestra VS5C **b)** muestra V5C **c)** muestra VG5C **d)** muestra G5C

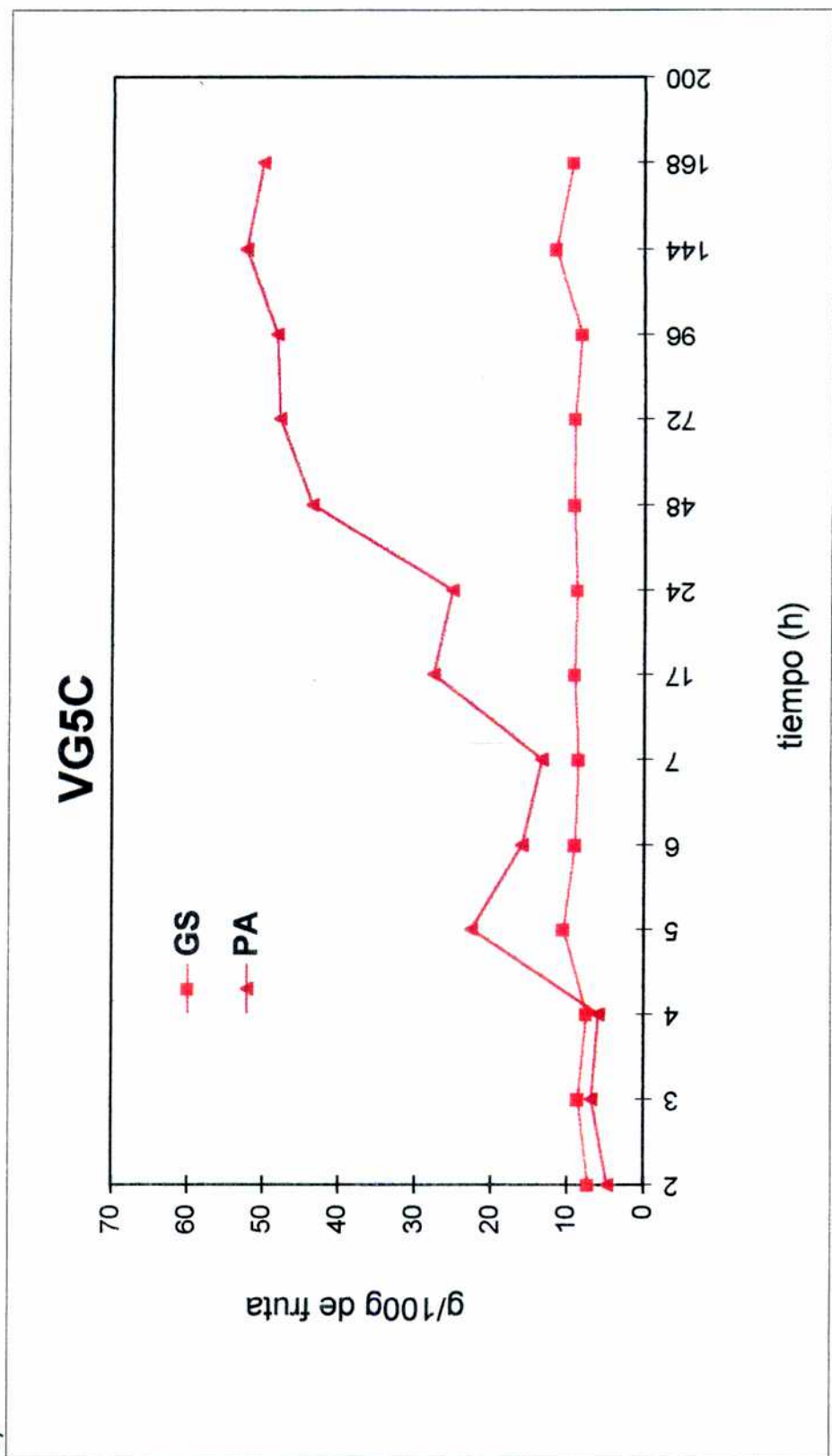
a)



b)



c)



d)

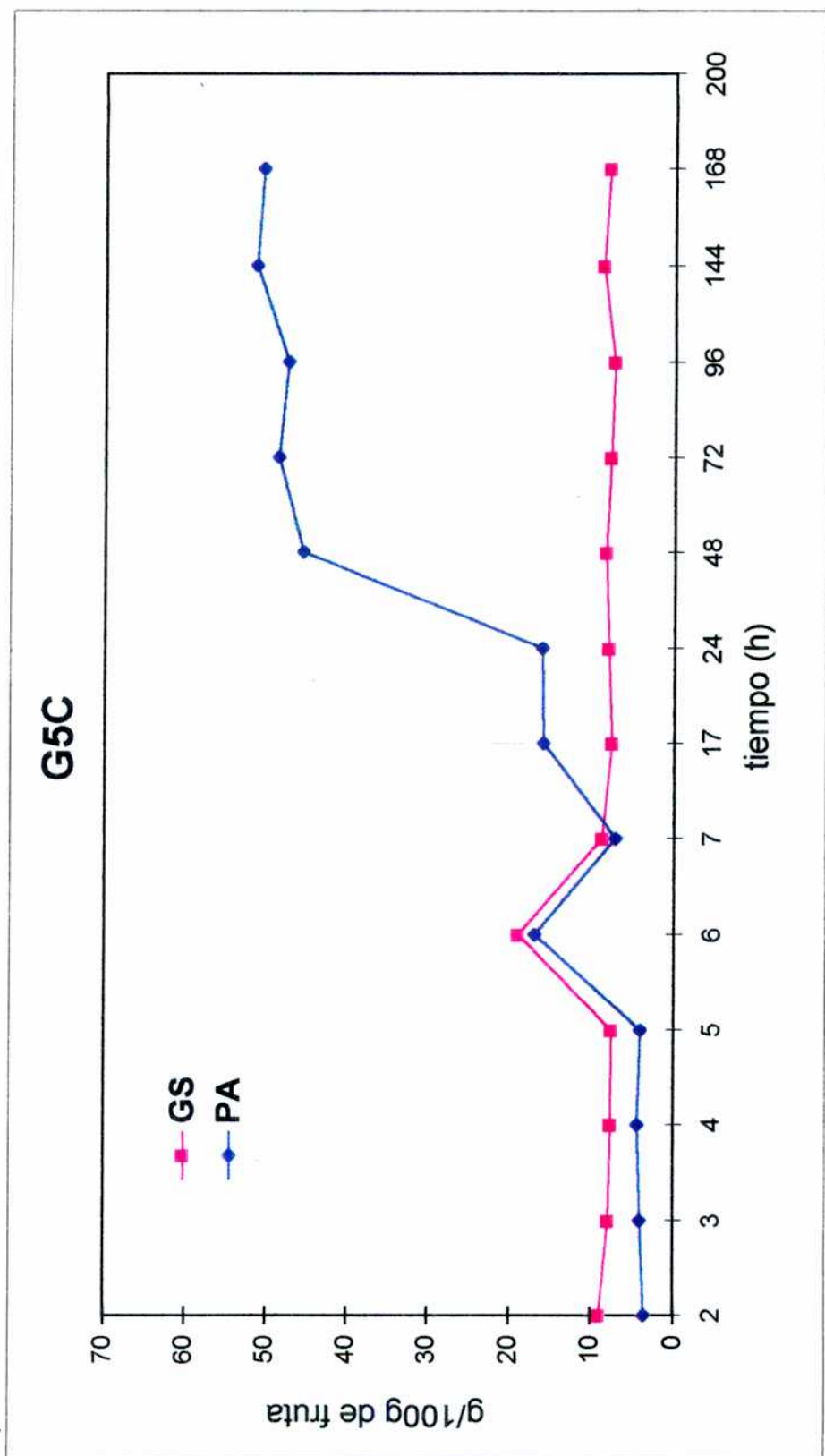
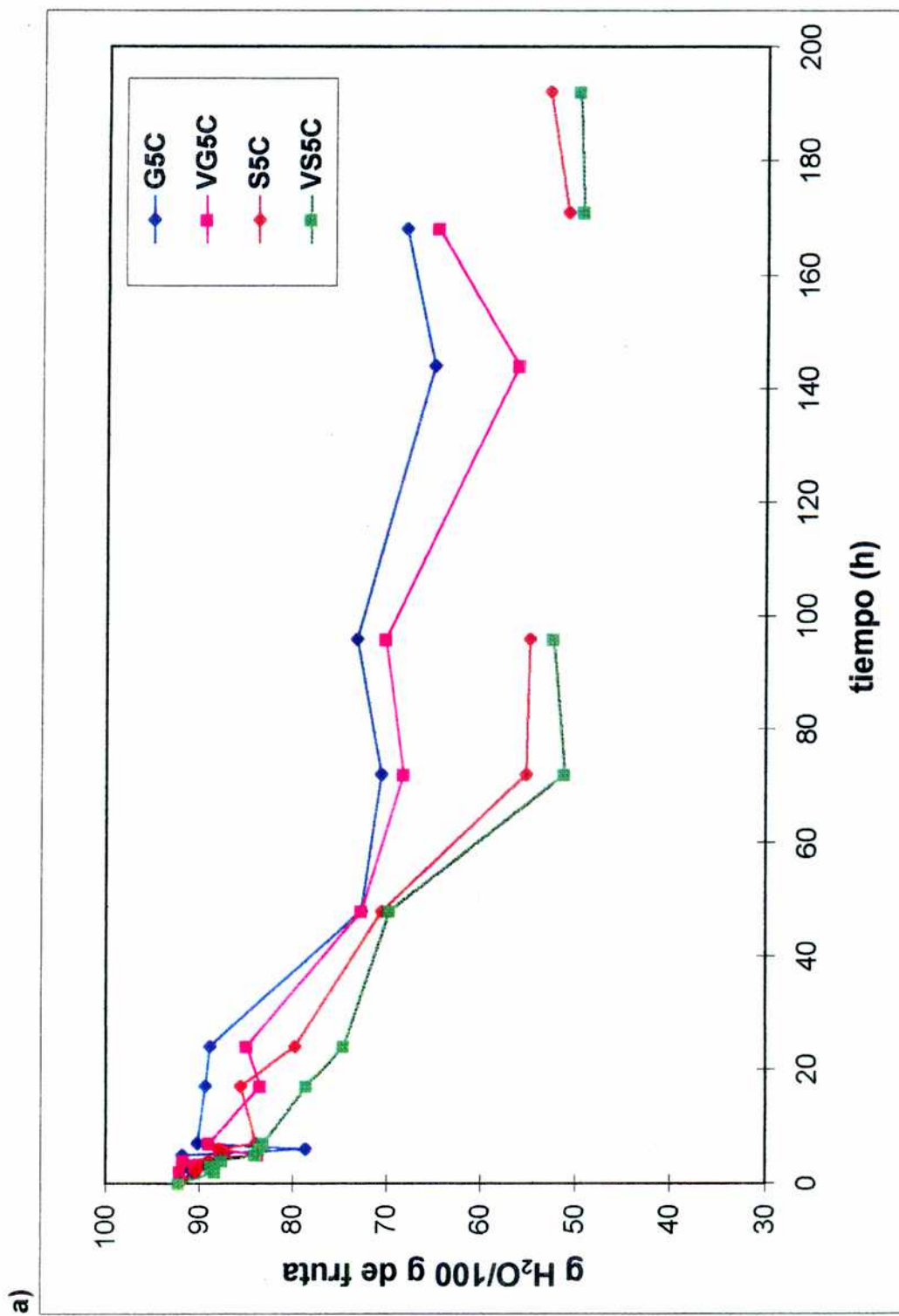
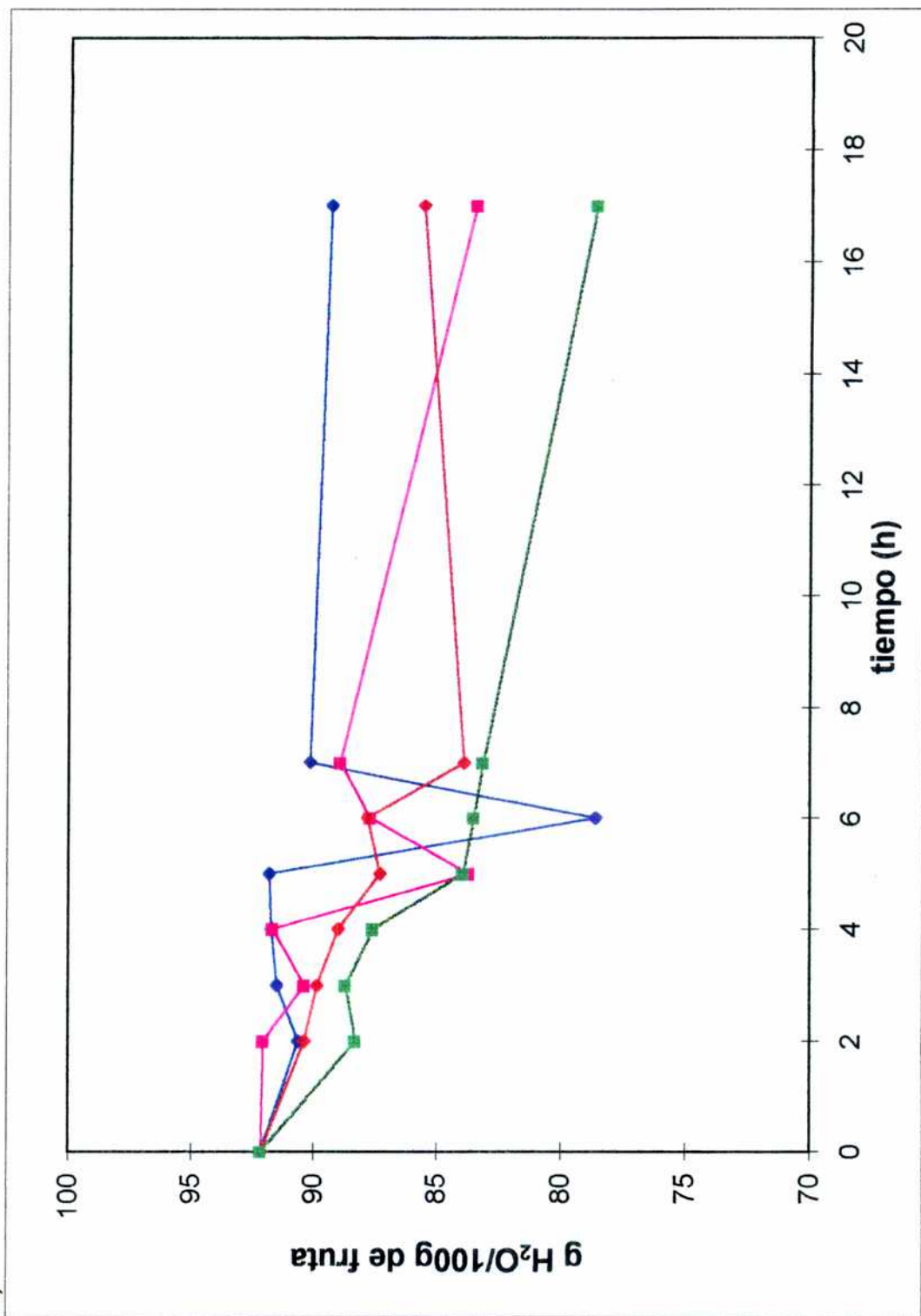


Figura 20 : Evolución del contenido de humedad (H) de las muestras G5C, VG5C S5C y VS5C durante la impregnación (Hinicial = 92,0 g agua/100g fruta)
a) durante 192 h. **b)** detalle hasta las 17 h.



b)



Esta irregularidad podría explicarse considerando los fenómenos de transporte de agua hacia el medio y del soluto hacia el interior de la fruta. El procedimiento DIS en este trabajo se realizó añadiendo directamente el humectante sólido a la fruta. Cada frutilla quedaba rodeada de una capa de azúcar. La glucosa tiene una cinética de disolución en agua más lenta que la de la sacarosa y debido a ello este fenómeno no se notó en las muestras tratadas con sacarosa.

Al inicio de la impregnación, la frutilla pierde un poco de agua que quedaría en la superficie de la fruta sin disolver la glucosa del medio. Como ese jugo tiene actividad de agua cercada a 1 no habría fuerza impulsora para la deshidratación. Cuando la glucosa superficial en función del tiempo empieza a disolverse, se generaría una rápida pérdida de jugo de la frutilla al medio y un ingreso de azúcar a las zonas internas más superficiales de la fruta.

Esto generaría un ambiente interno en la superficie de la frutilla de alta concentración de glucosa y un ambiente externo a la superficie de la frutilla de alta concentración de agua lo cual implicaría la necesidad de equilibrar los medios. Parte del agua retornaría por difusión al interior y parte del azúcar saldría al medio externo.

5 - CONCLUSIONES

I.- Los ensayos realizados en frutillas con $F_{m\acute{a}x}$ inicial 11,5 kg, variedad Pájaro, para comparar los efectos del tratamiento térmico (escaldado en vapor saturado y escaldado en agua en ebullición), reducción de la actividad de agua (impregnadas con glucosa), adición de iones calcio y del almacenamiento posterior, arrojaron los siguientes resultados:

- a) La $F_{m\acute{a}x}$ disminuyó ligeramente por el tratamiento de escaldado en vapor saturado pero el ablandamiento fue significativo cuando la muestra se trató en agua en ebullición. Los estudios estructurales se correlacionaron con este comportamiento mostrando menor densidad óptica de las paredes tratadas térmicamente, disminución muy acentuada en las muestras escaldadas en agua en ebullición que incluso mostraron ruptura de la pared celular. En ambos casos existió destrucción de la membrana celular.
- b) El tratamiento de deshidratación-impregnación con glucosa a niveles de a_w 0,95 y 0,93 no varió significativamente el valor de la $F_{m\acute{a}x}$ respecto de la fruta fresca. Las observaciones microscópicas mostraron paredes celulares de alta densidad óptica con estructuras de plasmodesmos intactas. El tejido muestra un colapso celular importante y pérdida de la presión de turgor. En algunos casos se observa retracción del citoplasma y formación de vesículas.
- c) El almacenamiento a lo largo de 102 días resultó en un ablandamiento de las frutillas excepto en el caso VG3C₁ en el cual el valor de $F_{m\acute{a}x}$ se mantuvo sin cambio. La disminución fue muy pronunciada en frutillas escaldadas en agua en ebullición alcanzando valores inaceptables para la comercialización. En las muestras sin tratamiento térmico, las pérdidas de firmeza fueron menos importantes.
- d) El efecto de la impregnación de lactato de calcio (0,1% p/p) sobre la firmeza de las frutillas dependió del tratamiento térmico y del nivel de impregnación con glucosa. Cuando el escaldado se realizó con vapor saturado las frutillas adicionadas con calcio fueron significativamente más firmes que sin calcio a ambos niveles de a_w . Cuando el tratamiento térmico se realizó en agua en ebullición, la adición de calcio proveyó únicamente un mejoramiento en las muestras de menor a_w . Los análisis estructurales de las muestras escaldadas con vapor y con adición de calcio mostró el mantenimiento de la estructura del tejido celular y similar al de la fruta fresca si bien con cierto grado de encogimiento. Se observó diferencia significativa ($\alpha < 0,05$) en la $F_{m\acute{a}x}$ de las

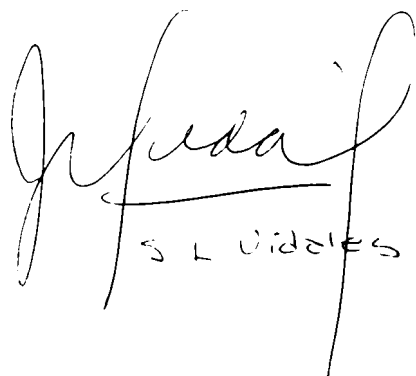
frutillas sometidas a diferentes tratamientos (escaldado, impregnación con glucosa y adición de calcio). Por aplicación del Test de Tukey los tratamientos G3C₁, G5 y G5c₁ y VG3C₁ mostraron mayor firmeza que las frutillas sometidas a otros tratamientos. Dado que la operación de escaldado no puede obviarse debido a su significancia en el mantenimiento de la calidad microbiológica dentro del método de conservación, puede concluirse que la frutilla escaldada en vapor saturado, con adición de calcio y a niveles de a_w 0,93 y 0,95 son las que presentan mejores características texturales durante el almacenamiento.

II.- Los ensayos realizados en frutillas variedad Siskey, de $F_{m\acute{a}x}$ 7,22 kg, para analizar el efecto del tipo de humectante para reducir la a_w , el nivel de a_w , la presencia de calcio y la realización de escaldado en vapor saturado en las características texturales permitió concluir lo siguiente:

- a) Los datos de $F_{m\acute{a}x}$ presentaron diferencias significativas de acuerdo al azúcar utilizado cuando se utilizó glucosa o sacarosa pero no existieron diferencias entre glucosa y jarabe de glucosa. El nivel de a_w no presentó un comportamiento homogéneo para todos los tratamientos. Para glucosa y jarabe de glucosa presenta diferencia significativa no sucediendo lo mismo con sacarosa. La adición de calcio favoreció en todos los casos la calidad textural lo mismo que el escaldado previo.
- b) Las muestras impregnadas con glucosa pierden menos agua (para iguales niveles de a_w que las muestras impregnadas con sacarosa, siendo similar esta tendencia para la reducción de peso. La ganancia de sólidos es mayor para las muestras impregnadas con glucosa. Dado que las características texturales son mejores para aquellas muestras impregnadas con glucosa, desde el punto de vista económico o de rendimiento es conveniente la utilización de glucosa como agente de impregnación.
- c) Respecto del contenido de pectinas, pudo observarse una correlación entre la $F_{m\acute{a}x}$ de la fruta, la cantidad de protopectina (fracción insoluble) y de pectina total presente. Los tratamientos utilizados, implicarían un aumento en la fracción de protopectina.

III.- En las muestras tratadas con glucosa o sacarosa para llegar a $a_{\text{weq}} 0,95$, se observó que:

- a) Los valores de pérdida de peso al final de la impregnación para muestras tratadas con glucosa fueron significativamente menores a los de las muestras tratadas con sacarosa. En estas últimas, a su vez, la pérdida de peso fue significativamente mayor para las muestras que no fueron previamente escaldadas.
- b) La pérdida de agua fue mucho mayor que la ganancia de sólidos al final del tratamiento de impregnación, tanto para las muestras tratadas con glucosa como con sacarosa, con o sin escaldado previo, siendo el resultado neto del tratamiento de deshidratación-impregnación con soluto la remoción selectiva de agua.
- c) La dinámica de intercambio de azúcares entre el medio y la fruta durante el tratamiento de impregnación no estuvo sólo relacionada a un proceso de difusión sino que fue un proceso complejo que involucraría los azúcares originales de la fruta y la catálisis enzimática y/o la catálisis por parte de los ácidos orgánicos presentes en la fruta en la reacción de hidrólisis de la sacarosa.



S. L. Vidales



Dra. STELLA M. ALZAMORA

6 - ANEXO 1: TABLAS DE DATOS

Tablas 1.1: Ensayos de retroextrusión.

1.1.A: Los siguientes datos corresponden a muestras procesadas y almacenadas durante 102 días a temperatura de refrigeración. Se utilizaron frutillas variedad Pájaro. Se tomaron muestras a distintos períodos de tiempo y se realizó sobre ellas el ensayo instrumental de retroextrusión.

El error del ensayo se determinó por la desviación estandar (DE).

La $F_{máx}$ y $F_{máx}$ promedio se expresan en kg. El día 0 corresponde a la fruta sometida al tratamiento térmico correspondiente, V: con vapor, A: con agua en ebullición. En el caso de la fruta procesada sin tratamiento térmico, el tiempo 0 corresponde a fruta fresca. El día 6 es el momento en que las muestras entran en almacenamiento, dado que han llegado a la actividad de agua de equilibrio correspondiente.

muestra	VG3		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	9,50	9,30	1,00
	9,00		
	9,80		
	9,60		
	7,20		
	11,00		
	9,50		
	8,80		
	8,00		
	8,00		
6	11,65	9,22	1,72
	6,40		
	8,00		
18	6,40	5,67	0,87
	6,15		
	4,45		
28	5,18	5,71	0,40
	5,80		
	6,15		
35	5,80	6,07	1,40
	7,90		
	4,50		
70	4,60	4,88	1,22
	3,55		
	6,50		
102	2,55	2,97	0,35
	2,95		
	3,40		

muestra	VG5		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	9,50 9,00 9,80 9,60 7,20 11,00 9,50 8,80	9,30	1,00
6	5,90 8,00 5,00	6,30	1,25
18	7,90 5,35 5,30	6,18	1,21
28	5,45 5,50 7,85	6,26	1,12
35	7,30 6,90 4,50	6,64	1,24
70	2,20 6,60 3,85	4,22	1,81
102	4,60 3,65 3,70	3,98	0,44

Muestra	VG3C ₁		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	9,50 9,00 9,80 9,60 7,20 11,00 9,50 8,80	9,30	1,00
6	9,00 11,00 7,68	9,60	0,99
18	8,85 6,20 9,20	8,08	1,34
28	9,50 9,50 8,92	9,30	0,27
35	9,30 10,20 9,45	9,65	0,39
70	8,00 6,25 10,10	8,12	1,57
102	8,30 9,00 7,30	8,20	0,70

Muestra	VG5C ₁		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	9,50 9,00 9,80 9,60 7,20 11,00 9,50 8,80	9,30	1,00
6	7,30 9,10 8,80	7,73	1,73
18	5,96 6,60 11,00	7,85	2,24
28	7,20 6,40 8,40	7,33	0,82
35	5,90 7,60 10,50	8,00	1,89
70	5,70 6,30 8,50	6,83	1,20
102	5,40 2,90 4,50	4,26	1,03

muestra	AG3		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	6,00 5,65 4,80 6,81 7,10 6,45 5,90	6,10	0,71
6	4,90 4,00 4,60	4,50	0,37
18	3,80 1,70 2,30	2,60	0,88
28	3,50 2,20 3,20	2,97	0,55
35	3,80 1,50 2,20	2,50	0,96
70	2,00 1,20 1,60	1,60	0,32
102	0,40 0,50 0,60	0,50	0,08

muestra	AG5		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	6,00 5,65 4,80 6,81 7,10 6,45 5,90	6,10	0,71
6	5,30 4,40 4,35	4,68	0,43
18	4,65 2,10 2,63	3,13	1,09
28	1,35 1,80 1,00	1,38	0,32
35	1,00 1,80 1,70	1,50	0,35
70	1,00 0,70 0,95	0,88	0,13
102	0,50 0,50 0,50	0,50	0,50

muestra	AG3C ₁		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	6,00 5,65 4,80 6,81 7,10 6,45 5,90	6,10	0,71
6	8,00 6,20 6,10	6,76	0,87
18	5,20 4,60 4,80	4,86	0,24
28	4,05 3,48 3,50	3,67	0,26
35	5,60 4,20 4,10	4,63	0,68
70	2,05 3,10 2,40	2,51	0,43
102	2,60 2,30 1,70	2,20	0,37

muestra	AG5C ₁		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx-prom.} (kg)	DE (kg)
0	6,00	6,10	0,71
	5,65		
	4,80		
	6,81		
	7,10		
	6,45		
	5,90		
6	3,90	4,09	0,13
	4,17		
	4,20		
18	2,60	2,60	0,00
	2,60		
28	1,80	1,65	0,28
	1,25		
	1,90		
35	2,20	2,33	0,66
	3,20		
	1,60		
70	1,00	0,95	0,22
	0,80		
	1,30		
102	0,70	0,63	0,04
	0,60		
	0,60		

muestra	G3C ₁		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx-prom.} (kg)	DE (kg)
0	13,50	11,52	1,24
	10,80		
	11,60		
	10,20		
6	18,00	13,66	3,29
	13,00		
	10,00		
18	11,70	10,65	1,03
	11,00		
	9,25		
28	12,20	12,16	1,51
	14,00		
	10,30		
35	8,00	9,26	1,06
	9,20		
	10,60		
70	7,50	9,72	1,82
	11,98		
	9,70		
102	10,60	8,66	1,48
	8,40		
	7,00		

muestra	G5C ₁		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	13,50 10,80 11,60 10,20	11,52	1,24
6	10,50 13,70 7,90	10,70	2,37
18	10,70 9,85 9,60	10,05	0,47
28	9,65 10,50 7,50	9,21	1,26
35	9,80 9,20 10,10	9,70	0,37
70	10,20 8,80 8,30	9,10	0,80
102	9,20 10,20 8,62	9,34	0,65

muestra	G3		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	13,50 10,80 11,60 10,20	11,52	1,24
6	8,00 12,30 14,10	11,46	2,55
18	9,80 7,30 11,15	9,41	1,59
28	6,50 7,50 10,90	8,30	1,88
35	8,75 8,70 9,70	9,05	0,46
70	9,70 6,90 4,04	6,88	2,31
102	5,60 3,70 5,70	5,00	0,92

muestra	G5		
tiempo (día)	F _{máx} (kg)	F _{máx} -prom. (kg)	DE (kg)
0	13,50 10,80 11,60 10,20	11,52	1,24
6	11,50 12,70 12,62	12,27	0,54
18	9,80 8,80 10,10	9,56	0,55
28	10,90 10,10 10,90	10,63	0,37
35	10,40 9,50 8,00	9,30	0,99
70	9,80 11,40 10,40	10,53	0,66
102	7,80 8,90 8,00	8,23	0,47

Tabla 1.1.B: Los siguientes datos corresponden a las muestras congeladas y enlatadas. El error del ensayo se determinó por la desviación estandar (DE).

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx} .Prom. (kg)	DE (kg)
Congelada	5,20 5,80 5,80	5,59	0,35
Enlatada	1,45 3,27 2,05 2,45	2,21	0,76

1.1.C: Los siguientes datos corresponden a muestras procesadas por aplicación de:

- tratamiento térmico con vapor,
- reducción de la a_w (a_{weq} 0,93, 0,95 y 0,97)
- utilización de distintos humectantes: glucosa, sacarosa y jarabe de glucosa, para alcanzar los tres niveles de a_{weq} mencionados,
- con y sin el agregado de calcio,

Los ensayos se realizaron cuando las muestras llegaron a la actividad de agua de equilibrio (aproximadamente 6 días). Se utilizaron frutillas variedad Siskey.

El error del ensayo se determinó por la desviación estandar (DE).

MUESTRA	$F_{máx}$ (kg)	$F_{máx}$. Promedio (kg)	DE (kg)
FRESCA	6,40 7,70 7,80 6,78 7,30 7,60 6,80 7,40	7,22	0,47
ESCALDADA	6,30 6,40 6,10 7,20 6,90 7,20 6,50 6,90	6,69	0,39

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx.} Promedio (kg)	DE (kg)
G3	4,30	4,96	0,61
	4,70		
	5,90		
	4,40		
	4,40		
	4,80		
	5,50		
	5,75		
G5	5,80	5,17	0,41
	4,60		
	4,90		
	4,70		
	5,10		
	5,40		
	5,20		
	5,70		
G7	4,70	4,75	0,39
	4,40		
	5,10		
	4,80		
	5,50		
	4,70		
	4,10		
	4,70		
G3C ₁	9,70	9,29	0,55
	9,85		
	8,30		
	9,10		
	9,50		
	9,98		
	8,65		
	9,30		

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx.} Promedio (kg)	DE (kg)
G5C ₁	7,70	8,11	0,64
	7,60		
	7,30		
	7,50		
	9,20		
	8,40		
	8,80		
	8,45		
G7C ₁	6,90	6,79	0,22
	6,90		
	7,02		
	6,30		
	7,02		
	6,75		
	6,65		
	6,80		
VG3	7,20	7,99	0,52
	7,50		
	8,65		
	8,00		
	8,90		
	8,00		
	7,80		
	7,90		
VG5	5,40	5,85	0,57
	5,90		
	5,20		
	6,80		
	6,30		
	6,40		
	5,10		
	5,70		

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx.} Promedio (kg)	DE (kg)
VG7	7,40	7,30	0,51
	6,70		
	8,00		
	7,60		
	7,90		
	7,40		
	6,50		
	6,90		
VG3C ₁	10,10	8,76	0,74
	8,60		
	8,80		
	9,40		
	9,30		
	8,00		
	8,00		
	7,95		
VG5C ₁	6,80	7,34	0,54
	8,30		
	6,60		
	7,25		
	7,60		
	6,85		
	7,70		
	7,65		
VG7C ₁	6,60	7,10	0,80
	7,00		
	8,60		
	6,30		
	7,10		
	8,20		
	6,70		
	6,30		

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx.} Promedio (kg)	DE (kg)
S3	6,50	6,53	0,80
	7,50		
	5,50		
	5,70		
	6,00		
	7,30		
	7,70		
	6,10		
S5	6,80	5,68	0,72
	5,50		
	6,20		
	6,00		
	4,80		
	6,20		
	4,50		
	5,50		
S7	3,90	3,58	0,50
	3,30		
	2,60		
	3,30		
	4,00		
	3,40		
	3,90		
	4,25		
S3C1	9,90	9,28	0,66
	8,40		
	8,50		
	9,80		
	9,85		
	9,40		
	8,45		
	10,00		
S5C ₁	9,60	9,67	0,71
	8,70		
	9,80		
	10,00		
	9,10		
	10,90		
	8,90		
	10,40		

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx} . Promedio (kg)	DE (kg)
S7C ₁	7,30	7,98	0,42
	8,15		
	8,30		
	7,30		
	8,00		
	8,05		
	8,50		
	8,30		
VS3	5,90	6,72	0,64
	7,00		
	6,30		
	6,90		
	6,10		
	6,80		
	8,10		
	6,70		
VS5	7,60	8,13	0,98
	6,60		
	9,40		
	8,20		
	8,60		
	9,10		
	6,80		
	8,80		
VS7	9,60	9,94	0,63
	10,30		
	10,50		
	10,95		
	10,00		
	10,10		
	9,05		
	9,05		
VS3C ₁	6,00	7,05	0,88
	7,25		
	6,30		
	8,30		
	7,45		
	8,40		
	6,30		
	6,40		

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx.} Promedio (kg)	DE (kg)
VS5C ₁	6,50	7,79	0,92
	9,10		
	7,10		
	9,10		
	7,30		
	7,05		
	7,80		
	8,40		
VS7C ₁	10,40	9,56	0,65
	9,60		
	9,79		
	9,45		
	9,90		
	8,90		
	8,30		
	10,25		
J5C ₁	7,60	8,38	0,75
	8,90		
	6,90		
	8,00		
	9,00		
	9,40		
	8,40		
	8,60		
J7C ₁	10,00	8,90	0,92
	9,15		
	7,70		
	10,40		
	8,85		
	7,90		
	8,05		
	9,20		
VJ5	4,25	5,08	0,48
	4,90		
	5,80		
	5,20		
	4,50		
	5,35		
	5,20		
	5,50		

MUESTRA	F _{máx} (kg)	F _{máx.} Promedio (kg)	desviación estandar (kg)
VJ7	5,80	5,70	0,53
	5,00		
	5,25		
	5,00		
	6,50		
	6,00		
	5,90		
	6,20		
VJ5C ₁	5,15	5,65	0,38
	6,20		
	5,80		
	5,30		
	5,25		
	5,70		
	5,60		
	6,20		
VJ7C ₁	6,50	6,15	0,72
	7,10		
	5,90		
	6,00		
	5,50		
	7,40		
	5,45		
	5,40		

Tabla 1.2: Humedad (H) y pérdida de peso (PPe) de las muestras 1.1.C a los seis días de tratamiento (cuando se alcanza la a_{req}).

Muestra	Pérdida de peso (PPe)	Humedad (H) (gr H ₂ O/100 g fruta)
FRESCA	-----	91,01
ESCALDADA (vapor)	-----	90,79
G3	48,90	54,23
G5	49,20	61,39
G7	46,30	67,92
G3C	48,22	55,28
G5C	45,98	60,45
G7C	40,67	66,46
VG3	43,88	55,04
VG5	43,87	61,04
VG7	41,50	68,05
VG3C	48,46	55,51
VG5C	45,04	61,71
VG7C	40,77	67,77
S3	56,10	48,61
S5	57,90	50,95
S7	55,30	55,48
S3C	54,03	45,76
S5C	53,36	48,48
S7C	50,53	56,17
VS3	49,48	45,78
VS5	56,20	48,83
VS7	56,51	55,40
VS3C	53,00	46,71
VS5C	61,00	52,62
VS7C	61,31	58,92
J5C	49,10	51,63
J7C	53,10	53,40
VJ5	43,82	62,72
VJ7	48,18	65,34
VJ5C	44,55	61,76
VJ7C	47,73	67,28

Tabla 1.3: Sólidos insolubles en alcohol (SIA) en muestras impregnadas con glucosa

El análisis de sólidos insolubles en alcohol se realizó sobre las muestras fresca, escaldada en vapor, impregnadas con glucosa, con y sin adición de calcio y con y sin tratamiento térmico (escaldado con vapor). La variedad utilizada fue Siskey.

Los resultados se expresan en concentración (% p/p) respecto de la masa de fruta inicial. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

	fresca	escaldada
1	3,04	2,13
2	2,99	2,02
media	3,01	2,07
desv.std	0,04	0,07

	G3	G5	G7
1	4,13	3,10	3,01
2	4,30	2,97	3,09
media	4,21	3,03	3,04
desv.std	0,12	0,10	0,05

	G3C ₁	G5C ₁	G7C ₁
1	3,23	3,76	3,19
2	3,32	3,61	3,22
media	3,27	3,68	3,20
desv.std	0,06	0,10	0,02

	VG3	VG5	VG7
1	4,40	3,36	3,65
2	3,91	3,25	3,52
media	4,15	3,30	3,58
desv.std	0,34	0,07	0,09

	VG3C ₁	VG5C ₁	VG7C ₁
1	3,17	3,41	5,00
2	3,29	3,43	5,19
media	3,23	3,42	5,09
desv.std	0,08	0,01	0,13

Tabla 1.4: Contenido de pectinas en muestras impregnadas con glucosa

El análisis de pectinas se realizó sobre las muestras fresca, escaldada en vapor, impregnadas con glucosa, con y sin adición de calcio y con y sin tratamiento térmico (escaldado con vapor).

Los resultados se expresan en concentración (% p/p) referidos a la masa inicial de fruta. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Se reportan 3 fracciones y el contenido total de pectinas según:

1. Fracción de pectina de alto metoxilo, soluble en agua (ácidos pectínicos y pectinatos)
2. Fracción de pectina de bajo contenido de metoxilo, soluble en oxalato de calcio (ácidos pécticos y pectatos)
3. Fracción de sustancias pécticas insolubles en agua, protopectinas.
4. Pectinas totales

fresca	1	2	3	4
1	0,17	0,10	0,13	0,40
2	0,19	0,09	0,13	0,42
media	0,18	0,10	0,13	0,41
desv.std.	0,01	0,00	0,01	0,01

escaldada	1	2	3	4
1	0,08	0,08	0,17	0,32
2	0,07	0,08	0,18	0,33
media	0,08	0,08	0,18	0,34
desv.std.	0,00	0,00	0,01	0,01

G3	1	2	3	4
1	0,09	0,12	0,18	0,39
2	0,09	0,11	0,20	0,40
media	0,09	0,11	0,19	0,39
desv.std.	0,00	0,00	0,01	0,01

G5	1	2	3	4
1	0,08	0,11	0,20	0,39
2	0,08	0,09	0,18	0,35
media	0,08	0,10	0,19	0,37
desv.std.	0,00	0,01	0,01	0,01

G7	1	2	3	4
1	0,10	0,08	0,14	0,32
2	0,08	0,09	0,17	0,34
media	0,09	0,08	0,15	0,32
desv.std.	0,01	0,01	0,02	0,01

G3C ₁	1	2	3	4
1	0,11	0,11	0,21	0,43
2	0,10	0,10	0,22	0,42
media	0,11	0,11	0,21	0,43
desv.std.	0,01	0,01	0,01	0,01

G5C ₁	1	2	3	4
1	0,10	0,10	0,18	0,38
2	0,10	0,11	0,20	0,40
media	0,10	0,10	0,19	0,39
desv.std.	0,00	0,01	0,01	0,01

G7C ₁	1	2	3	4
1	0,08	0,10	0,19	0,37
2	0,08	0,10	0,20	0,38
media	0,08	0,10	0,19	0,37
desv.std.	0,00	0,00	0,00	0,00

VG3	1	2	3	4
1	0,11	0,11	0,22	0,44
2	0,10	0,11	0,22	0,43
media	0,11	0,11	0,22	0,44
desv.std.	0,00	0,00	0,00	0,00

VG5	1	2	3	4
1	0,08	0,09	0,19	0,36
2	0,09	0,09	0,20	0,38
media	0,09	0,09	0,19	0,37
desv.std.	0,0048	0	0,0056	0,0104

VG7	1	2	3	4
1	0,08	0,06	0,22	0,36
2	0,07	0,07	0,22	0,36
media	0,07	0,06	0,22	0,35
desv.std.	0,00	0,00	0,00	0,00

VG3C ₁	1	2	3	4
1	0,08	0,09	0,24	0,41
2	0,09	0,09	0,24	0,42
media	0,09	0,09	0,24	0,42
desv.std.	0,01	0,00	0,00	0,00

VG5C ₁	1	2	3	4
1	0,08	0,09	0,24	0,41
2	0,08	0,09	0,23	0,40
media	0,08	0,09	0,24	0,41
desv.std.	0,00	0,00	0,01	0,01

VG7C ₁	1	2	3	4
1	0,09	0,08	0,21	0,38
2	0,09	0,07	0,21	0,37
media	0,09	0,08	0,21	0,38
desv.std.	0,00	0,01	0,00	0,00

Tabla 1.5: Contenido de calcio en las frutillas impregnadas con glucosa.

Muestra	Ca ⁺⁺ (mg/100 g fruta inicial)	Ca ⁺⁺ (mg/100 g fruta)
Fresca (F)	20,00	200
Escaldada (V)	20,00	200
G3	8,18	160
G5	11,18	220
G7	9,67	180
G3C ₁	18,12	350
G5C ₁	13,51	250
G7C ₁	17,80	300
VG3	10,10	180
VG5	13,47	240
VG7	11,12	190
VG3C ₁	14,43	280
VG5C ₁	17,04	310
VG7C ₁	17,18	290

Tabla 1.6: Reducción de peso (RP), ganancia de sólidos (GS) y pérdida de agua (PA) de las muestras impregnadas con glucosa, sacarosa y jarabe de glucosa. GS y PA están expresados en g/100 g de fruta fresca y RP en g/100g de sólidos iniciales.

muestra	RP	GS	PA
G3	5,43	11,95	50,75
G5	5,47	9,96	49,06
G7	5,14	9,25	45,45
G3C ₁	5,36	11,99	50,11
G5C ₁	5,11	11,54	47,42
G7C ₁	4,52	11,81	42,37
VG3	4,88	14,16	47,94
VG5	4,87	12,28	46,04
VG7	4,61	10,93	42,33
VG3C ₁	5,38	11,82	50,18
VG5C ₁	5,00	11,56	46,51
VG7C ₁	4,53	11,31	41,98
S3	6,23	9,90	55,90
S5	6,43	8,69	56,49
S7	6,14	8,90	54,10
S3C ₁	6,00	11,46	55,39
S5C ₁	5,93	11,21	54,47
S7C ₁	5,61	10,73	51,15
VS3	5,50	13,84	53,22
VS5	6,24	9,82	55,92
VS7	6,28	8,43	54,85
VS3C ₁	5,89	11,77	54,67
VS5C ₁	6,78	7,21	58,11
VS7C ₁	6,81	6,15	57,36
J5C ₁	5,66	11,66	52,46
J7C ₁	5,90	10,25	53,25
VJ5	4,87	11,77	45,49
VJ7	5,35	9,31	47,39
VJ5C ₁	4,95	11,76	46,21
VJ7C ₁	5,30	8,94	46,57

Tablas 1.7: Muestras impregnadas con glucosa y sacarosa durante el período de impregnación (168 ó 192 horas).

Tabla 1.7.1: Humedad (H) y pérdida de peso (PPe)

Tiempo (h)	Impregnación con glucosa			Tiempo (h)	Impregnación con Sacarosa		
	G	PPe	H		G	PPe	H
0	92 1		92 1	0	92 1		92 1
2	90 6	2 6	92 0	2	90 8	10	88 0
	91 0	1	90 8		89 8		88 69
	91 2	8	91 6		89 00	1 0	8 8
	91 81		8 1		8 2	21 9	8 8
6	8 60	6 0	8 2	6	8 82	22 9	8 1
	90 1	6	88 9		8 92	2	8 1
1	89	16	8	1	8	2	8
2	88 8	16 2	8 92	2	9	2	8
8	2 1		2 2	8	0		69
2	0 6	8 9	68 28	2	26	68 8	1 1
96	28	8 2	0 21	96	90	69	2
1	6 0	0 8	6 1	1 1	0 9	69 8	9 26
168	68 12	0	6 2	192	2 90	1 2	9 68
							6

H humedad (gramos de agua 100g de ruta)
PPe de pérdida de peso de la ruta después del período de impregnación

Tabla 1.7.2 : Concentración de azúcares

Tiempo (hora)	Glucosa (*)			Impregnación con glucosa Fructosa (*)			Sacarosa (*)		
	G5C ₁	IC	VG5C ₁	IC	G5C ₁	IC	VG5C ₁	IC	VG5C ₁
0	2,03 ±0,18		1,39 ±0,20		2,34 ±0,15		1,80 ±0,20	(1)	(1)
3	2,09 ±0,11		3,10 ±0,25		2,35 ±0,05		2,59 ±0,10		
6	3,01 ±0,09		4,70 ±0,10		2,75 ±0,16		2,54 ±0,08		
25	3,50 ±0,40		7,66 ±0,32		2,32 ±0,07		1,83 ±0,80		
96	15,66±0,83		16,72±0,45		2,91 ±0,30		1,82 ±0,53		
168	20,32±0,09		23,78±0,78		3,06 ±0,07		1,63 ±0,09		

Tiempo (hora)	Glucosa (*)			Impregnación con sacarosa Fructosa (*)			Sacarosa (*)		
	S5C ₁	IC	VS5C ₁	IC	S5C ₁	IC	VS5C ₁	IC	VS5C ₁
0	2,63 ±0,33		1,39 ±0,20		2,34 ±0,15		1,80 ±0,20	(1)	(1)
3	2,63 ±0,33		3,20 ±0,12		2,84 ±0,16		3,27 ±0,10	(1)	(1)
7	3,95 ±0,10		6,22 ±0,67		4,08 ±0,08		6,18 ±0,01	(1)	(1)
25	6,97 ±0,74		9,34 ±0,95		6,90 ±0,75		9,36 ±1,02	(1)	0,72 ±0,16
96	16,06±1,96		10,63±0,07		15,80±0,55		10,20±0,30	0,72 ±0,87	4,85 ±0,48
171	13,39±0,34		15,62±2,29		12,97±0,84		14,82±1,43	2,03 ±0,60	2,53 ±0,62

(*) Expresada en % p/p respecto de la masa de fruta.

IC : intervalo de confianza

(1) no se detectó

Tabla 1.7.3: Reducción de peso (RP), ganancia de sólidos (GS) y pérdida de agua (PA).

GS y PA están expresados en g/100 g de fruta fresca y RP en g/100g de sólidos iniciales.

Muestra	tiempo (h)	GS	PA	RP
G5C ₁	2	8,89	3,50	0,33
	3	7,82	3,93	0,52
	4	7,51	4,30	0,61
	5	7,47	3,99	0,57
	6	18,91	16,91	0,76
	7	8,60	7,05	0,82
	17	7,45	15,88	2,08
	24	7,85	16,00	2,05
	48	8,17	45,45	5,73
	72	7,67	48,55	6,19
	96	7,17	47,37	6,10
	144	8,45	51,29	6,44
	168	7,73	50,48	6,42
VG5C ₁	2	7,10	4,59	0,70
	3	8,46	6,69	0,79
	4	7,28	4,30	0,83
	5	10,39	22,53	2,55
	6	8,88	15,84	1,89
	7	8,41	13,27	1,63
	17	8,93	27,47	3,36
	24	8,61	25,04	3,09
	48	9,02	43,52	5,38
	72	8,92	47,89	5,95
	96	7,98	48,23	6,11
	144	11,49	52,32	6,18
	168	9,23	50,09	6,18

Muestra	tiempo (h)	GS	PA	RP
---------	---------------	----	----	----

S5C ₁	2	7,67	10,39	1,36
	3	8,63	8,35	0,98
	4	8,32	13,33	1,65
	5	7,73	21,64	2,77
	6	7,36	21,61	2,82
	7	8,40	28,13	3,51
	17	6,62	30,89	4,08
	24	6,08	43,25	5,72
	48	5,32	54,81	7,28
	72	4,37	65,12	8,70
	96	4,21	65,65	8,79
	144	4,44	66,35	8,85
	192	3,90	67,14	9,02

VS5C ₁	2	8,13	16,75	2,10
	3	8,97	11,92	1,39
	4	8,52	17,69	2,17
	5	8,24	28,82	3,62
	6	8,65	28,23	3,49
	7	7,84	31,64	4,03
	17	7,16	41,38	5,34
	24	7,71	44,70	5,70
	48	4,90	56,63	7,56
	72	6,43	62,15	8,07
	96	6,68	61,22	7,92
	144	7,31	61,35	7,85
	192	6,41	62,72	8,14

7 - ANEXO 2 :ANALISIS ESTADISTICO.PROCEDIMIENTOS

A continuación se presentan los métodos estadísticos utilizados para el análisis de las experiencias realizadas en esta trabajo.

1 - Estimadores estadísticos

1.1 Estadígrafo de posición

La media aritmética de un conjunto de n valores $x_1, x_2, \dots, x_n$, representada por X_M , es la suma de los n valores dividida por n , o sea

$$X_M = \frac{1}{n} \sum x_i$$

Es un valor de la variable en estudio pudiendo o no coincidir con uno de los valores observados y en consecuencia el valor numérico calculado estará comprendido entre el menor y el mayor valor observado de x . Además la unidad de medida en que se expresa es la misma que la de la variable original.

1.2 Estadígrafo de dispersión

1.2.a La varianza (σ^2) de un conjunto de n observaciones $x_1, x^2, \dots, x^n$, es la suma de los cuadrados de los n desvíos entre cada valor x_n y la media de los mismos, dividida por $(n-1)$, o sea

$$\sigma^2 = \sum (x_i - x_m) / n-1$$

El valor numérico de σ^2 describe el grado de dispersión de la distribución con respecto a su media aritmética. Si todas las x_i fueran iguales, la media coincidiría con ese valor común y las desviaciones serían todas nulas (también sus cuadrados) resultando $\sigma^2 = 0$.

1.2.b La **desviación estándar** (σ) es la raíz cuadrada positiva de la varianza.

$$\sigma = \sqrt{\sum x_i^2 / (n-1)}$$

La varianza está expresada en unidades distintas que la variable original, en cambio la σ está expresada en las mismas unidades lo cual permite compararla con los valores de la variable. Tiene especial importancia en la descripción de una distribución y en la computación del significado estadístico de los resultados.

1.2.c El **error estándar de la media** (SE) está directamente vinculado a la desviación estándar por la siguiente expresión:

$$SE = \sigma / \sqrt{n}$$

Toma en cuenta no solamente la variación en la distribución sino en el número de casos. Puede ser considerado como la desviación estándar estimada de la distribución de medias que se esperaría si el experimento se repitiera hasta el infinito. El concepto de error estándar puede también aplicarse a proporciones.

1.2.d **Intervalo de confianza (IC)**: si se estudia una población de media X_M ya conocida utilizando muestras de n individuos se puede obtener a partir de ella información sobre la población original. Esto puede realizarse a través de t de student.

Se puede escribir:

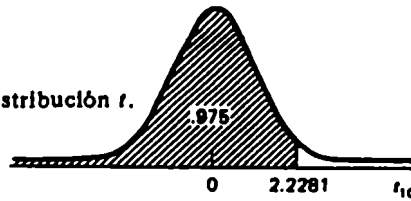
$$[X_M - t_{0,05} \cdot SE < \mu < X_M + t_{0,05} \cdot SE]$$

con lo cual se explica "si X_M y SE son la media y el error típico de una muestra hay una probabilidad de 0,95 a favor de la hipótesis de que la verdadera media de la población esté comprendida entre los valores $X_M - t_{0,05} \cdot SE$ y $X_M + t_{0,05} \cdot SE$."

En una muestra de 3 individuos (2 grados de libertad), por la tabla t (**tabla 1**) se sabe que hay solo una probabilidad del 5% ($P=0,05$) de que t sea superior a 4,30 o inferior a -4,30. Por ello la verdadera media debe estar comprendida entre $X_M+4,30 \cdot SE$ y $X_M-4,30 \cdot SE$, y se llaman los límites de confianza de la media para el coeficiente de confianza de 95%. Los valores situados entre estos extremos constituyen el intervalo de confianza (Lison, 1976).

Tabla 1: Percentiles de la distribución t .

$$P(t_{10} < 2.2281) = .975$$



g.l.	$t_{.90}$	$t_{.95}$	$t_{.975}$	$t_{.99}$	$t_{.998}$
1	3.078	6.3138	12.706	31.821	63.657
2	1.886	2.9200	4.3027	6.965	9.9248
3	1.638	2.3534	3.1825	4.541	5.8409
4	1.533	2.1318	2.7764	3.747	4.6041
5	1.476	2.0150	2.5706	3.365	4.0321
6	1.440	1.9432	2.4469	3.143	3.7074
7	1.415	1.8946	2.3646	2.998	3.4995
8	1.397	1.8595	2.3060	2.896	3.3554
9	1.383	1.8331	2.2622	2.821	3.2498
10	1.372	1.8125	2.2281	2.764	3.1693
11	1.363	1.7959	2.2010	2.718	3.1058
12	1.356	1.7823	2.1788	2.681	3.0545
13	1.350	1.7709	2.1604	2.650	3.0123
14	1.345	1.7613	2.1448	2.624	2.9768
15	1.341	1.7530	2.1315	2.602	2.9467
16	1.337	1.7459	2.1199	2.583	2.9208
17	1.333	1.7396	2.1098	2.567	2.8982
18	1.330	1.7341	2.1009	2.552	2.8784
19	1.328	1.7291	2.0930	2.539	2.8609
20	1.325	1.7247	2.0860	2.528	2.8453
21	1.323	1.7207	2.0796	2.518	2.8314
22	1.321	1.7171	2.0739	2.508	2.8188
23	1.319	1.7139	2.0687	2.500	2.8073
24	1.318	1.7109	2.0639	2.492	2.7969
25	1.316	1.7081	2.0595	2.485	2.7874
26	1.315	1.7056	2.0555	2.479	2.7787
27	1.314	1.7033	2.0518	2.473	2.7707
28	1.313	1.7011	2.0484	2.467	2.7633
29	1.311	1.6991	2.0452	2.462	2.7564
30	1.310	1.6973	2.0423	2.457	2.7500
35	1.3062	1.6896	2.0301	2.438	2.7239
40	1.3031	1.6839	2.0211	2.423	2.7045
45	1.3007	1.6794	2.0141	2.412	2.6896
50	1.2987	1.6759	2.0086	2.403	2.6778
60	1.2959	1.6707	2.0003	2.390	2.6603
70	1.2938	1.6669	1.9945	2.381	2.6480
80	1.2922	1.6641	1.9901	2.374	2.6388
90	1.2910	1.6620	1.9867	2.368	2.6316
100	1.2901	1.6602	1.9840	2.364	2.6260
120	1.2887	1.6577	1.9799	2.358	2.6175
140	1.2876	1.6558	1.9771	2.353	2.6114
160	1.2869	1.6545	1.9749	2.350	2.6070
180	1.2863	1.6534	1.9733	2.347	2.6035
200	1.2858	1.6525	1.9719	2.345	2.6006
∞	1.282	1.645	1.96	2.326	2.576

2 - Test de hipótesis.

En investigación se trabaja con dos tipos de hipótesis: las hipótesis de investigación y las hipótesis estadísticas.

La hipótesis de investigación es la que motiva la investigación y es previa a la aplicación de tratamientos estadísticos. Las hipótesis de investigación conducen directamente a hipótesis estadísticas. Estas últimas se establecen de tal forma que puedan ser evaluadas a través de técnicas estadísticas apropiadas (Daniel, 1987).

2.1 Significación Estadística.

En las pruebas de hipótesis se trabaja con dos hipótesis estadísticas que deben enunciarse explícitamente. Se denomina *hipótesis nula* a la hipótesis que debe probarse y se designa por el símbolo H_0 . Se conoce también como hipótesis de no diferencia, ya que es una proposición de no diferencia respecto de condiciones verdaderas en la población de interés. En general se establece con el propósito expreso de ser rechazada. Por ello, el complemento de la conclusión que el investigador desea alcanzar se convierte en el enunciado de la hipótesis nula. En el proceso de prueba, la H_0 se rechaza o no se rechaza. Si no se rechaza, se dirá que los datos sobre los cuales se basa la prueba no proporcionan evidencia suficiente que provoque el rechazo. Si la prueba conduce al rechazo, se concluirá que los datos disponibles no son compatibles con la H_0 , pero, son apoyo de alguna otra hipótesis. Esta otra hipótesis se conoce como la *hipótesis alternativa* y se designa por H_A (Daniel, 1987).

Cuando no es posible rechazar la H_0 , no se dice que es verdadera, sino que puede ser verdadera.

La estadística de prueba es alguna estadística que puede calcularse a partir de los datos de la muestra. Sirve como productor de decisiones ya que la aceptación o rechazo de la H_0 depende de la magnitud de la estadística de prueba. A continuación se indica una fórmula general para una estadística de prueba que se aplica en muchas de las pruebas de hipótesis:

$$\text{Estadística de prueba} = \frac{\text{estadística relevante} - \text{parámetro supuesto}}{\text{error estandar de la estadística relevante}}$$

Los valores posibles que la estadística de prueba puede tener son puntos sobre el eje horizontal de la gráfica de distribución de la misma y se dividen en dos grupos:

- * los que forman la *región de aceptación*, son los que tienen mayor probabilidad de ocurrir si la H_0 es verdadera
- * los que forman la *región de rechazo*, son los que tienen menor probabilidad de ocurrir si la H_0 es verdadera

La regla de decisión indica que se rechaza H_0 si el valor de la estadística de prueba que se calcule es uno de los valores de la región de rechazo y que se acepte o no se rechaza H_0 si el valor calculado es uno de los valores de la región de aceptación.

La decisión respecto de qué valores van hacia la región de aceptación o la de rechazo se basa en el *nivel de significación*, representado por α . El nivel de significación especifica el área bajo la curva de la distribución de la estadística de prueba que está por arriba de los valores sobre el eje horizontal que constituyen la región de rechazo. Se ve entonces que α , es una probabilidad y es la probabilidad de rechazar una hipótesis nula verdadera. Dado que rechazar una H_0 verdadera sería un error, parece razonable hacer pequeña la probabilidad de rechazar una hipótesis nula verdadera y por ello los valores de α que se encuentran con más frecuencia son 0,01, 0,05, y 0,10.

El error que se comete cuando se rechaza una H_0 verdadera se conoce como Error tipo I y el error tipo II se comete cuando se acepta una hipótesis nula falsa. La probabilidad de cometer un error tipo II se designa por β .

2.2 Prueba de t.

A los efectos del análisis de la efectividad de un tratamiento o procedimiento experimental, suele utilizarse un método que utiliza observaciones relacionadas que se obtienen de muestras no independientes. Una prueba de hipótesis basada en este tipos de datos se denomina *prueba de comparaciones apareadas* o *de a pares*. Con frecuencia no hay diferencias reales entre dos poblaciones en lo que respecta a la variable de interés, pero la presencia de fuentes extrañas de variación provoca el rechazo de la hipótesis nula de no diferencia. Además, las diferencias reales también pueden ser enmascaradas por fuentes extrañas de variación (Daniel, 1987).

El objetivo de las pruebas de comparaciones apareadas es eliminar un número máximo de fuentes de variación extraña,

haciendo a las parejas semejantes con respecto a tantas variables como sea posible.

Las observaciones relacionadas o apareadas pueden obtenerse de distintas formas. Los mismos individuos pueden ser registrados antes y después de recibir un tratamiento. Camadas iguales pueden ser asignadas al azar para recibir uno y otro tratamiento.

En lugar de llevar a cabo el análisis con observaciones individuales, se utiliza como variable de interés la diferencia entre pares individuales de observaciones.

En el caso que nos ocupa, un lote de frutillas de la misma variedad y grado de madurez, fueron sometidas al tratamiento de impregnación a niveles de a_{wef} 0,95 con azúcares utilizando sacarosa y glucosa y sometiéndolas o no a la operación de escaldado. Se obtuvieron los datos de % de pérdida de peso en función del tiempo de impregnación (2,3,4,5,6,7,17,24,48,72,96,161 y 180 horas).

Se realizaron los ajustes de las curvas por regresión logarítmica y se sometieron los pares VS-S, VG-G, a una prueba de comparaciones de a pares. Por lo expuesto se considera que al mismo espécimen se lo somete a dos tratamientos, con y sin escaldado y dos tipos de azúcar.

Concentrándose en las diferencias, d_i , pueden calcularse las siguientes medidas descriptivas:

$$d = \frac{\sum d_i}{n}$$

donde:

d = diferencia promedio

n = número de observaciones

$$s_d^2 = \frac{\sum (d_i - d)^2}{n - 1} = \frac{n \sum d_i^2 - (\sum d_i)^2}{n(n-1)}$$

Nótese que $d = x_2 - x_1$

El planteo es: ¿los datos proporcionan evidencia suficiente como para concluir que la operación de escaldado es efectiva o influye en la pérdida de peso de la fruta durante la impregnación en azúcar? Ante esto se dirá que se tiene dicha evidencia si se rechaza la hipótesis nula (H_0) de que el cambio promedio verdadero μ_d , es cero o positivo. Puede llegarse a una decisión por medio del procedimiento de nueve pasos de la prueba de hipótesis.

Un ejemplo de la técnica a seguir es:

1. Datos: Los datos se registran como % de pérdida de peso en frutillas en 13 tiempos con o sin escaldado.

2. Suposiciones: las di observadas constituyen una muestra aleatoria de una población con distribución normal de diferencias que se generaron bajo las mismas circunstancias.

3. Hipótesis: Las siguientes son las hipótesis nula y alternativa planteadas:

$$H_0 : \mu_d = 0$$

$$H_A : \mu_d \neq 0 \text{ (ojo es distinto)}$$

4. Estadístico de prueba: la estadística de prueba apropiada es

$$t = \frac{d - \mu_d}{s_d}$$

donde: $sd = s_d / \sqrt{n}$ (sd es media)

Aunque se tienen dos muestras, los niveles escaldado y sin escaldar, se considera que interviene una sola variancia ya que se realiza sobre el mismo lote de individuos.

5. Distribución del estadístico de prueba: si la hipótesis nula es verdadera, la estadística de prueba está distribuida como la t de Student con n-1 grados de libertad.

6. Regla de decisión: sea $\alpha = 0.05$, se busca el valor crítico de t en tablas, para n-1 grados de libertad. Se rechaza H_0 si la t calculada es menor que el valor crítico.

7. Decisión estadística: Se rechaza H_0 dado que $t < t_c$.

2.3 Correlación

A los efectos de establecer si existe correlación entre la Fuerza máxima de extrusión promedio (Fmax), la cantidad de pectina total presente en la muestra y la cantidad de calcio de las mismas, se calculó el coeficiente de correlación r, entre ellas y se estableció si son significativos por medio de un test de hipótesis sobre el coeficiente de correlación.

El coeficiente de correlación muestral estima el coeficiente de correlación muestral (Ω) y representa el grado de

asociación entre dos variables (X e Y). La expresión para su cálculo es la siguiente:

$$r = \sum x.y / \sqrt{\sum x^2.y^2}$$

El rango de valores de r puede ser +1 (correlación positiva perfecta) a -1 (correlación negativa perfecta).

Para establecer si el coeficiente de correlación es significativo se realizó un test de hipótesis sobre el coeficiente de correlación a un nivel de significación de $\alpha = 0,05$. Para ellos se plante la Hipótesis nula H_0 : no existe correlación entre las variables comparadas ($\Omega = 0$). En el caso de muestras pequeñas se utiliza un test t cuyo estadístico es:

$$t_s = r. (\sqrt{n-2}) / \sqrt{(1-r^2)}$$

Se compara entonces el valor obtenido por el cálculo (t_s) con el de tablas para $(n - 2)$ grados de libertad y un nivel de significación $\alpha = 0,05$ (tabla). Si el valor calculado es menor que el tabulado se acepta la hipótesis nula respecto que la correlación no es significativa al nivel de probabilidad elegido. Si, por el contrario $t_s > t$ se rechaza la hipótesis nula y se puede concluir que al nivel de probabilidad elegido existe una correlación entre las dos variables comparadas.

3 - Análisis de Varianza:

3.1 Bloques completamente aleatorizados

El diseño experimental de *bloques completamente aleatorizados* es un diseño que se utiliza con mucha frecuencia. Fue desarrollado por R.A. Fischer hacia 1925 buscando soluciones para mejorar los experimentos en el campo de la agricultura.

Este diseño en bloque completos aleatorizados es un diseño en el que las unidades (llamados unidades experimentales), a las que se les aplican los tratamiento, se subdividen en grupos homogéneos llamados bloques, de modo que el número de unidades experimentales en un bloque es igual al número (o algún múltiplo del mismo) de tratamientos que se están estudiando. Se asignan entonces al azar los tratamientos a las unidades

experimentales dentro de cada bloque. Debe tenerse en cuenta que cada tratamiento aparece en todos los bloques y que cada bloque recibe todos los tratamientos.

El objetivo del diseño de bloque completamente aleatorizados es aislar y eliminar del término de error la variación atribuible a los bloques, a la vez que se asegura que las medias de los tratamientos estén libres de los efectos del bloque. La efectividad del diseño depende de la habilidad para lograr bloques homogéneos de unidades experimentales y esto depende del conocimiento del investigador sobre el material experimental. Este diseño puede utilizarse cuando el experimento debe llevarse a cabo en más de un laboratorio (bloque) o cuando se requieren varios días (bloques) para concluirlo.

En general los datos de un experimento que utilice este diseño pueden presentarse en una tabla como la siguiente:

Bloques	Tratamientos				Total Media		
	1	2	3	4....k			
1	x_{11}	x_{12}	x_{13}	x_{14}	x_{1k}	$T_{1.}$	$x_{1.}$
2	x_{21}	x_{22}	x_{23}	x_{24}	x_{2k}	$T_{2.}$	$x_{2.}$
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
n	x_{n1}	x_{n2}	x_{n3}	x_{n4}	x_{nk}	$T_{n.}$	$x_{n.}$
Total	$T_{.1}$	$T_{.2}$	$T_{.3}$	$T_{.4}$	$T_{.k}$	$T_{..}$	
Media	$x_{.1}$	$x_{.2}$	$x_{.3}$	$x_{.4}$	$x_{.k}$		$x_{..}$

Debe observarse la notación que aparece en esta tabla:

$$\text{el total del } i\text{-ésimo bloque} = T_{i.} = \sum x_{ij}$$

$$\text{la media del } i\text{-ésimo bloque} = x_{i.} = \frac{\sum x_{ij}}{k}$$

$$\text{y el gran total} = T_{..} = \sum T_{.j} = \sum T_{i.}$$

La técnica para analizar los datos a partir de este diseño se conoce como análisis de variancia bilateral ya que una observación se cataloga con base a dos criterios: el bloque al cual pertenece y el grupo de tratamiento del cual forma parte.

Los resultados de los cálculos para el diseño de bloques completos aleatorizados pueden presentarse en una tabla de variancia como la que se describe a continuación:

Fuente	SC	gl	CM	RV
Tratamientos	SC_{trat}	$(k-1)$	$CM_{trat}=SC_{trat}/(k-1)$	CM_{trat}/CM_{res}
Bloques	SC_{trat}	$(n-1)$	$CM_{bloq}=SC_{bloq}/(n-1)$	
Residuo	SC_{res}	$(n-1)(k-1)$	$CM_{res}=SC_{res}/(n-1)(k-1)$	
Total	SC_{total}	$kn-1$		

Cuando la H_0 es verdadera la cantidad CM_{trat}/CM_{res} está distribuida como F con $k-1$ grados de libertad del numerador y $(n-1)(k-1)$ grados de libertad del denominador. Por lo tanto se compara la razón de variancias calculada con el valor crítico de F (tabla). Si la razón de variancias calculada es mayor que el valor crítico de F, la H_0 se rechaza.

3.2 ANOVA multifactor

En el diseño experimental descripto precedentemente se ha considerado el efecto de una variable, los tratamientos. Puede existir la necesidad de tener que estudiar, en forma simultánea, los efectos de dos o más variables. A estas últimas se las denominará factores y el experimento en el que se investigan dos o más factores simultáneamente se conoce como experimento factorial o Anova multifactor. Las diferentes categorías designadas de los factores se conocen como niveles. En un experimento factorial no sólo pueden estudiarse los efectos de los factores individuales sino, que puede estudiarse también la interacción entre los factores. Se puede decir que existe interacción entre dos factores si un cambio en uno de los factores produce un cambio en respuesta a un nivel del otro factor distinto del producido en otros niveles de este factor.

Un arreglo factorial puede estudiarse con cualquier diseño, en este caso se ilustrará el análisis de un experimento factorial por medio de un diseño de bloques completamente aleatorizado de dos o más factores. En el caso de dos factores, los resultados pueden presentarse de acuerdo con la siguiente tabla:

Factor A	Factor B				Totales	Medias
	1	2	...	b		
1	X_{111}	X_{221}	...	X_{2b1}	$T_{1..}$	$X_{1..}$
	.	.	.	.		
	.	.	.	.		
	X_{11n}	X_{22n}	.	X_{2bn}		
2	X_{211}	X_{221}	...	X_{2b1}	$T_{2..}$	$X_{2..}$
	.	.	.	.		
	.	.	.	.		
	X_{21n}	X_{22n}	.	X_{2bn}		
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
a	X_{a11}	X_{a21}	...	X_{ab1}	$T_{a..}$	$X_{a..}$
	.	.	.	.		
	.	.	.	.		
	X_{ain}	X_{a2n}	.	X_{abn}		
Totales	$T_{.1.}$	$T_{.2.}$	.	$T_{.b.}$	$T_{...}$	
Medias	$X_{.1.}$	$X_{.2.}$	.	X_{1b1}		$X_{...}$

Se tienen aquí a niveles del factor A, b niveles del factor B y n observaciones para cada combinación de niveles. Cada una de las ab combinaciones de los niveles de un factor A con los niveles de un factor B es un tratamiento.

Pueden probarse las siguientes hipótesis:

- 1) $H_0: \alpha_i = 0 \quad i = 1, 2, \dots, a$
 $H_A: \text{no todos los } \alpha_i = 0$
- 2) $H_0: \beta_i = 0 \quad i = 1, 2, \dots, b$
 $H_A: \text{no todos los } \beta_i = 0$
- 3) $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i = 1, 2, \dots, b \quad j = 1, 2, \dots, a$
 $H_A: \text{no todos los } (\alpha\beta)_{ij} = 0$

Los resultados de los cálculos para el modelo de efectos fijos para un experimento completamente aleatorizado de dos factores pueden presentarse como se muestra en la siguiente tabla:

Fuente	SC	g.l.	CM	RV
A	SCA	a-1	$CMA = SCA / (a-1)$	CMA / CM_{res}
B	SCB	b-1	$CMB = SCB / (b-1)$	CMB / CM_{res}
AB	SCAB	(a-1)(b-1)	$CMAB = SCAB / (a-1)(b-1)$	$CMAB / CM_{res}$
Tratamientos	SC_{trat}	ab-1		
Residuo	SC_{res}	ab(n-1)	$CM_{res} = SC_{res} / ab(n-1)$	
Total	SC_{total}	abn-1		

Si cada hipótesis es verdadera, puede demostrarse que cada una de las razones de variancias que se muestran en la tabla anterior sigue una distribución F con los grados de libertad que se indican. Los valores críticos de F se obtienen de la **tabla 2**. Cuando se rechaza $H_0: \alpha_i = 0$, se concluye que existen diferencias entre los niveles de A, y de modo semejante si se rechaza $H_0: \beta_i = 0$ se concluye que existen diferencias entre los niveles de B. Cuando se rechaza $H_0: (\alpha\beta)_{ij} = 0$ se concluye que los factores A y B interactúan. Cuando se rechaza la hipótesis de no interacción, el interés en los niveles de los factores se subordina al interés en los efectos de interacción. Se tiene más interés en saber qué combinaciones de los niveles son significativamente distintas.

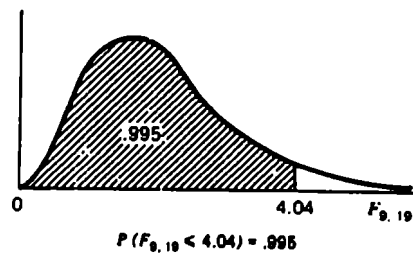
3.3 Prueba de Tukey

Cuando el análisis de varianza conduce al rechazo de la hipótesis nula de no diferencia entre las medias de las poblaciones, surge naturalmente pensar qué parejas de medias son distintas. Lo importante al probar las diferencias significativas entre las medias individuales es tener la certeza de que el procedimiento es válido. El punto crítico en el procedimiento es el nivel de significación. Aunque la probabilidad (α) de rechazar una hipótesis nula verdadera para la prueba como un todo se haga pequeña, la probabilidad de rechazar por lo menos una hipótesis verdadera cuando se prueban varias parejas de medias, es mayor que α .

A lo largo del tiempo han surgido diversos procedimientos para hacer comparaciones individuales. El más antiguo y el que más se utilizó en el pasado es el procedimiento de la **mínima diferencia significativa (MDS)** propuesta por Fisher (1935). Este método es una prueba de t de Student que utiliza una varianza mancomunada del error. Solo es válido cuando se hacen comparaciones independientes o comparaciones que se planean antes de que se analicen los datos. Una diferencia entre dos

Tabla 2: Percentiles de la distribución F

$F_{.995}$



$F_{.95}$

Grados de libertad del denominador	Grados de libertad del numerador								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

medias cualesquiera que exceda una mínima diferencia significativa se considera como significativa en el nivel de significación utilizado al calcular la MDS. Se utiliza este procedimiento cuando el análisis de varianza en conjunto conduce a una razón de varianzas (RV) significativa. La ecuación que se utiliza para su cálculo es la siguiente:

$$MDS = \sqrt{2 \cdot S \cdot t_{0,05} / \sqrt{N}}$$

donde,

- S raíz cuadrada de la media del cuadrado del error del análisis de varianza, o desviación estándar.
- $t_{0,05}$ valor de t para un nivel de significación del 5 % y
- n número de observaciones sobre las cuales están basadas las medias.

Dos medias cuya diferencia exceda el valor calculado de MDS son consideradas significativamente distintas.

En la actualidad, la **Prueba de amplitud múltiple de Duncan** es un procedimiento que se utiliza ampliamente en el análisis de las comparaciones múltiples. Esta prueba muestra si, dado un conjunto k de medias, son todas significativamente distintas o si algunas difieren y otras no.

La **Prueba de Dunnett** se aplica al caso especial donde uno de los tratamientos es el control y el objetivo es determinar cuál de las otras muestras es significativamente diferente de la media de control. Dunnett ha publicado tablas de t en las cuales t ha sido ajustado para arriba. Para niveles seleccionados de significación muestran el valor de t a ser usado de acuerdo a los grados de libertad y el número de medias de tratamientos, en un conjunto dentro del cual se van a realizar las comparaciones.

La **Prueba de diferencia verdaderamente significativa (DVS) de Tukey** es un procedimiento de comparación múltiple desarrollado por Tukey (1953). Se utiliza con frecuencia para probar las hipótesis nulas de que todas las parejas posibles de medias de los tratamiento son iguales cuando las muestras son del mismo tamaño.

La prueba de Tukey utiliza un solo valor con el cual se comparan todas las diferencias, este valor, llamado DVS, está dado por la expresión:

$$DVS = q_{\alpha, k, N-k} \sqrt{\frac{CM_{residual}}{n}}$$

donde,

- α es el nivel de significación elegido,
- k es el número de medias en el experimento,
- N número de observaciones en el tratamiento,
- $CM_{residual}$ el cuadrado medio residual o del error de la tabla de ANOVA,
- q se obtiene consultando la tabla correspondiente con los datos de α , k y $N-k$

Se calculan todas la diferencias posibles entre las parejas de medias y cualquier diferencia que proporcione un valor absoluto que exceda la DVS se considera significativa.

Cuando las muestras no son del mismo tamaño no se aplica el test de Tukey. Sin embargo Spjøtvoll y Stoline (1973) extendieron el procedimiento DVS al caso de tamaños de muestra distinto. Se aplica a experimentos que tienen tres o más tratamientos y niveles de significación de 0,5 o menos y consiste en reemplazar n por n_j , el más pequeño de los tamaños de muestra asociado con las muestras cuyas medias van a compararse. Designando la nueva cantidad por DVS^* , se tiene la nueva expresión:

$$DVS^* = q_{\alpha, k, N-k} \sqrt{\frac{CM_{residual}}{n_j}}$$

Cualquier valor absoluto de la diferencia entre las medias de dos muestras, una de las cuales se calcula a partir de una muestra de tamaño n_j que excede la DVS^* , se considera como significativo.

8 - BIBLIOGRAFIA

Albersheim P, Muhlethaler M y Frey-Wyssling A. (1960). *Stained pectin as seen in the electron microscope*. The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology. 8:501-505.

Aguilera JM, Stanley DW. (1990). Microstructural Principles of Food Processing and Engineering. Elsevier Applied Science, Essex, England.

Alzamora SM, Cerrutti P, Guerrero S, Lopez Malo A. (1994). *Minimally processed fruits by combined methods*. En: Food Preservation by Moisture Control. Fundamentals and Applications. ISOPOW Practicum II. G.V Barbosa Cánovas, J Welti-Chanes (eds). Technomic Publishing Co., Pennsylvania, USA.

Alzamora SM, Gerschenson LN, Cerrutti P, Rojas AM. (1987). *Shelf-stable pineapples for long-term non refrigerated storage*. Lebensm.Wiss.u.Technol. 22:233-236.

Andersson A, Gekas V, Lind Y, Oliveira F, Öste R. (1994). *Effect of preheating on potato texture*. Critical Reviews in Food Sci and Nutrition. 34:229-251.

Argaiz A, Lopez-Malo A. (1993). *Estabilidad de durazno conservado por factores combinados durante el almacenamiento*. Presentado al II Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos - XXIV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos de México. Marzo 14-17. Ciudad de México.

Argaiz A, Lopez-Malo A. (1994). Comunicación personal.

AVIFRUAR. (1992). Asociación Argentina de Viveristas de Frutilla. Publicado en el Curso de Capacitación INTA San Pedro, 1996.

Barnes MF, Patchett BJ. (1976). *Cell wall degrading enzymes and the softening of senescent strawberry fruit*. J.Food Sci. 41: 1392-1395.

Belitz HD, Grosch W. (1985). Química de los Alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. Cap. 18, pp 629-678.

Beveridge T, Tait V. (1993). *Structure and composition of apple juice haze*. Food Structure. 12:195-198.

Bourne MC, Moyer JC. (1968). *The extrusion principle in texture measurement of fresh peas*. Food Technology. 22:81-85.

Bourne MC. (1976). *Interpretation of Force Curves from Instrumental Texture Measurements*. En Rheology and Texture in Food Quality . JM deMan; PW Voisey; VF Rasper and DW Stanley (eds). The Avi Publishing Company, Westport, Connecticut. Cap. 6. pp 245-273.

Bourne MC. (1980). *Texture evaluation of horticultural crops*. Hort Science. 15:7-13.

Bourne MC. (1982). Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. Academic Press, London.

Buescher RW, Hudson JM, Adams JR. (1981). *Utilization of calcium to reduce pectinolytic softening of cucumber pickles in low salt conditions*. Lebensm.-Wiss.u.-Technol. 14:65-69.

Burns JK. (1991). *The polygalacturonases and lyases*. En The Chemistry and Technology of Pectin. RH Walter (ed.). Academic Press, New York, pp 165-188.

Cappelletti, CS. (1993). Elementos de Estadística. Cesarini Hnos (eds.). Argentina. pp 339-359.

Carpita NC, Gibeaut DM. (1993). *Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth*. The Plant Journal, 3:1-30.

Corona R. (1991). "Evaluación microbiológica del proceso de elaboración y estabilidad de higos (*Ficus carica* L.)

conservados por métodos combinados". MS Thesis. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Chi-Yue Chang, Hsiu-Jiuan Liao, Tzong-Pei Wu. (1996). *Relationships between the textural changes and the contents of calcium, magnesium ions, and non-freezing water in the alcohol-insoluble solids of snap bean pods during cooking processes*. Food Chemistry, 55:49-53.

Chirife J, Ferro Fontán C, Benmergui EA. (1980). *The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods*. IV.a, prediction in aqueous non-electrolyte solutions. J.Food Technol. 15:50-70.

d'Amour J, Gosselin C, Arul J, Castaigne F, Willemot C. (1993). *Gamma-radiation affects cell wall composition of strawberries*. J.Food Sci. 58:182-185.

Daniel WW. (1987). Bioestadística. Uteha, Noriega Editores. Argentina. pp 283-349, 254-260.

Darrow GM. (1966). The strawberry. Holt, Rinehart and Winston (eds). New York. XVI - p 447.

de Man JM, Voisey PW, Rasper VF, Stanley DW. (1976). Rheology and Texture in Food Quality. The Avi Publishing Company. Westport, Connecticut.

de Man JM. (1976). *Mechanical properties of foods*. En Rheology and Texture in Food Quality . JM de Man; PW Voisey; VF Rasper y DW Stanley (eds). The Avi Publishing Company. Westport, Connecticut. Cap 2. pp 8-27.

Díaz de Tablante RV, Tapia de Daza MS, Montenegro G, Gonzalez I. (1993). *Desarrollo de productos de mango y papaya de alta humedad estabilizados por métodos combinados*. Boletín Internacional de Divulgación n° 1. J Welti, F Vergara Balderas, P Cortés Salazar y L López Leal (eds). Universidad de las Américas, Puebla.

- Dimitri MJ. (1972). Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Editorial ACNE. Vol.I - Cap.IV. pp 440-467.
- Dimitri MJ, Nolberto OE. (1985). Tratado de Morfología y Sistemática Vegetal. Editorial Acme SACI, Bs.As., Argentina.
- Doyle MP (1990). *Fruits and vegetable safety-microbial considerations*. Hortscience 25:1478-1482.
- Duncan DV. *Multiple range and multiple-F test*. Biometrics. 11:1-42. Citado por Daniel W. (1987). En Bioestadística. UTEHA Noriega Editores. México.
- Esau K. (1985). Anatomía de las Plantas con Semilla. Editorial Hemisferio Sur. Argentina.
- Fahn A. (1985). Anatomía Vegetal. Ediciones Pirámide, S.A. Madrid, España. pp 19-65.
- Fischer RA. (1966). The Design of Experiments 8º edición. Oliver and Boyd eds., Edimburgo. Citado por Daniel W. (1987). En Bioestadística. UTEHA Noriega Editores. México.
- Fiszman SM, Costell E, Durán L.(1983). *Medida del comportamiento reológico de los alimentos sólidos.I.Bases teóricas*. Rev. Agroquím.Tecnol.Aliment., 23:165-172.
- Folquer F. (1986). La Frutilla o Fresa. Estudio de la Planta y su Producción Comercial. Editorial Hemisferio Sur. Argentina.
- Frazier WC, Westhoff DC.(1988). Food microbiology. McGrawHill Book Co., Singapore. pp 59-60.
- Freymy E. (1840). *Recherches: Sur la pectine et l'acide pectique*. J. Pharm. Chem. 26:368-393.
- French DA, Kader AA, Labavitch JM. (1989). *Softening of canned apricots: a chelation hypothesis*. J.Food Sci. 54:86-89.

García JM, Aguilera C, Albi MA. (1995). Postharvest heat treatment on spanish strawberry (*Fragaria x ananassa* Cv. Tudla). *J.Agric.Food Chem.* 43:1489-1492.

García JM, Herrera S, Morilla A. (1996). Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. *J.Agric.Food Chem.* 44:30-33.

Goepfert JM. (1980). Vegetables, fruits, nuts and their products. En Microbial Ecology of Foods. Vol II. JH Silliker, RP Elliot, AC Baird-Parker, FL Bryan, JHB Chirstian, DS Clark, JC Olson y TA Roberts (eds). Academic Press, New York, pp 606-642.

Goldberg R. (1984). Changes in the properties of cell-wall pectin methylesterase along the *Vigna radiata* hypocotyl. *Physiol. Plan.* 61:58-63.

Gormley TR, O'Beirne D, Christensen PE, Crochon M, De la Plaza JL, Hoehn E, Rosati P, Stanley R. (1988). Flavour, firmnes and composition of chilled strawberries-an interlaboratory study. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 21:25-28.

Gould GW, Brown MH, Fletcher BC. (1983). Mechanism of action of food preservation procedures. En Food Microbiology, Advances and Prospects. AT Roberts y FA Skinner (eds). Academic Press, Nueva York.

Grote M, Fromme HG. (1984). Electron microscopic investigations of the cell structure in fresh and processed vegetables (carrots and green beans pods). *Food Microstructure*, 3:55-64.

Guerrero S, Alzamora SM, Gerschenson LN. (1993). Development of a shelf-stable banana purée by combined factors: microbial stability. *Journal of Food Protection*, aceptado para su publicación ?????

Gutierrez M, Sola MM, Pascual L, Rodriguez-Garcia MI, Vargas AM. (1992). Ultrastructural changes in cherimoya fruit injured by chilling. *Food Structure*. 11:323-332.

He F, Purcell AE, Huber CS, Hess WM. (1989). *Effects of calcium, sucrose, and aging on the texture of canned great northern beans (Phaseolus vulgaris, L.)*. J. Food Sci. 54:315-318.

Heathcock JF, Chapman JA. (1983). *The structure of fresh and desiccated coconut*. Food Microstructure, 2:81-90.

Hoogzand C, Doesburg JJ. (1961). *Effect of blanching on texture and pectin of canned cauliflower*. Food Technol. 15:160.

Huber DJ. (1984). *Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicelluloses*. J. Food Sci. 49:1310-1315.

Ilker R, Szczesniak AS. (1990). *Structural and chemical bases for texture of plant foodstuffs*. J. Texture Stu. 21:1-36

INTA San Pedro (1996). *Curso de capacitación "Manejo del cultivo de frutillas"*. S.A.P. y A. INTA. Estación Experimental San Pedro, San Pedro, Buenos Aires, Argentina.

Jackman RL, Stanley DW. (1995). *Perspectives in the textural evaluation of plant foods*. Trends in Food Science & Technology. 6:187-194.

Javeri H, Toledo R, Wicker L. (1991). *Vacuum infusion of citrus pectinmethylesterase and calcium effects on firmness of peaches*. J. Food Sci. 53:739-742.

Jewell GG. (1979). *Fruits and Vegetables*. En Food Microscopy JG Vaughan (eds). Academic Press, New York, pp 1-34.

Johnson CF, Maxie EC, Elbert EM. (1965). *Physical and sensory test on fresh strawberries subjected to gamma radiation*. Food Technology, pp 119-123.

Kaláb M, Allan-Wojtas P, Miller SS. (1995). *Microscopy and other imaging techniques in food structure analysis*. Trends in Food Science & Technology. 6:177-186.

Kim NK, Hung YC. (1990). *Microscopic measurement of apple bruise*. Food Structure. 9:97-104.

Kim WJ, Sosulsky F, Campbell SJ. (1978). *Formulation and characteristics of low-ester gels from sunflower pectin*. J. Food Sci. 54:315-318.

Kovács E, Keresztes A. (1989). *The effect of irradiation on starch content in Golden Delicious apples*. Food Microstructure. 8:67-74.

Kramer A, Szczesniak A. (1973). Texture Measurements of Foods. R.Reiden Publishing Company, Dordrecht, Netherlands. pp 71-108.

Lee CY, Bourne MC, Van Buren JP. (1979). *Effect of blanching treatments on the firmness of carrot*. J. Food Sci. 44:615-616.

Leistner L. (1987). *Shelf stable products and intermediate moisture foods based on meat*. En Water activity: Theory and Applications to Food. LB Rockland y LR Beuchat (eds). Marcel Dekker, Nueva York.

Leistner L. (1992). *Food preservation by combined methods*. Food Res.Intern. 25:151-158.

Levi A, Ben-Shalom N, Plat D, Reid D. (1988). *Effect of blanching and drying on pectin constituents and related characteristics of dehydrated peaches*. J. Food Sci. 53:1187-1190, 1203.

Lewis DF. (1986). *Features of food microscopy*. Food Microstructure. 5:1-18.

Lin TT, Pitt RE. (1986). *Rheology of apple and potato tissue as affected by cell turgor pressure*. J. Texture Std. 17:291-313.

Lison L. (1976). Estadística Aplicada a la Biología Experimental. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. Capítulo I.

Main GL, Morris JR, Wehunt EJ. (1986). *Effect of preprocessing treatments on the firmness and quality characteristics of whole and sliced strawberries after freezing and thermal processing*. J. Food Sci. 51:391-394.

McFeeters RF, Fleming HP, Thompson RL. (1985). *Pectinesterase activity, pectin methylation, and texture changes during storage of blanched cucumber slices*. J. Food Sci. 50:201-205, 219.

McFeeters RF, Fleming HP. (1991). *pH effect on calcium inhibition of softening of cucumber mesocarp tissue*. J. Food Sci. 56:730-732, 735.

McFeeters RF. (1985). *Changes in pectin and cellulose during processing*. En Chemical changes in food during processing. T. Richardson and JW Finley (eds.). The AVI Publishing Company Westport, Connecticut. pp.347-370.

Monsalve -Gonzalez A, Barbosa-Cánovas G, Cavalieri RP. (1993). *Mass transfer and textural changes during processing of apples by combined methods*. J. Food Sci. 58:1118-1124.

Montes de Oca C, Gerschenson LN, Alzamora SM. (1991). *Effect of the addition of the fruit juices on water activity of sucrose-containing model system during storage*. Lebensm.-wiss.u.-Technol., 24:375-377.

Muller HG. (1973). Introducción a la Reología de los Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

Neal GE. (1965). *Changes occurring in the cell walls of strawberries during ripening*. J. Sci. Fd. Agric. 16:604-611.

Nieto AB, Mauri LM, Alzamora SM. (1994). Cuantificación de azúcares en frutas osmotizadas. Publicado en el Libro de Actas del VI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Primer Encuentro de los Técnicos de Alimentos del Cono Sur. pp 440-442.

Noller CR. (1986). Química de los Compuestos Orgánicos. Ediciones Médico-Quirúrgicas. Buenos Aires. Argentina. pp 932-933.

Normas EPA (Environment Protect Agency) (1986). Determinación de zinc por absorción atómica. Aspiración directa. Método n° 7950. USA.

Owusu Yaw J, Marshall MR, Koburger JA, Wei CI. (1988). *Low pH inactivation of pectinesterase in single strength orange juice*. J. Food Sci. 53:504-507.

Pasto D, Hohnson C. (1977). Determinación de Sustancias Orgánicas. Ediciones Reverté. México. pp 412-413.

Peleg M. (1993). *Tailoring texture for the elderly: theorical aspects and technological options*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 33:45-55.

Ponappa T, Scheerens JC, Miller AR. (1993). *Vacuum infiltration of polyamines increases firmness of strawberry slices under various storage conditions*. J. Food Sci. 58:361-364.

Proctor A y Peng LC. (1989). *Pectin transitions during blueberry fruit development and ripening*. J. Food Sci. 54:385-387.

Quintero-Ramos A, Bourne MC, Azaldúa Morales A. (1992). *Texture and rehydration of dehydrated carrots as affected by low temperature blanching*. J. Food Sci. 57:1127-1128, 1139.

Resnik SL, Favetto G, Chirife J, Ferro Fontán C. (1984). *A world survey of water activity values of certain saturated solutions at 25°C*. J. Food Sci. 49, 510.

Rinaudo M. (1989). *Effect of chemical structure of pectins on their interactions with calcium*. En Plant Cell Wall Polymers. Biogenesis and Biodegradation. N Lewis y M Paice (eds). American Chemical Society, Washington, DC. pp.325-332.

Rockland LB, Jones FT. (1974). *Scanning electron microscope studies on dry beans. Effects of cooking on the cellular structure of cotyledons in rehydrated large lima beans*. J. Food Sci. 39:342-346.

Ross KD. (1975). *Estimation of water activity in intermediate moisture foods*. Food Technol. 29:26-30.

Saio K, Nakano Y, Uemoto S. (1983). *Microstructure of winged beans*. Food Microstructure.2:175-181.

Sajjaanantakul T, Pitifer LA. (1991). *Pectinesterase*. En The Chemistry and Technology of Pectin. RH Walter (de). Academic Press, New York. pp 135-164.

Sajur S. (1985). *"Preconservación de duraznos por métodos combinados"*. MS Thesis. Universidad Nacional de Mar del Plata. Argentina.

Saldana G, Meyer R. (1981). *Effects of added calcium on texture and quality of canned jalapeno peppers*. J. Food Sci. 46:1518-1520.

Seow CC, Vasanti Nair CK, Lee BS. (1995). *Effects of processing on textural properties of food phytosystems*. En Food Preservation by Moisture Control. Fundamentals and Applications. ISOPOW Practicum II. GV Barbosa-Cánovas, J Welti Chanes (eds). Technomics Publishing Co., Lancaster, USA. pp 697-728.

Sistrunk WA, Moore JN. (1967). *Assesment of strawberry quality-fresh and frozen*. Food Technol. 21:449-453.

Sívorí EM, Montaldi ER, Caso OH. (1986). Fisiología Vegetal. Editorial Hemisferio Sur, Argentina. 1ra. reimpresión. Capítulos II y IV.

Sorrivas V, Morales A. (1983). Introducción a la Microscopía Electrónica. Editado por el Centro Regional de Investigaciones Básicas y Aplicadas de Bahía Blanca y el Banco del Sud. Bahía Blanca, Argentina.

Spjøtvoll E, Stoline MR. (1973). *An extension of the T-Method of Multiple Comparison to include the cases with unequal sample sizes*. Journal of American Statistical Association. 68:975-978. Citado por Daniel W. (1987). En Bioestadística. UTEHA Noriega Editores. México.

Splittstoesser DF. (1987). *Fruits and fruits products*. En Food and Beverage Mycology. LR Beuchat (ed). The AVI Publishing Company Westport, Connecticut. pp 83-109.

Stanley DW, Tung MA. (1976). *Microstructure of food and its relation to texture*. En Rheology and Texture in Food Quality JM deMan; PW Voisey; VF Rasper y DW Stanley (eds). Avi Publishing Company. Westport, Connecticut. Cap 3. pp 28-77.

Stanley DW, Bourne MC, Stone AP, Wismer WV. (1995). *Low temperature blanching effects on chemistry, firmness and structure of canned green beans and carrots*. J.Food Sci. 60:327-333.

Stanley DW. (1991). *Biological membrane deterioration and associated quality losses in food tissues*. Critical Reviews in Food Sci and Nutrition. 30:487-553.

Szczesniak AS, Smith J. (1969). *Observations on strawberry texture. A three-prolonged approach*. J.Text Stu. 1:65-89.

Szczesniak AS. (1962). *Clasificación de textural characteristics*. J. Food Sci. 28: 385-389.

Szczesniak AS. (1972). *Instrumental methods of texture measurements*. En Texture Measurements of Foods. A Kramer y A Szczesniak, (eds). R. Reiden Publishing Company. pp. 71-108.

Tapia de Daza MS. (1994). Comunicación personal.

Trakoontivakorn G, Patterson ME, Swanson BG. (1988). *Scanning electron microscopy of cellular structure of Granny Smith and Red Delicious apples*. Food Microstructure. 7:205-212.

Tukey JW. (1953). *The problem of Multiple Comparison*. Ditto, Princeton University. Citado por Daniel W. (1987). En Bioestadística. UTEHA Noriega Editores. México.

USDA Agricultural (1963) Handbook n° 8. Composition of Feeds.

Van Buren JP, Moyer JC, Wilson DE, Robinson WB, Hansen DB. (1960). *Influence of blanching conditions on sloughing, splitting and firmness of canned snap beans*. Food Technol. 14:233

Van Buren JP. (1991). *Function of pectin in plant tissue structure and firmness*. En The Chemistry and Technology of Pectin. RH Walter (ed).Academic Press, New York. pp 1-22.

Van Nostrand R.(1989). *Mechanisms and theory in food chemistry*. En Enzymes. Avi Publishing Company, New York. pp 221-225.

Voisey PM, Nonnecke IL. (1972a). *Measurement of pea tenderness.III. Field comparison of several methods of measurement*. J.Text Stud.3:329-358.

Voisey PM, Nonnecke IL. (1972b). *Measurement of pea tenderness.IV. Development and evaluation of the test cell*. J.Text Stud. 3:459-477.

Wade P. (1964). *The insoluble cell wall polysaccharides of strawberries during the later stages of ripening and after preservation and storage under commercial conditions*. J.Sci.Fd.Agric. 15:51-56.