

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE UN INHIBIDOR QUÍMICO
PARA RETARDAR EL PARDEAMIENTO DE FRESA DESHIDRATADA**

**JAVIER OSWALDO BECERRA NAVAS
JOSE MIGUEL SILVA SILVA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2018

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE UN INHIBIDOR QUÍMICO
PARA RETARDAR EL PARDEAMIENTO DE FRESA DESHIDRATADA**

**JAVIER OSWALDO BECERRA NAVAS
JOSE MIGUEL SILVA SILVA**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de
Ingeniero Químico**

**Director
LUIS JAVIER LÓPEZ GIRALDO
Ph.D. en Ciencia de Alimentos - Ciencia de Procesos**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2018

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	12
1. METODOLOGÍA	20
1.1 FASE I	20
1.1.1 Recolección y acondicionamiento del material de trabajo	20
1.2 FASE II.....	21
1.2.1 Montaje de las cámaras de humedad	21
1.2.2 Uso del sistema RGB en los cambios de color por medio de imágenes digitales usando ImageJ.	22
1.2.3 Punto de color aceptado por el consumidor.....	24
1.3 FASE III.....	25
1.3.1 Análisis Bromatológico.....	25
1.3.2 Cuantificación de vitamina hidrosoluble (Vitamina C).....	25
1.3.3 Método de inhibición por inmersión y selección del agente inhibidor de PPO	26
1.3.4 Extracción y cuantificación de polifenoles.....	27
1.3.5 Capacidad antioxidante DPPH.....	27
1.4 FASE IV	28
1.4.1 Determinación de la mejor temperatura de secado	28
1.5 FASE V	29
1.5.1 Seguimiento de la estabilidad de las fresas deshidratadas sin tratamiento ..	29
1.5.2 Seguimiento de color de las fresas deshidratadas con tratamiento.	29
1.5.3 Determinación del nuevo tiempo de pardeamiento	30
2. RESULTADOS Y ANÁLISIS	31
2.1 DETERMINACIÓN DE CONDICIONES ACELERADAS PARA EL PARDEAMIENTO DE LA FRESA	31

2.1.1 Análisis de punto de color aceptado por el consumidor	32
2.2 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y FUNCIONAL DEL PRODUCTO FRESCO Y DESHIDRATADO	34
2.2.1 Cuantificación de polifenoles totales y selección de agente inhibidor.	36
2.2.2 Capacidad antioxidante.....	39
2.3 DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA DE OPERACIÓN DEL SECADOR POR BANDEJAS	40
2.4 SEGUIMIENTO DE LA ESTABILIDAD EN FRESAS DESHIDRATADAS Y ESTIMACIÓN DE NUEVO TIEMPO DE PARDEAMIENTO.....	42
2.4.1 Seguimiento de la estabilidad de las fresas deshidratadas sin tratamiento ..	42
2.4.2 Seguimiento de color de las fresas deshidratadas con tratamiento	43
3. CONCLUSIONES	45
4. RECOMENDACIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS.....	52

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Reacción de pardeamiento enzimática	17
Figura 2. Plano de coordenadas RGB	19
Figura 3. Fases de desarrollo metodológico	20
Figura 4. Montaje de cámaras de humedad	22
Figura 5. Selección de puntos estrella	23
Figura 6. Fotografías de cambio de color para la encuesta	24
Figura 7. Seguimiento de color	32
Figura 8. Resultados encuesta aceptación de color	33
Figura 9. Productos de las reacciones de Maillard (Fuente autores)	35
Figura 10. Variación de la humedad final dependiendo de la temperatura	41
Figura 11. Datos del cambio de color del experimento 1 y condiciones de anaquel con sus respectivas regresiones.....	43
Figura 12. Gráfica de tiempo real nuevo a partir de las ecuaciones base y la gráfica acelerada inhibida	44
Figura 13. Enumeración de las cinco cámaras de humedad controlada.....	53

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición en vitaminas de la porción comestible en 100g de fresa fresca en base húmeda	14
Tabla 2. Diseño de experimentos para la influencia de luz y humedad	22
Tabla 3 Valores de R,G y B en el sistema RGB.....	23
Tabla 4. Tiempo de almacenamiento y coordenada R sistema RGB.....	25
Tabla 5. Parámetros del equipo de HPLC para análisis de vitamina C.....	26
Tabla 6. Niveles de concentración para los inhibidores químicos.....	26
Tabla 7. Valores de los criterios.....	29
Tabla 8. Coordenada R de cada experimento de color.....	31
Tabla 9. Resultados del análisis bromatológico (porcentajes en base seca).....	34
Tabla 10. Porcentajes presentes de sacarosa, glucosa y fructosa en base seca.	36
Tabla 11. CPT de fresa fresca, fresa deshidratada, y fresa deshidratada pardeada.....	37
Tabla 12. CPT a diferentes concentraciones de ácido ascórbico y ácido cítrico en fresas sin deshidratar	37
Tabla 13. CPT a diferentes concentraciones de ácido ascórbico en fresa sin deshidratar	39
Tabla 14. Capacidad antioxidante DPPH de fresa fresca, fresa deshidratada, fresa deshidratada pardeada, y fresa deshidratada inhibida a diferentes concentraciones.....	40
Tabla 15. Calificación de factores influyentes en el producto deseado.....	41
Tabla 16. Diseño de experimentos	52
Tabla 17. Días de experimentación	54
Tabla 18. Control de cámaras.....	55
Tabla 19. Cronograma de toma foto	56

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Protocolo 01	52
Anexo B. Protocolo 02	56

RESUMEN

TÍTULO: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE UN INHIBIDOR QUÍMICO PARA RETARDAR EL PARDEAMIENTO DE FRESA DESHIDRATADA*

AUTORES: JAVIER OSWALDO BECERRA NAVAS
JOSE MIGUEL SILVA SILVA**

PALABRAS CLAVE: Polifenoloxidasas, pardeamiento enzimático, sistema RGB y fresa deshidratada..

DESCRIPCIÓN:

Para la empresa Sensafruit S.A.S la fresa deshidratada representa un 20% de su producción anual, pero estas presentan problemas de pardeamiento total de tres a cuatro meses de producción, generándose pérdida del producto.

Se ha relacionado las reacciones de pardeamiento como una cadena de reacciones de oxidación de polifenoles a quinonas catalizada por la enzima polifenoloxidasas (PPO). En las reacciones mediadas por la PPO influyen factores como la humedad del alimento, la presencia de luz y oxígeno; por tanto, un estudio para la implementación de un método que retarde el pardeamiento, y mejoramiento en el secado, contribuirá a obtener una estabilidad visual.

Se realizó un montaje de cinco cámaras manipulando la humedad interna, y exposición de luz con el objetivo de acelerar la reacción de pardeamiento y realizar un seguimiento de color; además se realizó un análisis bibliográfico y experimental para seleccionar la concentración del inhibidor (ácido ascórbico y cítrico), se usaron como variables de respuesta del contenido de polifenoles totales, la capacidad antioxidante y el tiempo de pardeamiento como criterio final. Por último, se realizaron pruebas de secado en un deshidratador de bandejas a 45,55,65 y 75°C; el objetivo de esto fue determinar la temperatura de procesamiento que aumenta el tiempo en que se inicia el pardeamiento del producto, una vez ésta ha sufrido el proceso de inhibición descrito anteriormente. Para tal fin, se usaron como criterios la apariencia física, humedad y tiempo.

Se obtuvo como resultado una concentración de ácido ascórbico de 45mM en el proceso de pretratamiento, junto con una temperatura de 65°C y una velocidad de aire de 6 m/s en el proceso de deshidratación, aumentan el tiempo de inicio de pardeamiento según el consumidor de 3 a 4.8 semanas. Bajo estas condiciones se obtiene un producto deshidratado con una humedad final de 13.02%.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Luis Javier López Giraldo

ABSTRACT

TITLE: DECREASE OF THE UNCERTAINTY OF A COMMUNICATING VESSEL PATTERN FOR PRESSURE CALIBRATION, WITH A MANOMETRIC RANGE OF -5.2 kPa TO 5.2 kPa*

AUTHORS: Jairo Alberto Prieto Rojas - Cristian Eduardo Rojas Gómez**

KEYWORDS: Communicating Vessels, Uncertainty, Source of variability, Contribution of uncertainty, GUM Method, Accuracy.

DESCRIPTION:

The unsatisfied demand in Colombia, regarding the calibration of low pressures, is mainly due to the lack of secondary patterns that provide low uncertainty and have ONAC certification. The purpose of this research is to take the Dwyer 1425 Series Hook Gage communicating vessel pattern from the Gas CDT laboratory and modify it, in such a way that its uncertainty estimated by the GUM method is lower than the original one and therefore it is enabled to perform calibrations. To accomplish this aim, the uncertainty in the original pattern is first estimated to identify the sources of variability that most contribute to doubt in the measurements, from which it was obtained that the level measurement in the vessels is the most relevant source, due to its lack of precision. Secondly, 4 proposals focused on a decrease in the contribution by the level measurements were designed, to later choose one of these proposals based on the cost and the uncertainty, from which it was obtained that the best option is to suppress the measurement level in a vessel and incorporate optical improvements in the other to continue level measurements with micrometer. Finally, the differences of uncertainty between the original, modified pattern and the required uncertainty were compared, from there a significant gap was obtained between the original and modified uncertainty of pattern, in addition a compliance in the laboratory requirements was achieved in a manometric range of 2.5 kPa to 5.2 kPa, in pressure and vacuum.

* Undergraduate project

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Carlos Eduardo García Sánchez, PhD. Codirector: Jhon Alejandro Angulo

INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista comercial, la percepción sensorial que tiene el consumidor sobre un producto alimenticio es uno de los factores determinantes para su introducción y posicionamiento en el mercado; por ejemplo, el color es asociado como indicador de calidad¹. Además de las características sensoriales, el consumidor actual exige alimentos más saludables, naturales y que ayuden con el cuidado y fortalecimiento del cuerpo; por ello la innovación de alimentos que cumplan estas expectativas está creciendo. Los frutos deshidratados son alimentos que son naturales, no tienen conservantes ni aditivos que alteren su sabor o textura, además han sido de gran atracción para el consumidor ya que conservan la mayoría de sus constituyentes bioactivos y aumentan la vida útil de la fruta, permitiendo mayor manejo para exportación y venta que una fruta fresca.

Para la empresa productora de frutos deshidratados Sensafruit S.A.S ubicada en la ciudad de Duitama, Boyacá, en la región central andina colombiana, el aumento de interés en este alimento se debe al constante incremento de demanda especialmente en Medellín, Bogotá y Cali, ciudades grandes y urbanas donde la adquisición de productos saludables, no perecederos, de rápido y fácil consumo se consideran atractivos, por ello la técnica de deshidratación cuyo objetivo principal es disminuir la humedad de los mismos² ya sea por liofilización o secado por convección aumenta la conservación del alimento.

La liofilización se realiza bajo alto vacío y a temperaturas por debajo del punto de congelación, es un proceso de sublimación donde se convierte el agua en estado

¹ VÁSQUEZ RIASCOS AM. Estimación de las coordenadas CIEL* a* b* en concentrados de tomate utilizando imágenes digitales. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2015

² MONZÓN CIC. Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresa deshidratadas. Universitat Politècnica de València, 2006

sólido a estado vapor sin pasar por el estado líquido. La condición de vacío asegura la sublimación y por lo tanto el proceso se denomina también como secado por congelación al vacío. El producto final conserva la mayor parte de sus características originales, como la estructura, el tamaño, sabor, color y lo más importante, los nutrientes activos.

En el secado por convección se tiene lugar un transporte simultáneo de calor y materia, en estos secadores el calor se transfiere al alimento mediante una corriente de aire caliente que además de transmitir el calor necesario para la evaporación del agua, es también el agente transportador del vapor de agua que se elimina del alimento³. El secado por convección es frecuentemente un proceso lento, que requiere altas temperaturas externas para generar las diferencias de concentración requeridas⁴. Como consecuencia, los mecanismos de transferencia de calor y de materia involucrados durante el proceso dependen de variables inherentes al aire de secado (temperatura, velocidad, humedad, características del flujo, etc.) y al producto (humedad, forma, estructura, etc.)⁵.

Una de las frutas que se procesa en la empresa es la fresa, la cual, representa un 20% de su producción anual; está pertenece a la familia *Rosacea* y género *Fragaria*, es una planta herbácea que crece a alturas entre 1300 a 2300 msnm, tiene un tamaño de 2.5 a 4 cm, un pH entre 3.9-4.2 y con grados Brix: 7.5 – 11.

La fresa está constituida por agua (principalmente), lípidos, fibras, minerales, vitaminas liposolubles, carbohidratos, grasa y polifenoles, principalmente

³ FITO P, GRAU AMA, BAVIERA JMB, SORALLA AMA. Introducción al secado de alimentos por aire caliente. Primera. España: Universitat Politècnica de València; 2001

⁴ Ibíd.

⁵ MONZÓN CIC. Op. Cit.

antocianinas⁶, los cuales son pigmentos hidrosolubles localizados en las vacuolas, el tejido externo presenta mayor concentración de ellas que el tejido interno⁷.

Tabla 1. Composición en vitaminas de la porción comestible en 100g de fresa fresca en base húmeda

Tiamina (mg)	Riboflavina (mg)	Equivalente s Niacina (mg)	Vitamina B6 (mg)	Ácido fólico (ug)	Vitamin a B12 (ug)
0.02	0.04	0.6	0.06	20	0
Vitamin a C (mg)	Equivalente s retinol (ug)	Retinol (ug)	Caroteno s (ug)	Vitamin a D (ug)	Vitamin a E (mg)
60	1	0	4	0	0.2

Fuente: CHORDI BARRUFET S. Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad. B.S. thesis. 2013

De acuerdo con la información consignada en la tabla 1, la fresa es una excelente fuente de vitaminas, en las que sobresale la vitamina C. Así mismo, Guo *et al.*, (2003)⁸ reporta que la fresa es buena fuente de polifenoles, tales como las antocianinas responsables del color rojo del fruto y ácidos fenólicos, López do Campo (2017) calculó que este valor es de 17.79 [mg equivalentes de ácido gálico (AG)/g muestra seca]⁹. La vitamina C posee propiedades antioxidantes, las cuales ayudan a prevenir procesos degenerativos¹⁰. Los polifenoles se asocian con la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y de procesos inflamatorios.

⁶ *Ibíd.*

⁷ HOLCROFT DM, KADER AA. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biol Technol* 1999;17:19–32.

⁸ GUO C, YANG J, WEI J, LI Y, XU J, JIANG Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr Res* 2003;23:1719–26. doi:10.1016/j.nutres.2003.08.005

⁹ LÓPEZ DO CAMPO J. Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico 2017

¹⁰ DAVEY MW, MONTAGU M VAN, INZÉ D, SANMARTIN M, KANELIS A, SMIRNOFF N, et al. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food Agric* 2000;80:825–860

Sin embargo, después de deshidratada la fresa presenta problemas de pardeamiento al cabo de tres semanas de producción según la percepción del consumidor, el pardeamiento cambia su color rojo a un marrón no agradable que ocasiona un rechazo por parte del consumidor y, por tanto, pérdida del producto procesado. La principal causa de este cambio de color es debido a una cadena de reacciones de oxidación de los polifenoles a quinonas, catalizados por la enzima PPO; por tanto, el objetivo de este trabajo será realizar un estudio que permita la implementación de un pretratamiento de inhibición de esta enzima, y la determinación de las condiciones de secado que aumenten el tiempo necesario para que inicie el pardeamiento del producto deshidratado.

Las enzimas son biomoléculas especializadas en la catálisis de las reacciones químicas que generalmente se encuentran localizadas en el interior de la célula, se caracterizan por poseer un alto grado de especificidad química y su actividad endógena se ve fuertemente influenciada por varios factores como el pH, actividad de agua, temperatura, concentración del sustrato, y concentración de la misma¹¹.

Debido a su función natural al interior de la célula, las enzimas causan pérdidas en el valor nutritivo, sabor y la textura de matrices vegetales. Entre las enzimas con mayor influencia en los tejidos vegetales, se encuentra; la lipoxigenasa presente en cereales, oxigenosas, presentes en hortalizas, soja y frutas¹², la poligalacturonasa

¹¹ ACEVES MA. ENZIMAS: ¿Qué son y cómo funcionan? 2006

¹² YOSHIE-STARK Y, WÄSCHE A. Characteristics of crude lipoxygenase from commercially de-oiled lupin flakes for different types of lupins (*Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius*). *Food Chem* 2004;88:287–92. doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.005

presente en el tomate y manzana^{13 14 15 16 17}, y la PPO presente en pera, manzana, fresa¹⁸ y banano¹⁹ entre otras.

La PPO está relacionada con el pardeamiento enzimático en frutas y tubérculos; el pardeamiento depende principalmente de factores como la humedad presente en el alimento, la presencia de luz y oxígeno. Dependiendo de los parámetros mencionados en el párrafo anterior se aceleran las reacciones de oxidación de los polifenoles a sus respectivas formas quinónicas, dando como resultado el pardeamiento del producto²⁰. Como se muestra en la Figura 1 la reacciones de pardeamiento tiene dos etapas en las que interviene la PPO: la primera comienza con la hidroxilación de los polifenoles a ortodifenoles y la segunda inicia con la oxidación de estos a quinonas, las cuales se polimerizan y conducen al pardeamiento del producto.

¹³ COOK BJ, CLAY RP, BERGMANN CW, ALBERSHEIM P, DARVILL AG. Fungal polygalacturonases exhibit different substrate degradation patterns and differ in their susceptibilities to polygalacturonase-inhibiting proteins. *Mol Plant Microbe Interact* 1999;12:703–711

¹⁴ DE LORENZO G, D'OVIDIO R, CERVONE F. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi. *Annu Rev Phytopathol* 2001;39:313–335

¹⁵ FISH WW, DAVIS AR. The purification, physical/chemical characterization, and cDNA sequence of cantaloupe fruit polygalacturonase-inhibiting protein. *Phytopathology* 2004;94:337–344

¹⁶ GOMATHI V, GNANAMANICKAM SS. Polygalacturonase-inhibiting proteins in plant defence. *Curr Sci-BANGALORE*- 2004;87:1211–1217

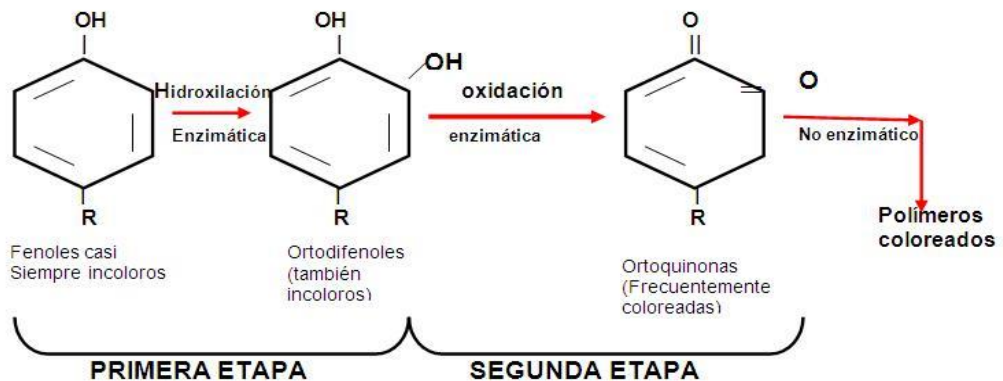
¹⁷ PROTSENKO MA, BULANTSEVA EA, Korableva NP. Polygalacturonase-inhibiting proteins in plant fleshy fruits during their ripening and infections. *Russ J Plant Physiol* 2010;57:356–62. doi:10.1134/S1021443710030064

¹⁸ MONZÓN CIC. Op. Cit.

¹⁹ GUERRERO ERASO CA, others. Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (Cavendish valery) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, 2009

²⁰ *Ibíd.*

Figura 1. Reacción de pardeamiento enzimática



Debido a los efectos negativos que conlleva la actividad enzimática de la PPO en los productos con destino a consumo humano es de vital importancia retardar o inhibir el efecto que tiene esta enzima.

La inactivación de la enzima PPO permite reducir las pérdidas de polifenoles causadas por el pardeamiento. Se han reportado varios métodos y tecnologías, entre los que se encuentran la adición de agentes inhibitorios, tratamiento térmico y otros²¹.

Los agentes inhibitorios más comúnmente utilizados para el control son sulfitos, pero debido a los efectos adversos para la salud se implementan agentes reductores (ácido ascórbico, glutatión y L-cisteína)²². La cisteína y el ácido ascórbico son compuestos eficaces para prevenir la reacción de pardeamiento²³, encontraron que los inhibidores ácido ascórbico, L-cisteína y m-bisulfito de sodio inducen un alto grado de inhibición sobre la PPO. Por ejemplo, L-cisteína es eficaz en la prevención del pardeamiento del zumo de manzana en concentraciones de 1-

²¹ HERNANDEZ VALDEZ CE. Acción y efectos de la polifenoloxidasas en alimentos 2009

²² DALMADI I, RAPEANU G, VAN LOEY A, SMOUT C, HENDRICKX M. Characterization and inactivation by thermal and pressure processing of strawberry (fragaria ananassa) polyphenol oxidase: a kinetic study. J Food Biochem 2006;30:56–76. doi:10.1111/j.1745-4514.2005.00045.x.

²³ Ibíd.

1.8 mM²⁴ y 4 mM²⁵ , logrando una inactivación de la enzima por encima del 90%. Con respecto al ácido cítrico se encontró que reduce el pardeamiento capturando o quelando el cobre del sitio activo de la PPO a concentraciones equivalentes entre 30mM y 60mM, y potencia el efecto de compuestos tales como el ácido ascórbico²⁶, con respecto a fresa deshidratada a lo mejor de nuestro conocimiento no se reporta información precedente de estudios realizados de inhibición de la PPO.

No obstante, el efecto de estos agentes reductores puede considerarse temporal debido a que estos compuestos se oxidan irreversiblemente por reacción con compuestos intermedios de pigmentos, enzimas endógenas y metales como el cobre²⁷.

En lo que se refiere a la fresa deshidratada, el principal efecto visual es el cambio de color como se mencionó anteriormente, este fenómeno puede usarse como parámetro de respuesta para hacer un seguimiento minucioso del pardeamiento del producto conforme el tiempo de anaquel varía. La idea básica es procesar las imágenes digitales de la fresa deshidratada utilizando el software ImageJ (o software equivalente), permitiendo así un análisis rápido de la totalidad de la imagen transformando la imagen capturada a un sistema de coordenadas RGB con alta confiabilidad. Este tipo de aproximación ha sido empleado con anterioridad para procesos asociados con calidad sensorial de pastas de tomate²⁸.

²⁴ DENOYA GI, ARDANAZ M, SANCHO AM, BENÍTEZ CE, GONZÁLEZ C, GUIDI S. Efecto de la aplicación de tratamientos combinados de aditivos sobre la inhibición del pardeamiento enzimático en manzanas cv. Granny Smith mínimamente procesadas. RIA Rev Investig Agropecu 2012;38:263–267

²⁵ GOMATHI V, GNANAMANICKAM SS. Op. Cit.

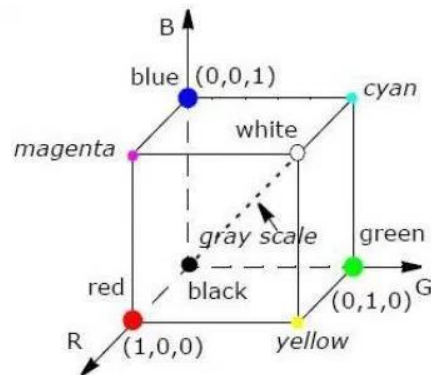
²⁶ DENOYA GI, ARDANAZ M, SANCHO AM, BENÍTEZ CE, GONZÁLEZ C, GUIDI S. Op. Cit.

²⁷ QUEIROZ C, MENDES LOPES ML, FIALHO E, VALENTE-MESQUITA VL. Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. Food Rev Int 2008;24:361–75. doi:10.1080/87559120802089332

²⁸ VÁSQUEZ RIASCOS AM. Op. Cit.

El modelo RGB es uno de los más usados²⁹, su nombre se deriva de las siglas en inglés “Red Green Blue” correspondiente a los colores primarios en los que se basa “Rojo, Verde y Azul”, colores primarios que se pueden mezclar para lograr producir nuevos colores del espectro³⁰. En la figura 2 se puede apreciar de manera esquemática cómo la intensidad de los colores se relaciona a una escala discreta en un eje de coordenadas.

Figura 2. Plano de coordenadas RGB



La medición del color en frutas y alimentos adquiere más importancia en la industria alimentaria³¹; el color es un parámetro que se emplea en este tipo de industria para realizar clasificaciones de productos, evaluación de materias primas, control de procesos y características específicas de ciertos alimentos³², además los resultados de estas mediciones lograrán indicar el manejo adecuado de los alimentos o materias primas para obtener la máxima calidad del producto final.

²⁹ TKALCIC M, TASIC JF. Colour spaces: perceptual, historical and applicational background. vol. 1. IEEE; 2003

³⁰ IBRAHEEM NA, HASAN MM, KHAN RZ, MISHRA PK. Understanding color models: a review. ARPN J Sci Technol 2012;2:265–275

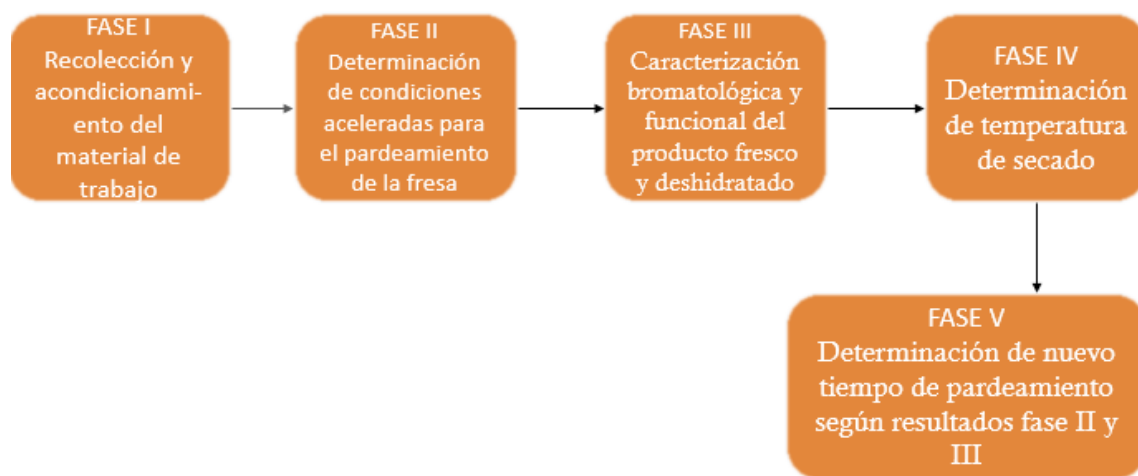
³¹ VÁSQUEZ RIASCOS AM. Op. Cit.

³² *Ibíd.*

1. METODOLOGÍA

La metodología propuesta se resume en la figura 3, conformada por cinco fases, las cuales se explican a continuación.

Figura 3. Fases de desarrollo metodológico



1.1 FASE I

1.1.1 Recolección y acondicionamiento del material de trabajo La fresa fresca se adquirió en la plaza de mercado de la ciudad de Bucaramanga, teniendo en cuenta tipo, madurez, tamaño y color similares. Una vez se tuvo el material, éste fue transportado al laboratorio del Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICTA). En el laboratorio, el material fue sometido a un proceso de selección y limpieza con una solución de hipoclorito de sodio al 0.05% p/p para su uso inmediato. En el caso de fresa deshidratada, la empresa Sensaf Fruit S.A.S proporcionó una muestra del lote más reciente, (no mayor a 5 días después de su

procesamiento), el material llegó directamente al laboratorio CICTA y se almacenó a 4°C hasta su uso.

1.2 FASE II

1.2.1 Montaje de las cámaras de humedad El pardeamiento en fresa es producto de varias reacciones catalizadas por la PPO. Así mismo, parámetros fisicoquímicos como la temperatura, el pH, la intensidad de la luz, la humedad del medio y la presencia de oxígeno, juegan un papel determinante en la velocidad a la cual ocurren las reacciones asociadas con el pardeamiento. Para el alcance de este estudio se evaluó el efecto que tienen la humedad y la luz de un ambiente de anaquel simulado en laboratorio, sobre el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante. Para mantener la humedad del medio ambiente constante, se usaron cámaras en donde se ubicaron sales saturadas de sulfato de aluminio³³ y gel de sílice³⁴, estas sales generan un medio de humedad relativa constante. Seguidamente se permitió que el medio se equilibre durante una semana, después de la cual se tendrá una humedad de 78-80% y 8-10% respectivamente. En lo que respecta a las condiciones de exposición de luz el valor máximo se fijó por exposición 24/24 horas del día y como valor mínimo 0/24 durante todo el experimento. En cada unidad experimental se dispusieron 5 g de fresa deshidratada. En la tabla 2 se puede observar el orden respectivo de los experimentos, sienta (+) el mayor valor que toma cada variable, y (-) el menor valor.

³³ PLACIDO M, ALEMÁN MP. Método higrométrico rápido para determinar actividad del agua rapid hygrometric method for determining water activity método higrométrico rápido para determinar actividade da auga. Cienc Tecnol Aliment 2002;3:229–35. doi:10.1080/11358120209487733

³⁴ MARTINA P, AEBERHARD A, AEBERHARD R, VENTÍN A, CORACE J. Algunos ensayos sobre la regeneración de la sílica gel y su aplicación al secado del aire n.d.

Tabla 2. Diseño de experimentos para la influencia de luz y humedad

Experimento	Humedad	Luz
1	+	+
2	+	-
3	-	+
4	-	-

Para llevar a cabo el experimento se emplearon cinco cámaras de humedad (Figura 4), siguiendo el procedimiento consignado en el anexo 1 “Evaluación de la influencia de humedad y luz en el pardeamiento de fresa deshidratada”.

Figura 4. Montaje de cámaras de humedad



1.2.2 Uso del sistema RGB en los cambios de color por medio de imágenes digitales usando ImageJ. El seguimiento al color en el fruto seco se realizó empleando el programa ImageJ, el cual usa coordenadas RGB para realizar un análisis colorimétrico³⁵. La obtención de las coordenadas de color utilizando el

³⁵ VÁSQUEZ RIASCOS AM. Op. Cit.

software libre ImageJ inició con la selección de las imágenes a procesar. Seguidamente, el software carga la imagen y por medio de puntos estrellas se indica la zona a evaluar (Figura 5), finalmente se obtienen los valores en el espacio RGB (Tabla 3)³⁶, de los cuales se seleccionó el color rojo como indicador del grado de pardeamiento. De manera general, una fresa que acaba de pasar por el proceso de deshidratación tiene un valor en la coordenada rojo entre 190-200; a medida que el pardeamiento del fruto aparece, el valor disminuye hasta alcanzar valores de 80-90. Para mayor detalle del uso del software y procesamiento de la información, se puede consultar en el anexo 02.

Figura 5. Selección de puntos estrella

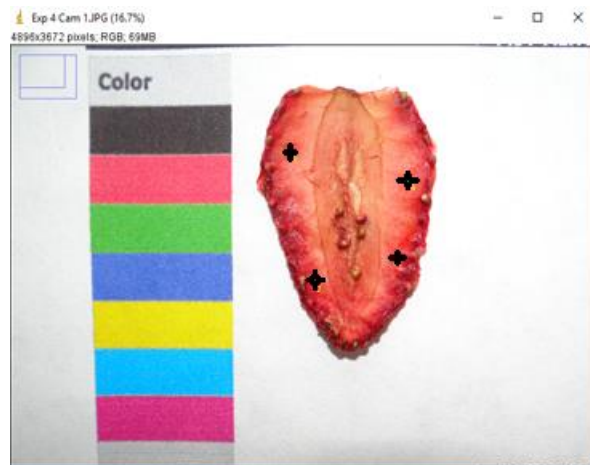


Tabla 3. Valores de R, G y B en el sistema RGB

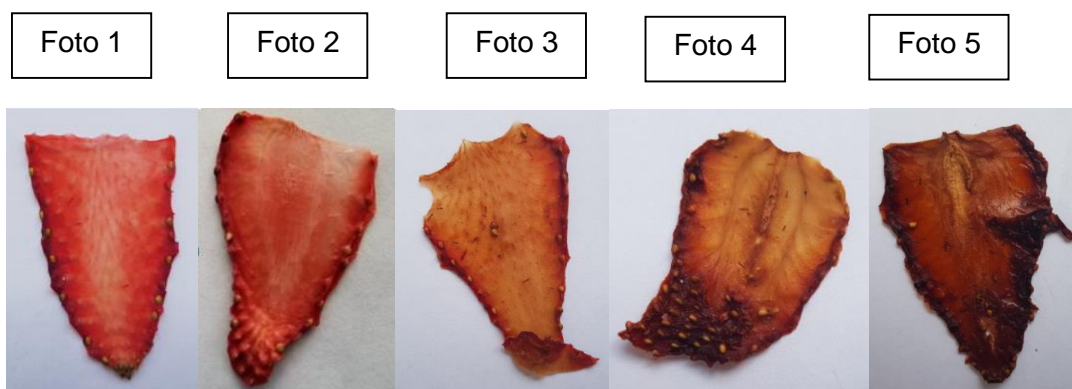
Color	Valor RGB
Red	201
	198
	194
	205
Green	80
	78
	85

³⁶ LINO ACL, SANCHES J, FABBRO IMD. Image processing techniques for lemons and tomatoes classification. *Bragantia* 2008;67:785–789

Color	Valor RGB
	82
Blue	90
	95
	88
	92

1.2.3 Punto de color aceptado por el consumidor. Se realizó una encuesta pública sobre la aceptación visual de la fresa deshidratada no tratada, es decir, el color más oscuro que acepta el consumidor. El objetivo fue estimar el punto de aceptación visual y relacionarlo con el valor de la coordenada R y el tiempo que tarda la fresa deshidratada en iniciar el pardeamiento. La encuesta consistió en responder la pregunta “Con base en el color de las fotografías de fresa deshidratada mostradas a continuación, seleccione aquellas que usted consumiría”.

Figura 6. Fotografías de cambio de color para la encuesta



Cada una de las fotos (Figura 6) tienen tiempos y valores en la coordenada R como se muestra en la tabla 4. Se seleccionaron las fotos que superen el 45% de aprobación del total de los consumidores.

Tabla 4. Tiempo de almacenamiento y coordenada R sistema RGB

Foto	Tiempo [semanas]	Coordenada R (Red)
1	0	198
2	3	182.5
3	6	140
4	9	102.5
5	12	86.5

1.3 FASE III

1.3.1 Análisis Bromatológico. Muestras representativas de fresa fresca y deshidratada fueron caracterizadas desde un punto de vista fisicoquímico; esta caracterización incluyó los siguientes análisis: i) Determinación del contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y carbohidratos presentes en la muestra, utilizando los métodos 966,02; 923,03; 920,39; 920,87 y 962,09 de la *Official Analytical Chemists Association* (18th Ed. AOAC, 1996)

1.3.2 Cuantificación de vitamina hidrosoluble (Vitamina C). Inicialmente, 2 g de muestra de fresa deshidratada y 5 ml de fresa fresca licuada, fueron sometidos a un proceso de extracción usando ácido metafósforico (MPA) a una concentración del 3% p/v; la relación de fresa deshidratada: solvente fue de 2g/3ml, y la relación de fresa fresca: solvente fue de 5 ml/3ml. Después, el medio de extracción fue centrifugado a 4500 rpm durante 10 min. Luego el sobrenadante se filtró empleando un filtro de 0.45 micras para finalmente inyectar el filtrado en el equipo de cromatografía líquida.

La determinación del contenido de vitamina C se realizó empleando cromatografía líquida. Los resultados se expresan en términos de mg de ácido ascórbico por 100g de muestra. En la tabla 5 se resumen las condiciones de análisis empleadas:

Tabla 5. Parámetros del equipo de HPLC para análisis de vitamina C

Parámetros	Especificaciones
Columna	SEA 185 um 25 x 0,46
Temperatura	30°C
Volumen de inyección	20 uL
Flujo	1 ml/min

1.3.3 Método de inhibición por inmersión y selección del agente inhibidor de PPO. Después de una revisión bibliográfica se identificaron los principales inhibidores de la PPO, así como las concentraciones típicas empleadas para lograr inhibición o retardo de esta enzima en otro tipo de matrices. Se descartó el uso de sulfitos por su toxicidad y L-Cisteyna por su elevado costo, mientras el ácido ascórbico y cítrico son de fácil adquisición y económicos pensando en el costo a escala industrial. Además según Rapeanu *et al.* (2006)³⁷ el ácido ascórbico presenta alto grado de inhibición en PPO. En lo que respecta al ácido cítrico³⁸ declaran que su uso reduce el pardeamiento en manzana gracias a la manipulación del sitio activo de la PPO, por ello se escogieron estos dos últimos para las pruebas como agentes químicos de inhibición.

Posteriormente se procedió a realizar inmersiones por cinco minutos de 137 g de fresas previamente cortadas de manera transversal con 500 ml de solución de cada uno de los inhibidores seleccionados (ácido ascórbico y ácido cítrico). Las concentraciones evaluadas fueron las relacionadas en la tabla 6.

Tabla 6. Niveles de concentración para los inhibidores químicos

Agente químico	Nivel Bajo	Nivel Alto
Ácido Cítrico	5mM	60mM
Ácido Ascórbico	5mM	60mM

³⁷ DALMADI I, RAPEANU G, VAN LOEY A, SMOUT C, HENDRICKX M. Op. Cit.

³⁸ DENOYA GI, ARDANAZ M, SANCHO AM, BENÍTEZ CE, GONZÁLEZ C, GUIDI S. Op. Cit.

Cada una de las muestras tratadas según se describió en los párrafos anteriores fueron analizadas en cuanto al contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante. Estas variables sirvieron para seleccionar el agente inhibidor apropiado.

1.3.4 Extracción y cuantificación de polifenoles Para la extracción y determinación del contenido de polifenoles totales (CPT) se usó el método descrito por Chordi Barrufet (2013)³⁹. Se agregó 20ml de solución 80/20 de etanol agua a 2 g de muestra previamente homogeneizada. Se calentó la mezcla con agitación constante (150 rpm) a 60°C durante 15 minutos, posteriormente se centrifugo a 3500 rpm durante 15 minutos; a la muestra centrifugada se agregó nuevamente 20 ml de solución 80/20 de etanol agua y se repitió el procedimiento dos veces más. El extracto obtenido se roto evaporó (103 mBar) y aforo en un volumen de 25ml con solución 50/50 etanol agua. Luego se tomaron 50µl del extracto, se mezclaron con 1.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu (10% v/v). Seguidamente la mezcla reaccionante fue incubada por 5 minutos bajo condiciones de oscuridad. Luego se agregaron 1.5ml de una solución de carbonato de sodio (7.5 % p/v) y la mezcla final se dejó en reposo durante 60 minutos. La absorbancia de las muestras se midió a 765 nm, usando agua destilada como blanco. Finalmente, el CPT se determinó a través de una curva de calibración construida con ácido gálico como estándar, y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca.

1.3.5 Capacidad antioxidante DPPH. Los reactivos utilizados para este método fueron Trolox, DPPH y metanol. En tubos de 5 ml se agregaron 100 ul de extracto; seguidamente se añadieron 3.9 ml de la solución 60 uM DPPH en metanol. La mezcla reaccionante se dejó en reposo al abrigo de la luz durante 30 minutos,

³⁹ CHORDI BARRUFET S. Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad. B.S. thesis. 2013

después de los cuales se midió la absorbancia a 515 nm. La capacidad antioxidante se determina usando una curva de calibración realizada con Trolox, y los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca.

1.4 FASE IV

1.4.1 Determinación de la mejor temperatura de secado. Se evaluó el efecto que tiene la temperatura de secado sobre la humedad final, el tiempo de estabilización y apariencia física. El procedimiento que se siguió es el siguiente:

A partir de 137.5 g de fresa previamente tratada siguiendo los procedimientos descritos en la sección 2.3.3, fueron colocados en un secador de bandejas. Seguidamente, se realizaron experimentos variando la temperatura de entrada de aire a 45, 55, 65 y 75°C.

La elección de la temperatura de operación se realizó usando una matriz que empleó un método de ponderación, cada criterio se evaluó con un valor entero de cero (0) a cinco (5) donde cero indica incumplimiento del criterio y cinco indica su cumplimiento.

La forma de calificación y valor de cada criterio se muestra a continuación (ver tabla 7):

- **Tiempo de operación:** El tiempo de deshidratado depende de la masa inicial de fresa a deshidratar, para las cuatro temperaturas se realizaron experimentos con la misma masa inicial de 137.5g de fresa fresca, a la temperatura que logró el menor tiempo de secado se le calificó con un valor de cinco.
- **Humedad final:** Este criterio es muy importante en el estudio de este trabajo por eso tiene el porcentaje más alto de los cuatro criterios, según la resolución 003929 de 2013 del ministerio de salud y protección social colombiana, los

productos deshidratados deben contener mínimo 12% de humedad, por tanto, se le asignará un valor de cinco a la temperatura que llegue a este valor.

- **Apariencia Física:** Para evaluar este criterio se tendrá en cuenta los resultados de la encuesta, se asignó un valor de cinco a aquellas fresas que tengan apariencia física similar obtenida en los resultados de la encuesta, para ello se tendrá en cuenta como apoyo el valor de la coordenada R del sistema RGB.

Tabla 7. Valores de los criterios

CRITERIO	VALOR
Tiempo de operación	25%
Humedad Final	50%
Apariencia física	25%

1.5 FASE V

1.5.1 Seguimiento de la estabilidad de las fresas deshidratadas sin tratamiento

Una masa de 40 g de fresa deshidratada proporcionadas por la empresa Sensafruit S.A.S fueron dejadas en anaquel bajo condiciones ambientales. Cada semana, se retiró una muestra representativa de fresa deshidratada y se tomó una fotografía siguiendo el procedimiento descrito en el anexo 1. Seguidamente, se determinó su color usando la escala RGB, tal y como se describe en el anexo 2. Este procedimiento se repitió cada semana hasta alcanzar un valor mínimo en el sistema RGB que equivale a un color marrón.

1.5.2 Seguimiento de color de las fresas deshidratadas con tratamiento

Una masa de 5 g de fresas deshidratadas fueron dispuestas en cámaras de humedad y exposición a la luz (según se describe en la sección 2.2.1). Cada semana, se retiró una muestra representativa de fresa deshidratada y se tomó una fotografía siguiendo el procedimiento descrito en el anexo 1. Seguidamente, se determinó su color usando la escala RGB, tal y como se describe en el anexo 2. Este

procedimiento se repitió cada semana hasta alcanzar un valor de color de rojo en la escala RGB que equivale a la percepción que tendría un consumidor de inicio del proceso de pardeamiento (aparición del color marrón).

1.5.3 Determinación del nuevo tiempo de pardeamiento Se determinó con base en los datos obtenidos de color en el sistema de coordenadas RGB de la fresa deshidratada sin tratamiento y con tratamiento explicado en las secciones 2.5.1 y 2.5.2; además, se ajustaron ecuaciones matemáticas correspondientes a cada curva de seguimiento de color. Los ajustes de estas ecuaciones se realizaron con el programa CurveExpert Professional 2.4.0.

2. RESULTADOS Y ANÁLISIS

2.1 DETERMINACIÓN DE CONDICIONES ACELERADAS PARA EL PARDEAMIENTO DE LA FRESA

En la tabla 8 se muestran los resultados asociados con el seguimiento del color de fresas deshidratadas que fueron sometidas a un proceso de pardeamiento acelerado. De acuerdo con los resultados, los rojos más intensos (mayores valores de la coordenada R), se obtienen para aquellos experimentos en donde el contenido de humedad y la exposición a la luz fueron los más bajos. Estos resultados pueden explicarse si se considera que una menor humedad del medio disminuye la actividad del agua y por consiguiente la velocidad de las reacciones de pardeamiento causadas por la PPO, dando como resultado una prolongación del color rojo por más tiempo.

Tabla 8. Coordenada R de cada experimento de color

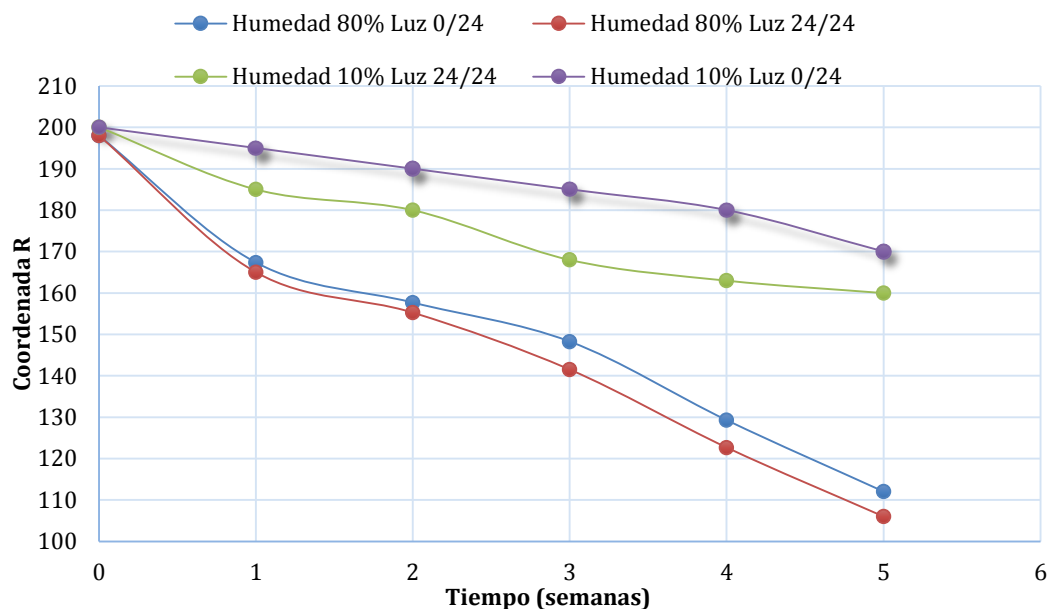
Tiempo (semanas)	Humedad 80% Luz 24/24	Humedad 80% Luz 0/24	Humedad 10% Luz 24/24	Humedad 10% Luz 0/24
0	198	198	200	200
1	165	167.33	185	195
2	155.25	157.66	180	190
3	141.50	148.25	168	185
4	122.66	129.25	163	180
5	106	112	160	175

De acuerdo con los resultados mostrados en los párrafos anteriores y que también podemos ver en la figura 7, un ambiente con la mayor humedad relativa (80%) y mayor exposición a la luz (24/24), acelerará el pardeamiento de la fresa; por tanto,

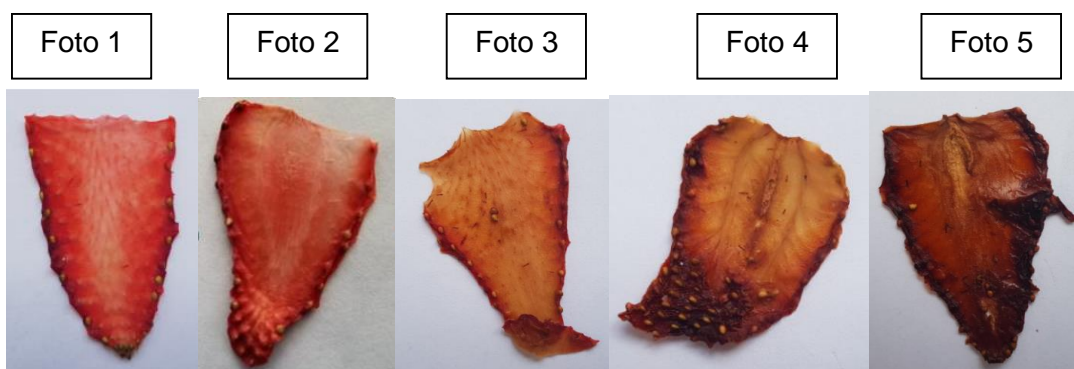
se determina que las condiciones a las cuales se aumenta la velocidad de pardeamiento es el punto de máxima humedad y máxima exposición a la luz.

Este resultado fue aprovechado para llevar a cabo experimentos bajo condiciones aceleradas, evaluando el efecto de inhibidores químicos sobre el pardeamiento de la fresa.

Figura 7. Seguimiento de color

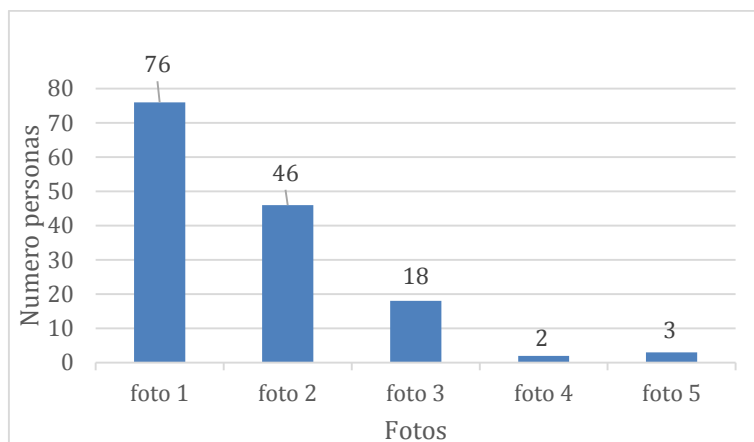


2.1.1 Análisis de punto de color aceptado por el consumidor De acuerdo con lo mencionado en la sección metodológica, la encuesta se realizó a consumidores de frutas deshidratadas. El objetivo fue estimar el punto de aceptación visual y relacionarlo con el valor de la coordenada R y el tiempo que tarda la fresa deshidratada, que ha pasado por un proceso de inhibición, en pardearse. La encuesta consiste en responder la pregunta “Con base en el color de las fotografías de fresa deshidratada mostradas a continuación, seleccione aquellas que usted consumiría.”



Los resultados de 93 personas encuestadas se muestran en la figura 8.

Figura 8. Resultados encuesta aceptación de color



Para la industria y para los autores de este trabajo, es de gran importancia determinar el punto de aceptación de los consumidores, y a raíz de esta encuesta se observó que la foto 1 y la foto 2 fueron las más aceptadas teniendo un 81.7% (76 personas) y 49.5%(46 personas) de aceptación visual respectivamente; caso contrario con respecto a la foto 3, la cual tuvo 19.4%(18 personas) de aceptación siendo inferior al porcentaje establecido por los autores. Esto indica que el límite de pardeamiento aceptado inicia en la foto 2 que corresponde a un valor de 182.5 en la coordenada R en el sistema RGB de colorimetría que se puede ver en la tabla 4.

2.2 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y FUNCIONAL DEL PRODUCTO FRESCO Y DESHIDRATADO

En la tabla 9 se muestran los resultados del análisis bromatológico y vitamina C de fresa fresca y fresa deshidratada de la empresa Sensafruit S.A.S. Los porcentajes se encuentran en base seca, según Albán et al., (2010)⁴⁰ la humedad relativa en fresa fresca es 90.97% y según Bisbal et al., (2006)⁴¹ el contenido de azúcar es 73.30% en base seca, ambos valores similares a los obtenidos.

Tabla 9. Resultados del análisis bromatológico (porcentajes en base seca)

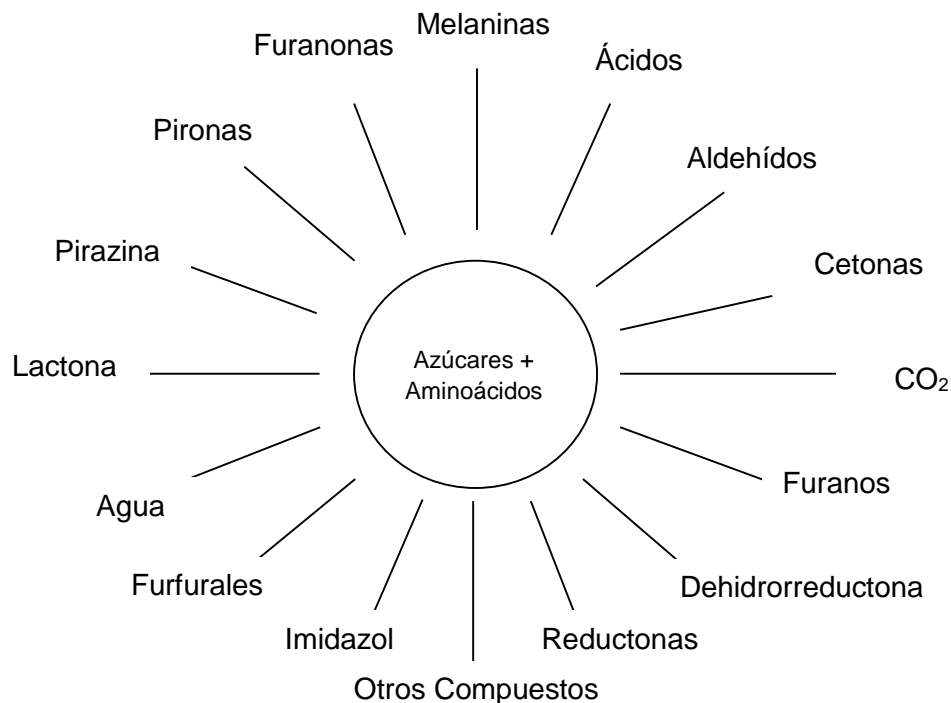
	FRESA FRESCA	FRESA DESHIDRATADA	FRESA DESHIDRATADA PARDEADA
HUMEDAD	89.59%	13,22%	19.03%
CENIZAS	4.32%	4.47%	4.33%
PROTEINA	10.95%	6.87%	6.75%
AZÚCARES	74.83%	27.33%	23.77%
VITAMINA C [mg/g muestra seca]	527.66	195.49	137.98

El menor contenido de proteína y de azúcares de la fresa deshidratada con respecto a la fresa fresca puede estar asociada con reacciones de Maillard que ocurren durante el proceso de secado, produciendo ácidos, melaninas y demás compuestos mostrados en la figura 9.

⁴⁰ ALBÁN ÁB, RAMOS M, NUÑEZ MA. Estudio de la vida útil de fresas (*Fragaria vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C). Rev Tecnológica-ESPOL 2010;23

⁴¹ BISBAL L, CARMONA I, GELO R, MARTÍNEZ B, RUIZ R, LÓPEZ-MARTÍNEZ N, et al. Influencia de la biofumigación y solarización en el contenido de azúcares de los frutos de fresón ecológico. n.d.

Figura 9. Productos de las reacciones de Maillard



La disminución de vitamina C de fresa fresca a fresa deshidratada se debe a degradaciones térmicas en un rango de temperaturas de 60-80°C⁴².

En lo que respecta a la humedad, se aprecia que la fresa deshidratada pardeada tiene un porcentaje de humedad 6.01% por encima comparada con la fresa recién deshidratada. Este resultado sugiere que existe un flujo de aire húmedo hacia el interior de los empaques de la empresa, aumentando el oxígeno y humedad de las fresas, como consecuencia, se aumenta la actividad acuosa y las reacciones de pardeamiento⁴³.

⁴² UMAÑA CT. La vitamina C en los lactantes de Bogotá. Rev Univ Nac 1944-1992 2012:209–225

⁴³ PASTORIZA DE LA CUEVA S. Efecto de la ingesta de compuestos avanzados de la reacción de Maillard sobre el metabolismo gastrointestinal. Editorial de la Universidad de Granada, 2013

La sacarosa, glucosa y fructosa disminuyen en fresa deshidratada con respecto a la fresa fresca por la acción de la temperatura del secado que favorece las reacciones de Maillard.

En fresa deshidratada pardeada disminuye la sacarosa con respecto a la fresa deshidratada debido a la hidrólisis de sacarosa la cual produce glucosa y fructosa.

Tabla 10. Porcentajes presentes de sacarosa, glucosa y fructosa en base seca

	FRESA FRESCA	FRESA DESHIDRATADA	FRESA DESHIDRATADA PARDEADA
Sacarosa	10.27%	6.86%	1.87%
Glucosa	32.85%	9.91%	12.65%
Fructosa	31.70%	10.56%	9.23%

2.2.1 Cuantificación de polifenoles totales y selección de agente inhibidor Los polifenoles se encuentran en alimentos como frutas y vegetales, especialmente en aquellos de coloración verde, amarilla y rojiza⁴⁴. El contenido de polifenoles totales en fresa fresca sin tratamiento fue de 17.58 [mg AG/g muestra seca], este valor es similar al reportado previamente por López do Campo (2017)⁴⁵ quien encontró un CPT de 17.79 [mg AG/g muestra seca]. En la tabla 11 se muestran los resultados asociados con la evolución del contenido de polifenoles conforme avanza el pardeamiento del producto. De acuerdo con estos resultados, los valores de polifenoles totales de fresa recién deshidratada con respecto a fresa deshidratada pardeada sin ningún tratamiento se reducen en 4.37 mgEA/g.

⁴⁴ URREA D, EIM V, ROSELLÓ C. Modelos cinéticos de degradación de carotenoides, polifenoles y actividad antioxidante durante el secado convectivo de zanahoria (*Daucus carota* V. Nantesa). *Aliment Hoy* 2012;21:68–101

⁴⁵ LÓPEZ DO CAMPO J. Op. Cit.

Tabla 11. CPT de fresa fresca, fresa deshidratada, y fresa deshidratada pardeada

SOLUCIÓN	POLIFENOLES [mg AG/g muestra seca]	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
FF*	17.58	0.37
FD**	14.62	0.61
FP***	10.25	0.53

*Fresa Fresca

**Fresa deshidratada

***Fresa deshidratada Pardeada

Con respecto a las fresas frescas, que fueron sometidas al proceso de inhibición (Tabla 12), los resultados muestran que las fresas tratadas con ácido ascórbico a 60 mM conservan el contenido de polifenoles totales en un valor de 16.54 [mg AG/g muestra seca], esto se debe a que el ácido ascórbico previene el estrés oxidativo en fresas disminuyendo la oxidación de compuestos fenólicos como lo indica Chordi Barrufet (2013) ⁴⁶. En el caso del ácido cítrico se aprecia que se reducen significativamente los polifenoles totales, esto debido a que la afinidad del ácido cítrico con la enzima polifenoloxidasas es baja con respecto a la del ácido ascórbico⁴⁷.

Tabla 12. CPT a diferentes concentraciones de ácido ascórbico y ácido cítrico en fresas sin deshidratar

SOLUCIÓN	CONCENTRACIÓN [mM]	POLIFENOLES [mg AG/g muestra seca]	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
Sin solución	-	17.58	0.37
AA*	60	16.54	0,091
AA*	5	10.25	0,024

⁴⁶ CHORDI BARRUFET S. Op. Cit.

⁴⁷ MARTÍNEZ M, URIEL S, PARDO VALENCIA GA. Evaluación del efecto del ácido ascórbico como inhibidor de pardeamiento enzimático en el fruto de anona pulpa rosada (*annona diversifolia*) y en la cinética de la polifenoloxidasas. PhD Thesis. Universidad de El Salvador, 2017.

SOLUCIÓN	CONCENTRACIÓN [mM]	POLIFENOLES [mg AG/g muestra seca]	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
AC**	60	11.24	0,015
AC**	5	8.56	0,009

*Ácido Ascórbico

**Ácido Cítrico

En cuanto al ácido ascórbico, algunos autores^{48 49} concluyeron que no inhibe directamente la PPO, sino que es capaz de reducir las o-quinonas generadas por la enzima al difenol original; limitando el pardeamiento a través de un proceso conocido como reacción de desactivación, por lo que es catalogado como un antioxidante; sin embargo, éste confiere una protección temporal porque termina por oxidarse a ácido dehidroascórbico (DHAA), en el proceso de pardeamiento, permitiendo que la quinona se acumule y tenga un efecto pro-oxidante a mayores concentraciones⁵⁰ Considerando los resultados obtenidos por Martínez et al., (2017)⁵¹, es posible que exista una concentración de ácido ascórbico que mejore el contenido de polifenoles una vez se aplique el pretratamiento. Es por eso por lo que se desarrollaron experimentos adicionales con soluciones de ácido ascórbico a 45 y a 20 mM, obteniéndose valores de polifenoles totales de 15.46 y 12.95 [mg AG/g muestra seca], respectivamente. Los resultados de la tabla 13 muestran que no existe una diferencia marcada en el CPT cuando se realiza la inhibición a 45 mM y 60 mM de ácido ascórbico. Además, el valor de polifenoles a 45mM es mayor que en fresa deshidratada y pardeada 14.62 y 10.25 [mg AG/g muestra seca] respectivamente. En consecuencia, se seleccionó una concentración de ácido ascórbico a 45 mM como inhibidor; disminuyéndose costos asociados con el uso de este reactivo.

⁴⁸ DALMADI I, RAPEANU G, VAN LOEY A, SMOUT C, HENDRICKX M. Op. Cit. 8

⁴⁹ CHORDI BARRUFET S. Op. Cit.

⁵⁰ MARTÍNEZ M, URIEL S, PARDO VALENCIA GA. Op. Cit.

⁵¹ *Ibíd.*

Tabla 13. CPT a diferentes concentraciones de ácido ascórbico en fresa sin deshidratar

SOLUCIÓN	CONCENTRACIÓN [mM]	POLIFENOLES [mg AG/g muestra seca]	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
Sin solución	-	17.58	0.37
AA	60	16.54	0.091
AA	45	15.46	0.026
AA	20	12.95	0.014
AA	5	10.25	0.024

2.2.2 Capacidad antioxidante Los resultados obtenidos de capacidad antioxidante con el método DPPH se muestran en la tabla 14. Se puede observar que la fresa fresca es la que tiene mayor capacidad oxidante de 31.30 [$\mu\text{mol TE/g}$ muestra seca] y es cercano al valor de 30.91 [$\mu\text{mol TE/g}$ muestra seca] reportado por López do Campo,(2017) ⁵². Así mismo, se aprecia que la capacidad antioxidante disminuye entre en la fresa deshidratada y la fresa deshidratada pardeada, esto es lógico y está en concordancia con la reducción en el contenido de polifenoles mostrados en la sección 3.2.1. Con respecto a la fresa deshidratada que siguió el procedimiento de inhibición, la mayor capacidad antioxidante se obtuvo cuando se usó una solución de ácido ascórbico de 45mM; así mismo, la capacidad antioxidante de las fresas pretratadas es mayor que la obtenida para la fresa deshidratada que no tiene ningún tipo de tratamiento.

⁵² LÓPEZ DO CAMPO J. Op. Cit.

Tabla 14. Capacidad antioxidante DPPH de fresa fresca, fresa deshidratada, fresa deshidratada pardeada, y fresa deshidratada inhibida a diferentes concentraciones

MUESTRA	CAPACIDAD	
	ANTIOXIDANTE [$\mu\text{mol TE/g muestra}$ seca]	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
FF	31.30	2.26
FD	10.67	0.01
FP	7.27	0.62
FD20*	6.35	0.23
FD45**	14.20	0.03
FD60***	13.55	0.26

*Fresas deshidratadas tratadas con AA a 20mM

**Fresas deshidratadas tratadas con AA a 45mM

***Fresas deshidratadas tratadas con AA a 60mM

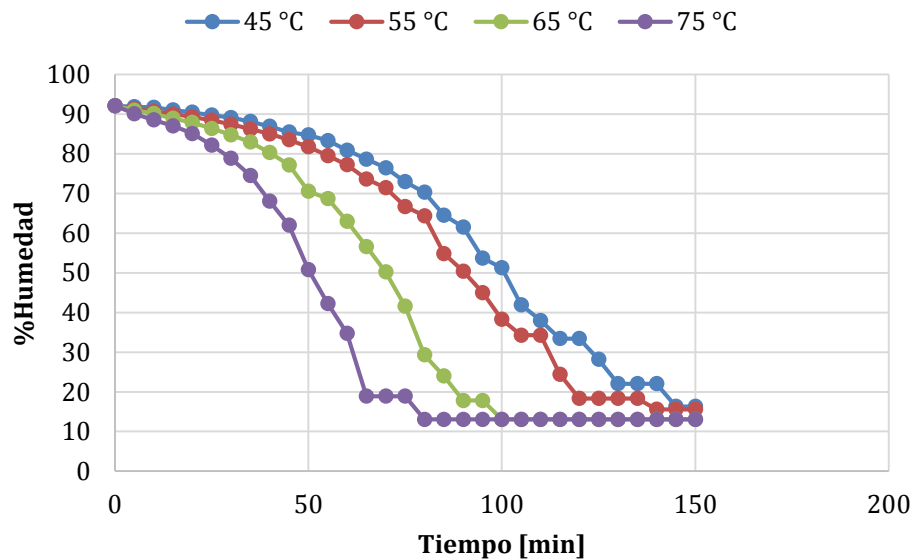
2.3 DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA DE OPERACIÓN DEL SECADOR POR BANDEJAS

En la figura 10 se muestra el comportamiento cinético del proceso de deshidratación de fresa, conforme la temperatura del aire de entrada se modifica de 45 – 75°C. Para el caso de las temperaturas de 45 y 55°C el porcentaje de humedad final fue 16.30% y 15.58% respectivamente, acercándose con lo estipulado en la norma colombiana. En lo que respecta a las temperaturas de 65°C y 75°C se alcanzan contenidos de humedad de 13.02% y 13.12% respectivamente, cumpliendo mejor la norma. Además, con las temperaturas de 65 y 75°C se alcanza esa humedad final con tan solo 90 y 100 minutos de operación respectivamente.

Desde el punto de vista de apariencia, se evaluó el color a la fresa deshidratada obtenida a las condiciones de temperatura de 65 y 75°C. El color obtenido a 75°C

fue igual a 100 en la escala del rojo, el cual se asocia con un oscurecimiento causado por el quemado del tejido celular. A 65°C, el valor del color fue de 192 en la coordenada de rojo; este valor se asocia con una percepción de color deseable del producto terminado (ver resultados de la encuesta en la sección 3.1.1).

Figura 10. Variación de la humedad final dependiendo de la temperatura



Con los valores de tiempo de operación, humedad final y apariencia física se procedió a construir la matriz de ponderación para determinar la temperatura con la que se trabajará el proceso de secado. De acuerdo con la tabla 15, la mejor puntuación se obtuvo cuando se trabajó a una temperatura de secado de 65°C.

Tabla 15. Calificación de factores influyentes en el producto deseado

Temperatura	45	55	65	75
Tiempo de operación	2	3	4	5
Humedad Final	3	3	5	5
Apariencia Física	4	5	5	3
Total	3.0	3.5	4.75	4.5

2.4 SEGUIMIENTO DE LA ESTABILIDAD EN FRESAS DESHIDRATADAS Y ESTIMACIÓN DE NUEVO TIEMPO DE PARDEAMIENTO

2.4.1 Seguimiento de la estabilidad de las fresas deshidratadas sin tratamiento

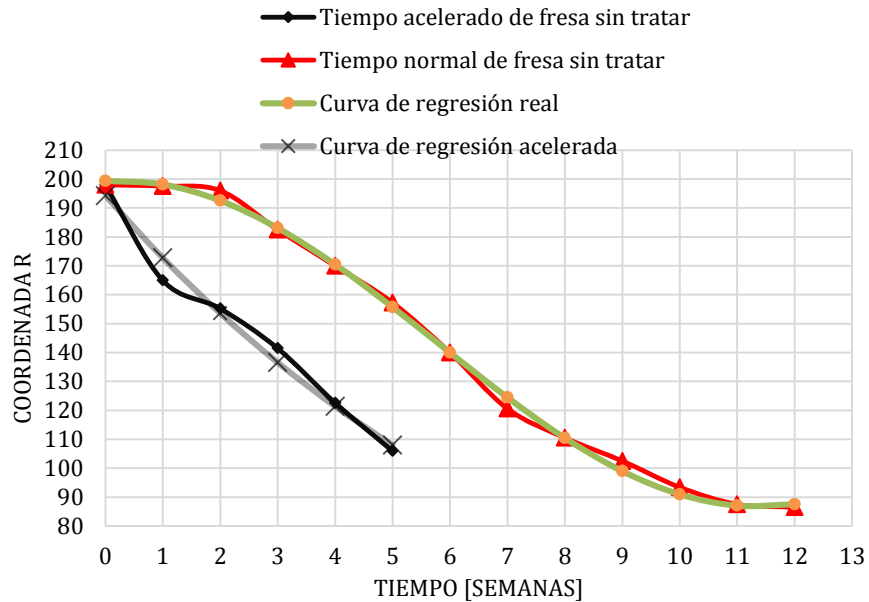
A partir de los datos de la evolución del color en tiempo real, se elaboró la gráfica “Tiempo normal de pardeamiento de fresa deshidratada sin tratar” (figura 11), por medio de ajustes de regresión se obtuvo la función no lineal $R = 143.1173 + 56.37926 * \cos(0.281024 * x - 0.06004)$ con un R^2 de 0.99. Cabe destacar que el valor 86 de R del sistema RGB es el valor más bajo presentado por fresas pardeadas (figura 11), este punto representa el color más oscuro al que pueden llegar, y el tiempo de pardeamiento total demoró 12 semanas.

Retomando el resultado del numeral 3.1, la relación del tiempo para condiciones aceleradas del experimento humedad 80% y luz 24/24 de fresa deshidratada sin tratar se expresó bajo la regresión no lineal $R = 194.3 * e^{\left(\frac{-x}{8.512}\right)}$ con un R^2 de 0.94, se observa que esta gráfica tarda menos tiempo en llegar a los mismos valores de R que en condiciones normales, para un $R=182.5$ (valor límite según el consumidor), se tardó 0.6 y 3.3 semanas en condiciones aceleradas y normales respectivamente, una diferencia de 2.7 semanas, esta diferencia se mantiene a lo largo de las curvas, por tanto se deduce la ecuación:

$$tiempo_{real} = tiempo_{acelerado} + 2.7 \text{ semanas}$$

Estas dos ecuaciones fueron generadas con el programa CurveExpert Professional 2.4.0. y nombradas como ecuaciones bases.

Figura 11. Datos del cambio de color del experimento 1 y condiciones de anaquel con sus respectivas regresiones

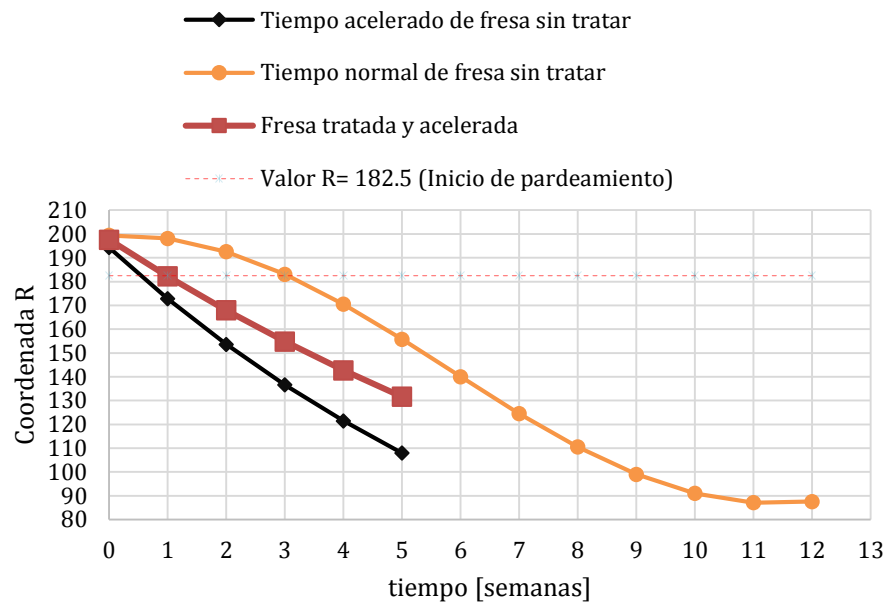


2.4.2 Seguimiento de color de las fresas deshidratadas con tratamiento De los resultados de las fases III y IV, se prepararon muestras de fresas que siguieron el proceso de inhibición con ácido ascórbico a 45Mm y deshidratándolas a 65°C por 100 min, se ingresaron en las cámaras de humedad a máxima humedad y máxima exposición de luz. Seguidamente se inició el seguimiento del color durante un periodo de cinco cámaras.

En la figura 12 se representa la evolución del color para muestras de fresas deshidratadas con o sin proceso de inhibición. En la figura se puede apreciar que el tiempo al que se alcanza el pardeamiento de la fresa es menor para aquellas que no tienen tratamiento de inhibición de la PPO. A partir de la figura se puede inferir que en condiciones aceleradas el tiempo para que inicie el pardeamiento de una muestra tratada con ácido ascórbico es 1.6 veces mayor que en una muestra que no haya sido objeto del tratamiento de inhibición.

A partir de esta relación se puede hallar que el nuevo tiempo de pardeamiento en condiciones de anaquel para la fresa deshidratada si se hubiese tratado previamente, este sería el tiempo sin tratar (tres semanas) multiplicado por 1.6, es decir, 4.8 semanas.

Figura 12. Grafica de tiempo real nuevo a partir de las ecuaciones base y la gráfica acelerada inhibida



3. CONCLUSIONES

- De los inhibidores evaluados el mejor fue el ácido ascórbico a una concentración de 45mM. Bajo estas condiciones se consiguió aumentar de 3 a 4.8 semanas el tiempo en que se percibe la primera coloración asociada con el pardeamiento. Para una masa inicial de fresa de 137 g las condiciones de secado que conservan el color del producto deshidratado son temperatura de 65°C y una velocidad de aire de 6m/s. Bajo estas condiciones el producto deshidratado se obtiene con una humedad final de 13.02% en 100 minutos.
- El uso de las imágenes digitales para el seguimiento de color en fresa deshidratada ayudó a clasificar los colores en valores de coordenadas RGB gracias al programa Image j.
- La presencia de humedad alta y exposición de luz en fresa deshidratada aumentan la velocidad de las reacciones asociadas con el pardeamiento.
- Se desarrolló un método acelerado para el pardeamiento de la fresa, éste permitió evaluar de manera expedita la influencia que tiene el inhibidor sobre el desarrollo del color del producto tratado.

4. RECOMENDACIONES

- Debido a la influencia de humedad, luz y oxígeno en la reacción de pardeamiento se recomienda a la empresa usar empaques oscuros y que cubran del paso de aire y oxígeno evitando el aumento de humedad y el inicio de la reacción de oxidación.
- Se recomienda incluir el pretratamiento propuesto en este trabajo, el cual consiste en una inmersión de las fresas en ácido ascórbico a 45mM durante cinco minutos y posteriormente deshidratarlas por bandejas a 65°C por 100 minutos.

BIBLIOGRAFÍA

ACEVES MA. ENZIMAS: ¿Qué son y cómo funcionan? 2006.

ALBÁN ÁB, RAMOS M, NUÑEZ MA. Estudio de la vida útil de fresas (*Fragaria vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C). *Rev Tecnológica-ESPOL* 2010;23.

BISBAL L, CARMONA I, GELO R, MARTÍNEZ B, RUIZ R, LÓPEZ-MARTÍNEZ N, et al. Influencia de la biofumigación y solarización en el contenido de azúcares de los frutos de fresón ecológico. n.d.

CHORDI BARRUFET S. Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad. B.S. thesis. 2013.

COOK BJ, CLAY RP, BERGMANN CW, ALBERSHEIM P, DARVILL AG. Fungal polygalacturonases exhibit different substrate degradation patterns and differ in their susceptibilities to polygalacturonase-inhibiting proteins. *Mol Plant Microbe Interact* 1999;12:703–711.

DALMADI I, RAPEANU G, VAN LOEY A, SMOUT C, HENDRICKX M. Characterization and inactivation by thermal and pressure processing of strawberry (*fragaria ananassa*) polyphenol oxidase: a kinetic study. *J Food Biochem* 2006;30:56–76. doi:10.1111/j.1745-4514.2005.00045.x.

DAVEY MW, MONTAGU M VAN, INZÉ D, SANMARTIN M, KANELIS A, SMIRNOFF N, et al. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food Agric* 2000;80:825–860.

DE LORENZO G, D'OVIDIO R, CERVONE F. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi. *Annu Rev Phytopathol* 2001;39:313–335.

DENOYA GI, ARDANAZ M, SANCHO AM, BENÍTEZ CE, GONZÁLEZ C, GUIDI S. Efecto de la aplicación de tratamientos combinados de aditivos sobre la inhibición del pardeamiento enzimático en manzanas cv. Granny Smith mínimamente procesadas. *RIA Rev Investig Agropecu* 2012;38:263–267.

FISH WW, DAVIS AR. The purification, physical/chemical characterization, and cDNA sequence of cantaloupe fruit polygalacturonase-inhibiting protein. *Phytopathology* 2004;94:337–344.

FITO P, GRAU AMA, BAVIERA JMB, SORALLA AMA. Introducción al secado de alimentos por aire caliente. Primera. España: Universitat Politècnica de València; 2001.

GOMATHI V, GNANAMANICKAM SS. Polygalacturonase-inhibiting proteins in plant defence. *Curr Sci-BANGALORE*- 2004;87:1211–1217.

GUERRERO ERASO CA, others. Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (Cavendish valery) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, 2009.

GUO C, YANG J, WEI J, LI Y, XU J, JIANG Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr Res* 2003;23:1719–26. doi:10.1016/j.nutres.2003.08.005.

HERNANDEZ VALDEZ CE. *Accion y efectos de la polifenoloxidasas en alimentos* 2009.

HOLCROFT DM, KADER AA. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biol Technol* 1999;17:19–32.

IBRAHEEM NA, HASAN MM, KHAN RZ, MISHRA PK. Understanding color models: a review. *ARPN J Sci Technol* 2012;2:265–275.

LINO ACL, SANCHES J, FABBRO IMD. Image processing techniques for lemons and tomatoes classification. *Bragantia* 2008;67:785–789.

LÓPEZ DO CAMPO J. *Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico* 2017.

MARTINA P, AEBERHARD A, AEBERHARD R, VENTÍN A, CORACE J. *Algunos ensayos sobre la regeneración de la sílica gel y su aplicación al secado del aire* n.d.

MARTÍNEZ M, URIEL S, PARDO VALENCIA GA. *Evaluación del efecto del ácido ascórbico como inhibidor de pardeamiento enzimático en el fruto de anona pulpa rosada (annona diversifolia) y en la cinética de la polifenoloxidasas*. PhD Thesis. Universidad de El Salvador, 2017.

MONZÓN CIC. Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresa deshidratadas. Universitat Politècnica de València, 2006.

PASTORIZA DE LA CUEVA S. Efecto de la ingesta de compuestos avanzados de la reacción de Maillard sobre el metabolismo gastrointestinal. Editorial de la Universidad de Granada, 2013.

PLACIDO M, ALEMÁN MP. Método higrométrico rápido para determinar actividad del agua rapid hygrometric method for determining water activity método higrométrico rápido para determinar actividade da auga. Cienc Tecnol Aliment 2002;3:229–35. doi:10.1080/11358120209487733.

PROTSENKO MA, BULANTSEVA EA, Korableva NP. Polygalacturonase-inhibiting proteins in plant fleshy fruits during their ripening and infections. Russ J Plant Physiol 2010;57:356–62. doi:10.1134/S1021443710030064.

QUEIROZ C, MENDES LOPES ML, FIALHO E, VALENTE-MESQUITA VL. Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. Food Rev Int 2008;24:361–75. doi:10.1080/87559120802089332.

TKALCIC M, TASIC JF. Colour spaces: perceptual, historical and applicational background. vol. 1. IEEE; 2003.

UMAÑA CT. La vitamina C en los lactantes de Bogotá. Rev Univ Nac 1944-1992 2012:209–225.

URREA D, EIM V, ROSELLÓ C. Modelos cinéticos de degradación de carotenoides, polifenoles y actividad antioxidante durante el secado convectivo de zanahoria (*Daucus carota* V. Nantesa). Aliment Hoy 2012;21:68–101.

VÁSQUEZ RIASCOS AM. Estimación de las coordenadas CIEL* a* b* en concentrados de tomate utilizando imágenes digitales. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2015.

YOSHIE-STARK Y, WÄSCHE A. Characteristics of crude lipoxygenase from commercially de-oiled lupin flakes for different types of lupins (*Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius*). *Food Chem* 2004;88:287–92. doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.005.

ANEXOS

Anexo A. Protocolo 01

EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE HUMEDAD Y LUZ EN EL PARDEAMIENTO DE FRESA DESHIDRATADA

La evaluación de la humedad y luz se realizará por medio de un diseño de experimento 2^2 como se muestra en la tabla 16.

Tabla 16. Diseño de experimentos

Experimento	Humedad	Luz
1	+	+
2	+	-
3	-	+
4	-	-

Donde (+) representa humedad máxima entre 78%-80, para ello se usa sulfato de amonio⁵³ y (-) representa humedad mínima entre 8%-10%, para este caso usar gel de sílice⁵⁴.

De la misma manera (+) corresponde a la cantidad máxima de luz, (-) corresponde a la mínima, de la misma manera para humedad.

Con las cámaras de humedad controlada de 150mm de diámetro interno se simularán los ambientes húmedos.

Cada experimento se realizará de la siguiente manera:

⁵³ PLACIDO M, ALEMÁN MP. Op. Cit.

⁵⁴ MARTINA P, AEBERHARD A, AEBERHARD R, VENTÍN A, CORACE J. Op. Cit.

1. A partir de una cámara de humedad de 150mm de diámetro interno, ingresar una cantidad de 5 gr de sulfato de amonio, luego ingresar 5 hojuelas de fresa deshidratada lo más similar posible en cuanto a tamaño y color (proporcionada por la empresa Sensafruit) para que cubra el plato de la cámara.
2. Hacer exactamente lo mismo con las cuatro cámaras restantes.
3. Para experimentos con máxima cantidad de luz se ubicarán las cinco cámaras en la cabina de luz constante del salón 405 del grupo de investigación CICTA, de lo contrario, para luz mínima se ubicarán en compartimientos con puerta en la parte inferior de dicha cabina los cuales son internamente oscuros.
4. A partir de las cinco cámaras y el día cero de experimentación se tomarán datos cada 8 días, cada toma se realizará de la siguiente manera.

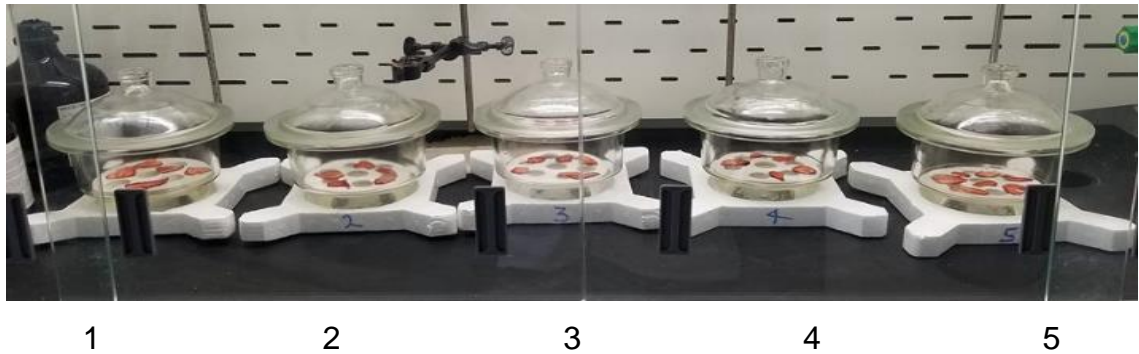


Figura 13. Enumeración de las cinco cámaras de humedad controlada

- 4.1. Cada cámara juega el papel de una muestra o toma de dato, por tanto, al octavo día de experimentación se abrirá la primera cámara y se seguirá el *protocolo 02* en el anexo2. *Toma de foto y uso del programa imagej.*
- 4.2. Al decimosexto día de experimentación se tomará la segunda muestra, es decir, se abrirá la segunda cámara y de igual manera se sigue el protocolo mencionado.
- 4.3. Así mismo se realizará el procedimiento con las cámaras restantes cada ocho días.

A continuación, en la tabla 17 se mostrará en resumen de forma cronológica el experimento, tiene una duración de 85 días desde la preparación de la cámara hasta la última toma de datos.

Los números en rojo corresponden a los días de trabajo, están estipulados de tal manera para que sea siempre el mismo día de la semana.

Tabla 17. Días de experimentación

Días de experimentación							
semana 1	1	2	3	4	5	6	7
semana 2	8	9	10	11	12	13	14
semana 3	15	16	17	18	19	20	21
semana 4	22	23	24	25	26	27	28
semana 5	29	30	31	32	33	34	35
semana 6	36	37	38	39	40	41	42
semana 7	43	44	45	46	47	48	49
semana 8	50	51	52	53	54	55	56
semana 9	57	58	59	60	61	62	63
semana 10	64	65	66	67	68	69	70
semana 11	71	72	73	74	75	76	77
semana 12	78	79	80	81	82	83	84
semana 13	85	86	87	88	89	90	91

El control de cada cámara se lleva a cabo como se explica en la tabla 18, por ejemplo, en el día uno se alista todas las cámaras y se toma la muestra del día cero, a los ocho días se abre la cámara uno, se toma la respectiva muestra y se prepara la cámara de inmediato para el experimento dos; así sucesivamente hasta llegar al día 36, en este día se termina la toma de muestras para el experimento uno. Debido a que se está preparando cada cámara después de cada toma de muestra, en el día 43 está por terminado el experimento dos, se toman las respectivas muestras y se prepara de inmediato las cámaras para el experimento tres y se lleva a cabo el mismo control como en los dos primeros experimentos, así, se pueden hacer dos experimentos en 43 días.

Tabla 18. Control de cámaras

Día de experimentación	Número de la cámara				
1	1	2	3	4	5
8	1	2	3	4	5
15	1	2	3	4	5
22	1	2	3	4	5
29	1	2	3	4	5
36	1	2	3	4	5
43	1	2	3	4	5
50	1	2	3	4	5
57	1	2	3	4	5
64	1	2	3	4	5
71	1	2	3	4	5
78	1	2	3	4	5
85	1	2	3	4	5

	Preparación de la cámara para exp 1
	Toma de muestra y preparación de muestra para exp 2
	Toma de muestra y preparación de muestra para exp 3
	Toma de muestra y preparación de muestra para exp 4
	Toma de muestras exp 4

Se estima que la duración de los cuatro experimentos sea de 85 días.

Anexo B. Protocolo 02

Toma de imagen digital y uso del programa Image J

La muestra consiste en la toma de una foto que sirve para llevar un seguimiento de color que produce el experimento previamente hecho en la cámara de ambiente húmedo. Según sea este, la fresa tendrá un respectivo color, que será comparado sucesivamente, para ver claramente el cambio correspondiente.

En total se tomarán 24 fotos, ya que se cuenta con cinco cámaras y serán cuatro experimentos, previamente explicados en el protocolo 01. Las fotos se tomarán en el siguiente orden:

Tabla 19. Cronograma de toma foto

Día de experimentación	Número de la cámara				
1	1	2	3	4	5
8	1	2	3	4	5
15	1	2	3	4	5
22	1	2	3	4	5
29	1	2	3	4	5
36	1	2	3	4	5
43	1	2	3	4	5
50	1	2	3	4	5
57	1	2	3	4	5
64	1	2	3	4	5
71	1	2	3	4	5
78	1	2	3	4	5
85	1	2	3	4	5

	Foto primer experimento día cero
	Foto primer experimento con su respectiva cámara
	Foto segundo experimento día cero
	Foto segundo experimento con su respectiva cámara
	Foto tercer experimento día cero
	Foto tercer experimento con su respectiva cámara
	Foto cuarto experimento día cero
	Foto cuarto experimento con su respectiva cámara

Como la cantidad de luz de una foto a otra puede variar dependiendo del entorno en que se encuentre, se seguirán los siguientes pasos para verificar que las fotos estén en el rango deseado de colores, y mantengan el mismo entorno.

1. Para asegurar que la cantidad de luminosidad en el lugar sea la misma en cada toma de foto, se tomara una foto al patrón de colores de la hoja guía, y con el programa de imagej asegurar que el valor del color rojo siempre sea entre 242, 250 y 255, el cual corresponde a un 5% de error.
2. Cuando se tenga la cámara de humedad lista para tomar la foto, retirar las hojuelas de fresa y colocarlas en la hoja guía.
3. Tomar la foto teniendo en cuenta el marco determinado en la hoja de guía quede en los extremos de la foto, de esta manera se asegura que cada foto quede a la misma altura y enfoque.
4. Una vez tomada la foto de cada experimento esta será guardada, como: (Numero de experimento, Numero día de experimentación). Ejemplo: (Experimento 2, día 29).

Hoja Guía para toma de foto

