



# Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“Aplicación de técnicas ópticas no  
destructivas para evaluación  
poscosecha de frutos de guayaba  
(*Psidium guajava* L.)”**

PRESENTA

**I.B.Q. ADRIANA PADILLA TENA**

Director de Tesis

**DRA. BERENICE YAHUACA JUÁREZ**

Co-Director de Tesis

**DR. JORGE ADALBERTO HUERTA RUELAS**



Morelia, Michoacán, México

Junio 2018.

*Con amor a mi familia, por su enorme paciencia,  
comprensión e inmenso apoyo.*

# AGRADECIMIENTOS

La realización de la presente Tesis no habría sido posible sin contar con las facilidades proporcionadas por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y por el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA-Qro.).

Por su apoyo económico y la financiación de mi pasantía de investigación en la Universidad de Zaragoza, España, agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Con especial atención agradezco toda la confianza depositada, paciencia, dedicación, motivación y amistad a mi directora de tesis la Dra. Berenice Yahuaca Juárez y a mi co-director el Dr. Jorge Adalberto Huerta Ruelas, ha sido un privilegio contar con su guía y apoyo al realizar este trabajo de investigación.

Mi reconocimiento a quienes integraron mi Comité de Tesis: Dr. Javier Ponce Saavedra, Dra. Consuelo de Jesús Penagos Cortés y Dr. Rafael Salgado Garciglia, por tomarse el tiempo para trabajar conmigo proporcionando sus infinitos conocimientos, observaciones y comentarios indispensables para la correcta elaboración del presente trabajo.

Al Grupo de Investigación en Alimentos de Origen Vegetal de la Comunidad Autónoma de Aragón, España coordinado por la Dra. Rosa P. Oria Almudí por permitirme llevar a cabo mi Estancia de Investigación. Con especial reconocimiento y admiración al Dr. Ángel Ignacio Negueruela Suberviola por sus enseñanzas, por permitirme aprender de sus conocimientos, por su paciencia y su amistad.

A la Dra. Victoria Lafuente por su ayuda y apoyo en el proyecto de realizado durante la estancia de investigación, así como por su amistad al acogerme en su familia.

A mis Veggies: Ana Pilar, David, Héctor, Silvia e Isabel por su amistad, su ayuda brindada, por su apoyo y experiencia.

Con reconocimiento a Lilibeth, Jared y Paty por su colaboración durante un año de experimentación, sin ustedes no hubiera podido lograr tantas metas durante este proyecto de investigación, su alegría, locuras y amistad hicieron más ligeros los días.

Pero sin duda, es a mi familia, a mis padres y a mi hermana, a quien doy las gracias por todo su apoyo y amor, porque han vivido lo bueno y lo malo de este proyecto, porque siempre encuentran palabras para motivarme y seguir adelante.

Mis abuelitos que siempre me animan y se preocupan por mí. Porque como ellos dicen, el conocimiento es progreso.

Finalmente, y no menos importantes, un agradecimiento a mis amigos: Denise, Tsiri, Celeste, Rebeca y Carmen, quienes siempre están cuando más los necesito, gracias por su paciencia y motivación.

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	V
ÍNDICE DE CUADROS.....	VII
I. RESUMEN .....	1
II. ABSTRACT .....	3
III. INTRODUCCIÓN .....	5
IV. HIPÓTESIS.....	10
V. OBJETIVOS.....	11
<i>GENERAL</i> .....	11
<i>PARTICULARES</i> .....	11
VI. ESTRUCTURA DEL PROYECTO.....	12
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
• CAPÍTULO I EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE MADURACIÓN POSTCOSECHA DE GUAYABA ( <i>PSIDIUM GUAJAVA</i> L.) CV. “MEDIA CHINA” EN DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.....	13
<i>RESUMEN</i> .....	13
<i>ABSTRACT</i> .....	14
<i>INTRODUCCIÓN</i> .....	14
<i>MATERIALES Y MÉTODOS</i> .....	16
<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i> .....	17
<i>CONCLUSIONES</i> .....	23
<i>LITERATURA CITADA</i> .....	24
• CAPÍTULO II DETERMINACIÓN DE FIRMEZA, SÓLIDOS SOLUBLES Y COLOR MEDIANTE ESPARCIMIENTO DE LUZ LÁSER EN FRUTOS DE <i>PSIDIUM GUAJAVA</i> L. ....	27
<i>RESUMEN</i> .....	27
<i>ABSTRACT</i> .....	27
<i>INTRODUCCIÓN</i> .....	28
<i>MATERIALES Y MÉTODOS</i> .....	29
<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i> .....	33

CONCLUSIONES .....	43
LITERATURA CITADA .....	44
• CAPÍTULO III DETERMINACIÓN DE FIRMEZA Y SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE IMÁGENES OBTENIDAS POR RETROESPARCIMIENTO DE LUZ EN FRUTOS DE <i>PSIDIUM GUAJABA</i> L. ....	46
RESUMEN .....	46
ABSTRACT.....	46
INTRODUCCIÓN.....	47
MATERIALES Y MÉTODOS .....	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
CONCLUSIONES .....	65
LITERATURA CITADA .....	66
• CAPÍTULO IV PREDICCIÓN DE FIRMEZA Y SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES MEDIANTE ESPECTROSCOPIA VIS/NIR EN <i>PSIDIUM GUAJABA</i> L. ....	69
RESUMEN .....	69
ABSTRACT.....	69
INTRODUCCIÓN.....	70
MATERIALES Y MÉTODOS .....	72
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	75
CONCLUSIONES .....	81
LITERATURA CITADA .....	82
<b>VIII. DISCUSIÓN GENERAL.....</b>	<b>85</b>
<b>IX. PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES .....</b>	<b>91</b>
<b>X. BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA .....</b>	<b>92</b>
<b>XI. ANEXO I Esparcimiento de luz láser detectado por el arreglo de fotodiodos.....</b>	<b>97</b>
<b>XII. ANEXO II Prueba de significación del coeficiente de correlación .....</b>	<b>101</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Corte de un fruto de guayaba .....	7
Figura 2. Guayaba cultivar "Media china" estado de maduración fisiológica .....	16
Figura 3 Evolución de la firmeza de frutos de guayaba almacenados bajo diferentes condiciones postcosecha ...	19
Figura 4 Guayaba cultivar "Media china" estado de maduración fisiológica .....	30
Figura 5 Diagrama de configuración del equipo óptico para la medición del esparcimiento de luz .....	31
Figura 6 Distribución del arreglo de fotodiodos.....	32
Figura 7 Organización y distribución de equipos ópticos.....	33
Figura 8 Esparcimiento parcialmente integrado PIS para las diferentes temperaturas de almacenamiento .....	37
Figura 9 Patrones de esparcimiento para diferentes temperaturas postcosecha.....	38
Figura 10 Esparcimiento parcialmente integrado de dos fases experimentales a 6, 12, 18 y 23 °C .....	39
Figura 11 Frutos de guayaba variedad "guayaba limón" en estado de maduración fisiológica (a) y maduración de consumo (b) .....	49
Figura 12 Equipo utilizado para la captura de imágenes de retroesparcimiento de la luz .....	50
Figura 13 Equipo de obtención de imágenes de retroesparcimiento .....	51
Figura 14 Imagen de retroesparcimiento de luz láser .....	52
Figura 15 Histograma de pixeles de imagen de retroesparcimiento .....	52
Figura 16 Evolución de la firmeza y sólidos solubles totales en el en frutos de guayaba (primera fase experimental) .....	55
Figura 17 Comportamiento postcosecha de frutos guayaba limón (segunda fase experimental) .....	56
Figura 18 Imágenes de luz retroesparcida de los 4 láseres utilizados (a) 670 nm, (b) 785 nm, (c) 850 nm y (d) 905nm en dos frutos con diferente estado de madurez .....	57
Figura 19 Histograma de las imágenes de retroesparcimiento de cada uno de los 4 láseres de frutos de guayaba en dos estados de maduración (a) color negro frutos en estado de maduración fisiológica y (b) color azul frutos estado de más avanzado de madurez con 13 días de almacenamiento .....	58
Figura 20 Análisis de componentes principales para los cuatro láseres en ambas fases experimentales: Eje x (porcentaje varianza explicada del primer componente principal) y eje y (porcentaje varianza explicada segundo componente principal) .....	59

Figura 21 Análisis de componentes principales de los cuatro láseres en ambas fases experimentales: color rojo frutos que presentan mayor estado de madurez y color azul frutos en estado de maduración fisiológica ....	60
Figura 22 Frutos de guayaba variedad "guayaba limón" en estado de maduración fisiológica (a) y maduración de consumo (b) .....	72
Figura 23 Espectrofotometro Vis/NIR LabSpec 4 Standard-Res Lab Analyzer.....	74
Figura 24 Evolución de la firmeza y sólidos solubles totales en el en frutos de guayaba (primera fase experimental) .....	76
Figura 25 Comportamiento postcosecha de frutos guayaba limón (segunda fase experimental) .....	77
Figura 26 Ejemplo de dos espectros de reflectancia de frutos de guayaba en dos estados de maduración diferentes .....	78
Figura 27 Comparación entre las técnicas no destructivas evaluadas .....	90



# ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Clasificación botánica de la guayaba ( <i>Psidium guajava</i> L.) (USDA, 2016).....	8
Cuadro 2 Evolución de sólidos solubles totales de frutos de guayaba en postcosecha.....	20
Cuadro 3 Cambios en la luminosidad de frutos de guayaba en postcosecha .....	21
Cuadro 4 Evolución de croma en frutos de guayaba almacenada bajo diferentes condiciones postcosecha .....	22
Cuadro 5 Cambios matiz de color Hue de frutos de guayaba en postcosecha .....	23
Cuadro 6 Cambios en la firmeza de frutos de guayaba en postcosecha .....	34
Cuadro 7 Evolución de sólidos solubles totales de frutos de guayaba en postcosecha.....	34
Cuadro 8 Cambios en la luminosidad de frutos de guayaba en postcosecha .....	34
Cuadro 9 Evolución de croma en frutos de guayaba almacenada bajo diferentes condiciones postcosecha .....	35
Cuadro 10 Cambios matiz de color Hue de frutos de guayaba en postcosecha .....	35
Cuadro 11 Datos del esparcimiento parcialmente integrado (PIS) .....	36
Cuadro 12 Regresión de mínimos cuadrados parciales para la predicción de la firmeza en guayaba .....	40
Cuadro 13 Modelo de calibración para el contenido de sólidos solubles en guayabas.....	41
Cuadro 14 Resultados de la calibración y validación cruzada mediante PLS para determinar la luminosidad en guayaba .....	42
Cuadro 15 Análisis estadístico de calibración y validación para la predicción de croma .....	43
Cuadro 16 Análisis de mínimos cuadrados parciales para predecir el tono (hue) en guayabas .....	43
Cuadro 17 Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos primera fase experimental (n=70).....	54
Cuadro 18 Evolución de los parámetros fisicoquímicos segunda fase experimental (n=72).....	54
Cuadro 19 Correlación estadística usando el método de regresión PLS para los parámetros fisicoquímicos con los obtenidos mediante la técnica óptica en la primera fase experimental .....	62
Cuadro 20 Correlación estadística usando el método de regresión PLS para los parámetros fisicoquímicos con los obtenidos usando la combinación de láseres en la primera fase experimental .....	63
Cuadro 21 Correlación estadística usando el método de regresión PLS para los parámetros fisicoquímicos con los obtenidos mediante la técnica óptica en la segunda fase experimental .....	64
Cuadro 22 Correlación estadística usando el método de regresión PLS para los parámetros fisicoquímicos con los obtenidos usando la combinación de láseres en la segunda fase experimental .....	65
Cuadro 23 Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos primera fase experimental (n=70).....	75
Cuadro 24 Evolución de los parámetros fisicoquímicos segunda fase experimental (n=72).....	75
Cuadro 25 Estadísticos de calibración con PLS para correlacionar la firmeza de los frutos de guayaba .....	79
Cuadro 26 Estadísticos de predicción de sólidos solubles totales mediante modelo PLS .....	81

## I. RESUMEN

La determinación no destructiva de la calidad interna y externa de los frutos es considerada importante en el sector agrícola ya que el consumidor exige una mejor calidad. Investigaciones recientes han desarrollado técnicas que hacen uso de láseres para la evaluación de la calidad externa de los frutos, así como la espectroscopía para la cuantificación de compuestos químicos en alimentos siendo técnicas no destructivas, detección rápida y económicas. Las propiedades físicas (incluyendo tamaño, forma, color, posición y temperatura) y las propiedades biológicas (incluyendo el cultivar, la estación, el nivel de madurez y el origen geográfico) de las frutas y verduras varían de una a otra. Gran variedad de propiedades físicas y biológicas de los productos agrícolas influyen las propiedades de propagación óptica y los comportamientos de interacción con la luz incidente. Por lo cual el objetivo del presente trabajo ha sido la aplicación de tres diferentes técnicas basadas en propiedades ópticas: esparcimiento de luz láser, imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz láser y espectroscopía Vis/NIR, a frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. “media china” y “guayaba Limón”, que permitan cuantificar diversas medidas de calidad. Empleando técnicas de análisis de datos (Análisis de componentes principales PCA y regresión por mínimos cuadrados parciales PLS), los resultados demostraron que las calibraciones obtenidas consiguieron tener valores predictivos aceptables entre los parámetros ópticos y los parámetros de calidad más importantes de los frutos. Para la determinación de firmeza mediante la técnica de esparcimiento de luz láser los mejores resultados se obtuvieron en frutos almacenados a 12 °C con un coeficiente de determinación  $r = 0.66$  y RMSECV = 12.43 N, para las imágenes obtenidas por retroesparcimiento utilizando tres láseres con diferentes longitudes de onda (785, 850 y 905 nm) se obtuvo un coeficiente de correlación  $r = 0.71$  y RMSECV = 11.33 N, y para la tecnología Vis/NIR (700 – 2450 nm) correlacionando con resistencia a la penetración  $r = 0.69$  y RMSECV = 0.75 N y con la dureza obtenida por TPA  $r = 0.57$  y RMSECV = 12.29 N. La predicción del contenido de sólidos solubles totales no fue favorable al obtenerse en el modelo de calibración coeficientes de correlación en la validación similares para las tres técnicas evaluadas: esparcimiento de luz láser  $r = 0.62$  y RMSECV = 0.88 °Brix, imágenes obtenidas por retroesparcimiento  $r = 0.50$  y RMSECV = 1.45 °Brix, así como para los espectros NIR (700 – 2450 nm)  $r = 0.59$  y RMSECV

= 1.32 °Brix respectivamente. Para la predicción del color externo mediante el tono o matiz de los frutos de guayaba se utilizó la técnica de esparcimiento de luz láser con una longitud de onda de 650 nm obteniéndose resultados satisfactorios de coeficiente de correlación de  $r = 0.77 - 0.88$  con un error cuadrático de calibración  $RMSECV = 4.13 - 5.44$ . Con lo anterior, se concluye que la tecnología de espectroscopía NIR es la técnica óptica no destructiva que demuestra mayor viabilidad para la predicción de calidad interna de frutos de guayaba, al utilizar un rango multiespectral que comprende bandas específicas de absorción de diferentes compuestos químicos relacionados con la firmeza y el contenido de sólidos solubles totales. La técnica de esparcimiento de luz láser y las imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz láser al utilizar longitudes del espectro visible permiten clasificar los frutos de acuerdo a la concentración de pigmentos, tanto clorofilas como carotenoides, que presentan los frutos durante su maduración.

**Palabras claves:** calidad, frutos, guayaba, técnicas no destructivas, propiedades ópticas

## II. ABSTRACT

The nondestructive determination of the internal and external quality of the fruits is considered important in the agricultural sector, since the consumer demands a better quality. Recent research has developed techniques that make use of lasers for the evaluation of the external quality of the fruits, as well as spectroscopy is applicable to the quantification of chemical compounds in foods, being nondestructive techniques, rapid detection and economic. The physical properties (including size, shape, color, position and temperature) and biological properties (including cultivar, season, level of maturity and geographical origin) of fruits and vegetables vary from one to the other. A great variety of physical and biological properties of agricultural products influence the properties of optical propagation and interaction behavior with incident light. Therefore, the objective of this work has been the application of three different techniques based on optical properties: laser light scattering (LLS), laser light backscattering and Vis / NIR spectroscopy, to guava fruits (*Psidium guajava* L.) cv. "media china" and "guayaba limón", which allow quantifying various quality measures. Using data analysis techniques (Principal component analysis PCA and regression by partial least squares PLS), the results showed that the obtained calibrations were able to have acceptable predictive values between the optical parameters and the most important quality parameters of the fruits (firmness, total soluble solids and color). For determination of firmness using the technique of laser light scattering, the best results were obtained in fruits stored at 12 ° C with a correlation coefficient of  $r = 0.66$  y  $RMSECV = 12.43$  N, for the images obtained by backscattered of three lasers with different wavelengths (785, 850 and 905 nm) a coefficient of correlation  $r = 0.71$  y  $RMSECV = 11.33$  N was obtained, and for NIR spectroscopy (700 - 2450 nm) correlated with penetration resistance  $r = 0.69$  y  $RMSECV = 0.75$  N and with the hardness obtained by TPA  $r = 0.57$  y  $RMSECV = 12.29$  N. The prediction of the content of total soluble solids wasn't favorable when obtaining in the calibration model similar coefficients of correlation for the three evaluated techniques: laser light scattering  $r = 0.62$  y  $RMSECV = 0.88$  °Brix, images obtained by backscattering  $r = 0.50$  y  $RMSECV = 1.45$  °Brix, as well as for the NIR spectra (700 - 2450 nm)  $r = 0.59$  y  $RMSECV = 1.32$  °Brix. The external color was predicted using the laser light scattering technique with a wavelength of 650 nm obtaining satisfactory results of correlation

coefficient of  $r = 0.77 - 0.88$  with a quadratic error of calibration  $RMSECV = 4.13 - 5.44$ . It is concluded that the technology of NIR spectroscopy is the non-destructive optical technique that demonstrates greater viability for the prediction of internal quality of guava fruits by using a multispectral range that comprises absorption bands of different chemical compounds related to the firmness and the content of total soluble solids. The technique of laser light scattering and the images obtained by laser light backscattering when using visible wavelengths do a classification of the fruits according to the concentration of pigments, both chlorophylls and carotenoids, which present the fruits during their maturation.

**Keywords:** fruits, guava, quality, non-destructive techniques, optical properties

### III. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, se observa incremento en la demanda mundial del consumo de frutos lo cual hace importante el estudio sobre su proceso de maduración para satisfacción del consumidor, prolongando la vida útil y manteniendo su calidad sensorial, ya sea para consumo en fresco o elaboración industrial de subproductos.

Actualmente, grupos de investigación y fabricantes han desarrollado métodos no destructivos que están siendo utilizados por la industria para medir atributos de calidad en frutos, permitiendo que una misma muestra sea monitoreada en varias ocasiones en un determinado periodo de tiempo, siendo útil cuando existe una diferencia marcada entre frutos individuales, disminuyendo así pérdidas materiales y económicas; entre ellos destacan los que se basan en las propiedades ópticas (imágenes, espectroscopía VIS/INRS, Fluorescencia), mecánicas, eléctricas, electromagnéticas (Rayos X y Resonancia Magnética Nuclear) y acústicas (Ruiz-Altisent et al., 2010).

Estos métodos surgen, dado que tradicionalmente para estimar el óptimo de madurez de un fruto, se tienen herramientas como los índices de maduración, los cuales pueden ser subjetivos u objetivos basados en la determinación de características internas y externas del fruto, mediante el empleo o no de instrumental y/o análisis químico o mecánico (González Durán, 2013). Los índices objetivos utilizan métodos destructivos, los cuales determinan cuantitativamente el valor de ciertos parámetros fisicoquímicos (sólidos solubles totales, firmeza, acidez titulable, entre otros), siendo una desventaja ya que involucran el daño del material o destrucción del fruto provocando pérdidas económicas y tiempo de análisis. Por lo que, la industria hortofrutícola de acuerdo al incremento de la demanda de calidad por parte de los consumidores, requiere de sistemas efectivos para el control de la calidad en frutos que permitan tener el conocimiento de sus etapas de crecimiento, desarrollo y madurez, facilitando la clasificación de los frutos con base en su estado de maduración, eficientizando la uniformidad en el proceso de maduración y la determinación de la estrategia postcosecha óptima para el manejo y comercialización del fruto.

Existe una variedad de métodos no destructivos, que están siendo investigados y evaluados, entre estas técnicas destacan, el retroesparcimiento de luz láser para evaluar el estado de maduración de frutos de cereza (Gregorio, 2014); así como para evaluar la maduración en manzana (Victoria Lafuente et al., 2013; Lu, 2004; Qing et al., 2007), la espectrofotometría del infrarrojo cercano (NIR) para la predicción del estado de madurez de mangos (Saranwong et al., 2004), evaluar la calidad del fruto de manzano (Lu et al., 2000; Cubeddu et al., 2001) y determinar la firmeza del melocotón (Victoria Lafuente et al., 2014), así como las ondas acústicas para la detección del estado de madurez en aguacate (León, 2001) y la impedancia eléctrica para predecir la firmeza en frutos de fresa (González Araiza, 2014)

La aplicación exitosa de estas técnicas requiere de la combinación de sensores con modelos matemáticos sofisticados y algoritmos computacionales para establecer las relaciones entre las propiedades fisicoquímicas, mecánicas, eléctricas, ópticas, entre otras, y los atributos de calidad de los productos. Actualmente las técnicas más prácticas y que proporcionan resultados satisfactorios para la evaluación y clasificación no destructiva de productos agrícolas, son las técnicas electro-ópticas, las cuales se basan en las propiedades ópticas de los productos (Chen and Sun, 1991). Estas técnicas miden la radiación electromagnética que emana o interactúa con la materia al incidir una radiación sobre un objeto, una parte se refleja en la superficie y lo que resta penetra en el interior; siendo una fracción de ésta absorbida y otra difundida. De ésta, una parte vuelve a salir por la superficie de entrada como “retroesparcida” y otra puede ser transmitida en algunos casos, dependiendo del tipo de material.

Estas técnicas tienen la ventaja de que son multivariantes, de no contacto, rápidas, por lo que no degradan la muestra, ofrecen mediciones de múltiples características y pueden ser implementadas dentro del proceso en línea o *in situ* (Pedersen and Engelsen, 2001).

De acuerdo con la calidad de los frutos climatéricos, el proceso de maduración es importante ya que está ligado a complejos procesos fisiológicos de transformación desde su etapa inmadura hasta que alcanza su madurez de consumo, con la subsecuente senescencia o muerte del tejido. El término maduro presenta diferentes definiciones, la madurez fisiológica que suele iniciarse antes de que termine el crecimiento celular y finaliza, aproximadamente, cuando el fruto tiene las semillas en disposición de producir nuevas plantas y la madurez de consumo, que comienza

durante los últimos días de maduración fisiológica y que irreversiblemente conduce a la senescencia del fruto, hace referencia al momento de cosecha óptimo, que asegura que el fruto tenga calidad suficiente para satisfacer o superar el nivel mínimo requerido por parte del consumidor (Angón et al., 2006).

La guayaba es una baya considerada como fruto climatérico altamente percedero a causa de su intensa actividad metabólica durante la maduración; puede adoptar diferentes formas: esférica, globosa, elipsoidal o periforme, cuyo endocarpio (pulpa) contiene numerosas pequeñas semillas y varía de color dependiendo de la variedad (Figura 1). Sus dimensiones varían aproximadamente de 5 a 12 cm de largo y 5 a 7 cm de ancho (Ochse et al., 1986). Es un fruto averrugado o liso, densamente punteado, brillante (Torres, 2014). Su peso fluctúa entre 60 y 500 gr por pieza, un pH ácido de 3.4 a 4.2, una concentración de sólidos solubles entre 5 a 15 °Brix y una resistencia a la compresión entre 9 y 16 lb/pulg<sup>2</sup> (Perales de la Cruz et al., 2005).

El corte de una guayaba muestra las tres capas que poseen los frutos. La piel de la guayaba es la capa más externa y recibe el nombre de epicarpio. Protege las dos capas internas: la pulpa jugosa o mesocarpio, y el endocarpio que está más próximo a las semillas. Las tres capas constituyen el pericarpio, la cubierta espesa del fruto que rodea y protege la semilla.



Figura 1 Corte de un fruto de guayaba

El pericarpio presenta un color amarillo verdoso y amarillo claro en su plena madurez; en él se distinguen tres capas (Figura 1). El color del mesocarpio (carne) es variable: puede ser blanco, blanco amarillento, rosado, amarillo, naranja o salmón, dependiendo de la presencia de



carotenoides, licopenos y  $\beta$ -carotenos (Maldonado, 2011). En la epidermis y el mesocarpio se encuentran células duras, escléridas, solas o en grupos, que le dan la consistencia arenosa característica, en el centro se encuentra una masa de material pulposo, donde se ubican las semillas (Maldonado, 2011).

La guayaba pertenece a la familia Myrtaceae (Cuadro 1), está representada por 3000 especies (Domínguez, 2011). Entre los géneros con mayor importancia económica de esta familia están las que producen frutos comestibles como: *Eugenia*, *Feijoa* y *Psidium* (González et al., 2002).

Cuadro 1 Clasificación botánica de la guayaba (*Psidium guajava* L.) (USDA, 2016)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	<u>Rosidae</u>
Orden	<u>Myrtales</u>
Familia	Myrtaceae
Género	<i>Psidium</i> Linneo.
Especie	<i>Psidium guajava</i> Linneo

Durante su proceso de maduración la guayaba presenta diferentes cambios fisiológicos, físicos y químicos como son la respiración, el endulzamiento, cambios en textura, aroma, producción de compuestos volátiles, coloración y concentración de antioxidantes. Sin embargo, la velocidad y naturaleza del proceso de maduración difiere significativamente entre las especies de frutos, cultivos, diferentes estados de madurez de la misma variedad y zonas de producción (Bashir et al., 2003)

La guayaba se consume principalmente como fruta fresca (87 al 92 %) y el resto se usa en las industrias de bebidas, mermeladas y otros productos afines (González et al., 2002). Los frutos que se destinan a la industria pueden cosecharse en un estado de madurez avanzado que los destinados al consumo en fresco; sin embargo, ellos se descomponen fácilmente y en la

actualidad una gran proporción de la cosecha no llega a los consumidores (Mata y Rodríguez, 1990).

La importancia económica de la producción mundial de guayaba es de alrededor de 1.2 millones de toneladas, la India y Pakistán aportan el 50 %, México produce el 25 % y el resto lo aportan otros países como Colombia, Egipto y Brasil (Yam Tzec et al., 2010).

En México la producción es del orden de las 309 mil toneladas anuales (Cuadro 1); destacando por su aportación los Estados de: Michoacán 47 %, Aguascalientes 32 %, Zacatecas 16 % y el 6 % restante, lo aportan Jalisco y Querétaro. El valor de la producción es del orden de los 1,370 mil millones de pesos (Mondragón et al., 2009; SAGARPA/SIAP, 2016).

La producción de guayaba en Michoacán es de aproximadamente 137,000 ton y 9,500 ha cultivadas, aumentando en los últimos años con un promedio aproximado de 12,174 ton (SAGARPA/SIAP, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014), concentrándose en los municipios de Jungapeo, Juárez, Zitácuaro, Susupuato, Taretan y Nuevo Urecho, en los cuales se cultiva el 85 % de la superficie (Mondragón et al. 2009).

En esta investigación se evaluará la aplicación de técnicas ópticas no destructivas mediante el análisis de reflectancia difusa que se determina mediante la luz esparcida y absorbida, para clasificar y predecir el estado de madurez de los frutos de guayaba con base en diferentes condiciones de almacenamiento.

## **IV. HIPÓTESIS**

Los métodos no destructivos basados en las propiedades ópticas de los materiales tales como esparcimiento de luz láser, imágenes de retroesparcimiento y espectroscopía Vis/NIR, permiten determinar cambios fisicoquímicos en el fruto de guayaba asociados con la maduración de este.

## V. OBJETIVOS

### GENERAL

Estudiar e implementar diferentes métodos no destructivos basados en las propiedades ópticas de los materiales, para establecer el estado de madurez del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) en su periodo postcosecha.

### PARTICULARES

- Identificar las etapas de maduración del fruto de guayaba mediante técnicas analíticas fisicoquímicas, bajo diferentes condiciones postcosecha.
- Evaluar la técnica de esparcimiento de luz láser, como método no destructivo, para predecir el estado de maduración de los frutos, mediante la correlación con los parámetros fisicoquímicos.
- Analizar imágenes capturadas mediante retroesparcimiento de luz láser con diferentes longitudes de onda, para evaluar la firmeza y sólidos solubles, durante el proceso de maduración de frutos de guayaba.
- Determinar el grado de madurez de frutos de guayaba mediante espectroscopía Vis/NIR.

## VI. ESTRUCTURA DEL PROYECTO

Para alcanzar los objetivos planteados, el apartado de resultados y discusión del proyecto se divide en cuatro capítulos que se introducen a continuación:

- Capítulo I, se analizó la evolución del proceso de maduración de guayaba (*Psidium guajava*) cv. “media china” postcosecha bajo diferentes condiciones de almacenamiento
- Capítulo II, se implementa la técnica de esparcimiento de luz láser para predecir la firmeza, el contenido de sólidos solubles totales, así como los parámetros de color en frutos de guayaba (*Psidium guajava*) cv. “media china” almacenados en diferentes temperaturas.
- Capítulo III, se analizan las imágenes de retroesparcimiento tomadas y se valora como técnica no destructiva para estimar la firmeza y sólidos solubles en frutos de guayaba (*Psidium guajava*) cv. “guayaba limón”.
- Capítulo IV, se resumen los resultados obtenidos para predecir la firmeza y sólidos solubles totales en frutos de guayaba (*Psidium guajava*) cv. “guayaba limón” mediante los espectros de visible e infrarrojo cercano.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se utilizaron dos variedades de guayaba diferentes, una cultivada en México correspondiente a la variedad “media china” y otra en España cv. “guayaba limón”. El Capítulo I y II se relacionan con la guayaba cultivada en México, y los Capítulos III y IV corresponden con la obtenida en España.

- **CAPÍTULO I Evolución del proceso de maduración postcosecha de guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. “media china” en diferentes condiciones de almacenamiento.**

Adriana Padilla Tena <sup>a\*</sup>, Berenice Yahuaca Juárez, Jorge A. Huerta Ruelas, Consuelo de J.-Cortés Penagos, Javier Ponce Saavedra, Rafael Salgado Garciglia

<sup>a</sup> Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Químico Farmacobiología Tzintzuntzan 173, 58240 Michoacán, México.

### RESUMEN

Se evaluó el comportamiento postcosecha de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) variedad “media china” almacenada bajo diferentes condiciones de temperatura (6, 12, 18 y 23 °C) utilizando un diseño completamente al azar donde la variable independiente está dada por el tiempo de almacenamiento (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 días) y las variables respuesta los parámetros fisicoquímicos. Los resultados indican que ambos factores de estudio, tiempo de almacenamiento y temperatura, presentan un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) sobre los parámetros de firmeza, sólidos solubles totales y color del epicarpio del fruto. Los frutos pueden ser almacenados a temperatura de 12 °C por 21 días sin sufrir deterioro en sus propiedades fisicoquímicas, sin embargo, a temperaturas inferiores los frutos sufren daños por frío manifestando desórdenes fisiológicos, sensoriales y patológicos, como anomalías del desarrollo o del metabolismo provocando una maduración incompleta, cambios en el color, transformación de la estructura celular, alteración en compuestos aromáticos y modificación del sabor.

**Palabras clave:** guayaba, almacenamiento, maduración.

## ABSTRACT

Postharvest behavior was evaluated of guava fruits (*Psidium guajava* L.) variety “media china” under different storage conditions (T1 = 23°C, T2 = 18 °C, T3 = 12 °C y T4 = 6 °C) using a completely random design where the independent variable is given by the storage time (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 days) and the response variables the physicochemical parameters. The results indicate that the temperature of storage shows a statistically significant effect ( $p < 0.05$ ) on quality parameters: firmness, total soluble solids and external color of the fruit. Fruits can be stored at 12 °C up to 21 days postharvest maintaining their physicochemical properties, lower temperatures produce anomalies in the maturation process from cold damage manifesting physiological, sensory and pathological disorders.

**Keywords:** guava, storage, maturation.

## INTRODUCCIÓN

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es un fruto de gran tradición en México, el cual es bien aceptado para su consumo en fresco (87 al 92 %) o bien en sus derivados como bebidas, dulces, mermeladas y otros (González et al., 2002); la guayaba es considerada una fuente rica en antioxidantes tales como alto contenido de vitamina C superando cinco veces el contenido en cítricos (500 mg/100g de peso fresco, carotenoides y fenoles, también es abundante en fibra dietética y vitaminas (Gutiérrez Devia et al., 2014; Parra-Coronado, 2014).

La madurez es un proceso fisiológico y bioquímico durante el cual los frutos climatéricos experimentan diferentes cambios fisicoquímicos, siendo la firmeza, concentración de sólidos solubles, y el color del epicarpio las más sobresalientes. Estos cambios condicionan su comercialización ya que en un corto periodo de tiempo a temperatura ambiente las guayabas llegan a su senescencia o presentan deterioro por microorganismos. Dichos cambios están asociados a su metabolismo, ya que al ser un fruto de tipo climatérico, inmediatamente después de haberse cosechado se incrementa su tasa respiratoria y la producción de etileno, teniendo por consecuencia una oxidación enzimática que lo conduce a una vida útil de tan sólo unos cuantos días a temperatura ambiente (Siddiq et al., 2012).

Para disminuir la velocidad de estas reacciones de deterioro y con ello incrementar la vida útil, es necesario recurrir a la modificación de las condiciones de almacenamiento, particularmente la temperatura, una vez cosechado el fruto se requiere de un preenfriamiento para eliminar “el calor de campo”, ello maximiza la vida postcosecha del producto y posteriormente se mantienen a una temperatura baja constante, disminuyendo la respiración y por consecuencia la velocidad de los procesos fisiológicos, de las reacciones químicas que originan pérdidas en la calidad del producto y se inhibe la proliferación de microorganismos (Bohórquez Díaz, 2003; García Betanzos, 2011).

El daño por frío ocurre cuando los frutos se almacenan a temperaturas por encima de su punto de congelación (0 °C) pero por debajo de los 8 °C, dentro de los síntomas más notorios destacan, pardeamiento interno y de la superficie, pequeños hundimientos en el pericarpio, madurez no uniforme o pérdida de la capacidad para madurar, desarrollo de colores no propios de la guayaba madura y aceleración de la incidencia de hongos o pudriciones superficiales. Las guayabas en estado de plena madurez son menos sensibles a sufrir daño por frío en comparación con las que se encuentran en estado de maduración fisiológica (verde-maduro) y se les puede conservar a 5 °C hasta por una semana sin presentar sintomatología (Artés Calero, 2003; Kader, 2002).

Algunas investigaciones se han llevado a cabo sobre el efecto que tienen las condiciones de almacenamiento de frutos de guayaba (*Psidium guajava*) sobre sus propiedades fisicoquímicas, demostrando que las temperaturas óptimas de almacenamiento oscilan entre los 8 – 10 °C manteniendo la evolución característica de los sólidos soluble totales, los cuales aumentan con el proceso de maduración, por el contrario disminuye la firmeza (Barriga Téllez et al., 2008; García M. et al., 2012).

Por lo anterior, es importante destacar que se requiere de nuevas alternativas para incrementar la vida útil de los productos manteniendo con ello su calidad sensorial y cualidades nutrimentales, ser naturales y accesibles al consumidor, cumpliendo con el objetivo de disminuir las pérdidas postcosecha que actualmente oscilan alrededor del 35 % (García Betanzos, 2011).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la vida útil postcosecha de los frutos de guayaba (*Psidium guajava*) cv. “media china” almacenada a diferentes condiciones de temperatura.



## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron frutos de guayaba (*Psidium guajava*) cv. “media china” de pulpa color blanca-amarilla, diámetro longitudinal aproximado 5.5 – 6.5 cm, diámetro ecuatorial aproximado 4.5 – 5 cm y peso 65- 85 g, los cuales fueron obtenidos en la Central de Abastos de la Cd. de Morelia, Michoacán, México, y trasladados al laboratorio de Biotecnología “M.C. Víctor M. Rodríguez Alcocer” de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Los frutos se clasificaron tomando en consideración dos parámetros, color y firmeza. El color se asoció al estado de maduración fisiológica (color verde) y fue determinado visualmente y la firmeza por medio de un ensayo de resistencia a la compresión a 1mm de distancia de compresión (Figura 2).



Figura 2. Guayaba cultivar "Media china" estado de maduración fisiológica

Los frutos se almacenaron en cámaras frigoríficas bajo las siguientes condicionantes de temperatura: T1= 6 °C, T2= 12 °C, T3= 18 °C y T4= 23 °C.

### **Caracterización fisicoquímica del fruto de guayaba almacenado**

#### **Determinación firmeza**

La firmeza se midió mediante el ensayo de resistencia a la compresión haciendo uso de un analizador de textura marca TA-XT2i, en el cual el fruto fue colocado en el texturómetro haciendo incidir en él un plato de compresión de acero inoxidable de 75 mm de diámetro, a una distancia de compresión de 3 mm y una velocidad de desplazamiento de 1 mm/s. El valor obtenido de la fuerza máxima de resistencia a la compresión fue expresado en Newtons.

#### **Determinación sólidos solubles totales (SST)**

Los SST del fruto se determinaron con un refractómetro manual de acuerdo a lo establecido en la norma NMX-F-103-1982.

## **Determinación de color**

Se determinó el color del pericarpio del fruto de guayaba con un colorímetro marca Hunter Lab y se expresó en términos de hue (tono) y C (intensidad) (Ecuación 1 y 2), para ello se obtuvieron las coordenadas de color a que representa la intensidad del color verde a rojo y b la intensidad de color amarillo a azul, y la luminosidad del color L.

Los valores de a y b fueron usados para calcular:

- El tono Croma (C)

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad \text{Ecuación 1}$$

- El ángulo hue o ángulo del tono de color

$$\text{hue} = \arctan(b/a) \quad \text{Ecuación 2}$$

Si el valor de la coordenada a es negativo, se debe sumar 180 ° al valor de hue calculado.

## **Análisis estadístico**

El almacenamiento se llevó a cabo durante 21 días, se utilizó un diseño factorial completamente al azar. Donde la variable independiente está dada por el tiempo de almacenamiento y las variables respuesta los parámetros fisicoquímicos los cuales fueron evaluados cada tercer día (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 días). Se realizaron 2 evaluaciones para un total de 156 frutos analizados. Para el análisis estadístico se aplicó un Anova y para comparación de medias con un nivel de confianza del 95 %; se aplicó la prueba *post hoc* de Tukey mediante el uso del software JMP 6.0.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Comportamiento de la firmeza en frutos de guayaba**

Uno de los mayores cambios que se presentan en el proceso de maduración es el ablandamiento de los frutos debido a la pérdida de firmeza, la cual se ve inducida por el aumento de la actividad enzimática de las hidrolasas, causado por el aumento en concentraciones de etileno debido al proceso de respiración que presentan los frutos climatéricos; estas enzimas se encargan de la

degradación o hidrólisis principalmente de las pectinas (protopectinas) y almidones, lo que modifica la estructura de las paredes celulares y las uniones intracelulares debilitando las fuerzas cohesivas que mantienen la unión entre las células (Thumdee et al., 2007). Knee (2002), menciona que la temperatura de almacenamiento tiene un efecto sobre la vida postcosecha del fruto, donde a mayor temperatura la pérdida de agua aumenta, manifestándose en la disminución de la firmeza debido al proceso de respiración, el cual es más elevado, lo que aumenta la actividad enzimática encargada de la hidrólisis de la pectina que compone las paredes celulares. La temperatura óptima de almacenamiento para guayaba es de 8 – 12 °C con un tiempo de vida postcosecha de 2- 3 semanas (Kader, 2013).

Los resultados correspondientes a la firmeza de los frutos de guayaba almacenadas bajo diferentes condiciones de temperatura indicaron que a mayor temperatura de almacenamiento se refleja una tendencia mayor en el ablandamiento de los frutos en un periodo de tiempo más corto.

La Figura 3, muestra la disminución de la firmeza a través del tiempo postcosecha de frutos de guayaba conservados a 23, 18, 12 y 6 °C, encontrándose diferencias estadísticamente significativas con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ . A temperatura de 23 °C se presenta una firmeza inicial de  $80.8 \pm 2.44$  N alcanzando una pérdida del 82 % ( $14.2 \pm 0.89$  N) para el día 9 postcosecha, a 18 °C presentaron una disminución del 86 % para el día 15 ( $11.1 \pm 1.32$  N), respecto al almacenamiento a 12 °C inicialmente las guayabas presentaron una firmeza de  $78.7 \pm 26.3$  N alcanzando una firmeza de  $9.8 \pm 0.9$  N para el día 21 postcosecha, disminuyendo en un 87.5 %; por último, el almacenamiento a 6 °C alcanzó los 21 días postcosecha con una pérdida de firmeza de 77.1 % ( $87.2 \pm 9.32$  N a  $20.0 \pm 3.62$  N).

Es importante destacar que en condiciones de bajas temperaturas de almacenamiento hay un retraso en el ablandamiento de los frutos, siendo que a los 21 días de almacenamiento a 6 °C la pérdida de firmeza fue menor que la presentada al día 15 a 12 °C (81 %), día 9 a 18 °C (78 %) y día 6 a temperatura de 23 °C (78.7 %).

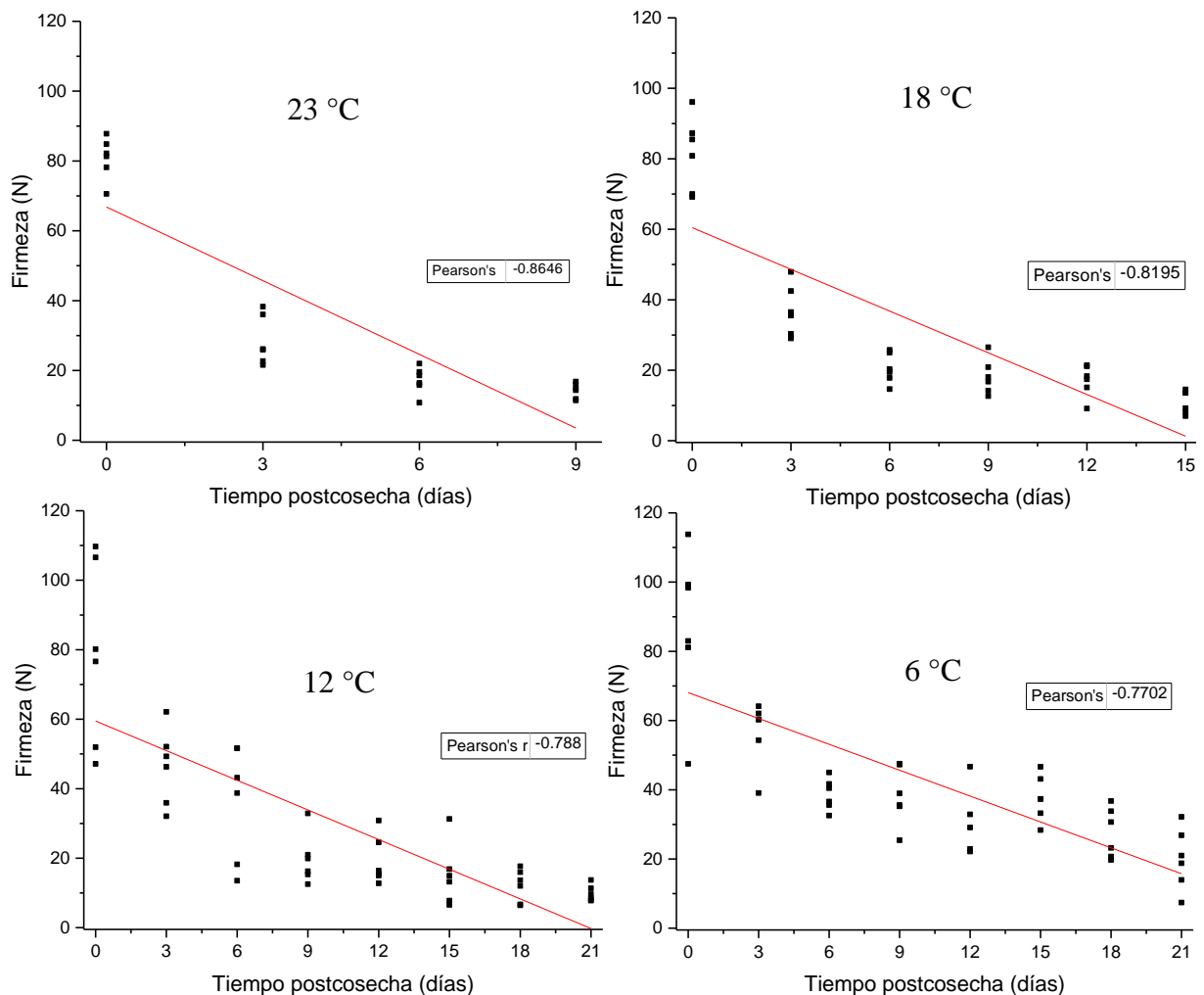


Figura 3 Evolución de la firmeza de frutos de guayaba almacenados bajo diferentes condiciones postcosecha

De acuerdo con lo reportado por Mercado Silva et al. (1998) para cultivar “media china”, la firmeza en primavera – verano decrece de 35.9 a 4.71 N y para frutos cosechados en otoño – invierno disminuye de 39.1 a 4.9 N, por otro lado Bashir et al. (2003), indican que la firmeza de la guayaba decrece con el avance del periodo postcosecha de 2,13 a 0.20 kg cm<sup>-2</sup> para guayaba variedad pulpa blanca, al igual que Solarte Cruz (2013) quien observó una disminución en frutos de guayaba Regional blanca de 23.20 a 3 kg/pulg en cuatro etapas de maduración (verde, pintón, maduro y sobre maduro). Así como Azzolini et al. (2004) quienes indican que los frutos de guayaba Pedro Sato experimentan una ablandamiento durante tres etapas de maduración de 100.8 – 24.9 N La disminución de la firmeza no solo es afectada por la solubilización de las pectinas y por la hidrólisis del almidón, sino que está estrechamente relacionada con la anatomía

física del tejido: tamaño, forma y empaçado celular; el espesor y fuerza de la membrana celular, grado de adhesión célula-célula junto con el estado de turgencia: contenido de agua (González Araiza, 2014).

### **Evaluación de sólidos solubles totales en frutos de guayaba**

Los sólidos solubles totales en el fruto de guayaba experimentaron un incremento a lo largo del periodo de almacenamiento, observándose diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos de 18, 12 y 6 °C con respecto al tiempo de almacenamiento con un nivel de confianza de 95 % (Cuadro 2).

Cuadro 2 Evolución de sólidos solubles totales de frutos de guayaba en postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Día								
0	9.77 a	0.29	10.03 a	0.22	9.67 a	0.29	9.90 a	0.32
3	9.70 a	0.28	10.72 ab	0.28	10.30 ab	0.18	10.32 a	0.20
6	10.47 ab	0.16	11.03 ab	0.39	10.73 ab	0.24	10.72 a	0.29
9	10.03 abc	0.35	11.45 ab	0.68	11.60 b	0.56	10.75 a	0.16
12	11.10 abc	0.06	11.70 ab	0.48	10.60 ab	0.29		
15	11.53 cb	0.18	11.77 ab	0.37	11.25 b	0.32		
18	11.47 c	0.18	11.67 ab	0.26				
21	11.60 c	0.47	12.27 b	0.12				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

A las temperaturas de 18, 12 y 6 °C se presenta un incremento de 16.5 %, 23 % y 17.4 % respectivamente en la concentración de sólidos solubles totales, pero a temperatura de 23 °C solo existió un incremento de 9 % esto a razón de un incremento numérico de los datos obtenidos, sin embargo, estadísticamente no existe un incremento significativo en el periodo de almacenamiento.

Resultados reportados por Bashir et al. (2003) señala que los valores en frutos de guayaba pulpa blanca almacenados a 20 °C oscilan entre 5,0 y 12,5 °Brix durante su proceso de maduración, Mercado-Silva et al. (1998) por su parte indica que el contenido de sólidos solubles incrementa conforme proceso de maduración de frutos de guayaba variedad “media china” para el periodo de cosecha primavera –verano de 7.8 – 10.2 °Brix a 25 °C y otoño – invierno 11.1 – 12.1 °Brix; este aumento lo atribuye a la hidrólisis del almidón en azúcares simples y pectina, los cuales

posteriormente tienden a disminuir cuando alcanzan su etapa de senescencia, debido a que son utilizados en el metabolismo respiratorio como sustratos, y Suárez et al. (2009) reportan que frutos de guayaba de tipo “Criolla roja” almacenados a temperaturas de  $12 \pm 2$  °C presentan en promedio 8,00 a 9,66 °Brix, a temperatura de  $27 \pm 2$  °C promedios de 5.15 a 7,57 °Brix y a 17 °C 7.40 a 8.53 °Brix.

### **Caracterización de color del epicarpio de guayaba**

Los parámetros de color de los frutos de guayaba en diferentes estados de almacenamiento se presentan en los cuadros 3, 4 y 5. El análisis de los valores de color muestra un incremento estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) en condiciones de almacenamiento de 23, 18 y 12 °C respecto a los parámetros de color.

En el Cuadro 3 se presentan los valores promedios para la luminosidad, los tratamientos con temperatura de 23 y 12 °C, presentan un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) a medida que los frutos experimentan su proceso de maduración con una tendencia a ser más claros. A temperatura de 12 °C, las guayabas exhiben un mayor incremento desde el día inicial hasta el día 21 de almacenamiento aumentando un 30 %, en diferencia con la temperatura de 23 °C en la que solo aumentó un 9 % durante su maduración hasta los 9 días postcosecha, a 18 y 6 °C no existió cambio significativo en el aumento de la luminosidad.

Cuadro 3 Cambios en la luminosidad de frutos de guayaba en postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Día								
0	50.10 a	4.43	47.96 a	1.38	61.64 a	1.20	59.15 a	1.02
3	50.88 a	4.78	48.58 a	2.52	64.52 a	2.02	65.27 b	1.81
6	48.54 a	2.96	49.47 ab	2.94	62.93 a	1.57	64.71 b	1.05
9	52.92 a	1.94	58.60 bc	2.12	65.30 a	1.73	64.36 b	0.70
12	53.60 a	1.73	61.36 c	2.36	66.94 a	0.76		
15	53.21 a	2.61	62.77 c	2.22	61.12 a	2.08		
18	52.84 a	1.09	62.79 c	1.17				
21	58.43 a	6.14	62.35 c	0.66				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

Los parámetros de croma y hue son obtenidos al combinar de las coordenadas de color a y b medidas en el estudio, donde a es la coordenada que se ve mayormente afectada en el proceso de maduración ya que está presenta una tendencia a aumentar, virando de tonos verdes a los rojizos; y b, se relaciona directamente con la luminosidad mostrando un comportamiento similar. Por lo anterior, croma permite diferenciar la vividez o intensidad de los frutos y hue el tono de color para cada fruto de guayaba en sus diferentes estados de madurez (González Cárdenas, 2010).

De acuerdo con los resultados obtenidos para la saturación croma (Cuadro 4), a 23 ° existió un aumento del 6.2 % ( $26.75 \pm 0.36$  a  $28.41 \pm 0.39$ ) alcanzado el día 9 y a temperatura de 12 °C, la saturación alcanzó un incremento significativo del 35 % alcanzando colores más amarillentos hasta el día 21 de maduración. Respecto a lo registrado a 18 y 6 °C, no existieron cambios estadísticamente significativos entre los días postcosecha

Cuadro 4 Evolución de croma en frutos de guayaba almacenada bajo diferentes condiciones postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
Día	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
0	22.47 a	1.80	22.77 a	0.75	27.50 a	0.51	26.75 a	0.36
3	23.32 a	1.90	23.66 a	1.42	29.28 a	0.78	29.96 ab	0.91
6	22.51 a	1.04	23.95 a	1.59	28.08 a	0.80	29.13 ab	0.61
9	25.01 a	0.76	28.59 b	0.91	30.68 a	1.88	28.41 b	0.39
12	25.22 a	0.73	30.19 b	0.96	29.43 a	0.57		
15	24.44 a	0.56	29.96 b	0.45	26.92 a	0.66		
18	24.84 a	0.64	30.66 b	0.35				
21	25.05 a	1.13	30.96 b	0.41				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

Referente al tono o ángulo hue (Cuadro 5), los tratamientos 23, 18 y 12 °C mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) presentado una tendencia a disminuir el ángulo en cada periodo poscosecha, lo cual indica que los frutos tienen un cambio de color de verde - amarillento a amarillo-rojizo conforme avanza el proceso de maduración debido a la degradación de la clorofila, el cual se debe a los cambios de pH, procesos oxidativos y la acción enzimática de la clorofilasa (Kader, 2002). Se puede observar que a 6 °C los frutos no presentaron cambios en

periodo de almacenamiento debido a la temperatura de refrigeración lo que retarda los procesos fisiológicos y fisicoquímicos normales de maduración.

Cuadro 5 Cambios matiz de color Hue de frutos de guayaba en postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
Día	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
0	103.28 a	4.04	107.71 a	0.56	94.28 a	1.70	95.80 a	1.35
3	105.44 a	3.36	105.01 a	2.19	87.71 b	2.11	84.56 b	1.45
6	101.06 a	3.37	102.00 a	2.55	80.77 c	0.86	78.68 c	0.50
9	100.25 a	2.82	92.73 b	2.11	80.01 c	0.43	77.64 c	0.57
12	100.03 a	1.63	87.88 bc	1.52	80.11 c	0.52		
15	100.16 a	1.42	85.40 cd	0.46	76.89 c	0.68		
18	94.91 a	1.07	79.87 d	0.49				
21	95.17 a	1.84	79.86 d	1.03				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

Las guayabas analizadas presentan una disposición semejante con lo reportado por González Cárdenas (2010) quien indica que las medidas de color del epicarpio (cáscara) de diferentes variedades de guayaba durante su maduración presentan una tendencia de tonos verdes (estado de maduración fisiológica) a tonos amarillos en maduración de consumo. Mercado-Silva et al. (1998), observa que en frutos de guayaba cultivar “media china” cosechadas en primavera-verano y almacenadas por 7 días a 25 °C, la luminosidad era mayor conforme aumentaba el estado de maduración 51.6 – 77.7 en primavera – verano y 65.9 – 77.8 en otoño invierno y  $h_{ab}$  disminuía 116.3 – 95.2, y Suárez et al. (2009) reporta que el cambio de color en frutos de guayaba en estado de madurez fisiológico a temperatura de  $27 \pm 2$  °C fue más rápido y notorio, mientras que en condiciones de bajas temperaturas es más lento al retardarse el proceso de maduración.

## CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas de los frutos de guayaba (*Psidium guajava*) cultivar “media china” se ven afectadas por la temperatura de almacenamiento, influyendo en los atributos de calidad de la guayaba para consumo en fresco, por lo que de acuerdo con los resultados obtenidos se observa que el uso de bajas temperaturas de almacenamiento permite prolongar la



vida de anaquel de los frutos, dado que la conservación de guayabas a temperatura de 23 °C es máximo por 9 días con una firmeza de  $14.2 \pm 0.89$  N, concentración de sólidos solubles totales  $10.75 \pm 0.16$  °Brix y tonos de color hue =  $77.64 \pm 0.57$ , aumentando hasta 21 días a 6 y 12 °C donde se observa un retraso el cambio de color y en el proceso de maduración alargando su vida útil a 21 días, sin embargo, los frutos almacenados a 12 °C presentaron una mejor apariencia con colores más vivos ( $L = 62.35 \pm 0.66$ ), tendiendo a cambiar de tonos verde – amarillos a alcanzar colores más amarillos (hue =  $79.86 \pm 1.03$ ) y en la calidad un aumento en el contenido de sólidos solubles  $12.27 \pm 0.02$  °Brix relacionado con el sabor de los frutos.

### LITERATURA CITADA

- Artés Calero, F. (2003). Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. In A. López, A. Esnoz, & F. Artés (Eds.), *Avances en Ciencias y Técnicas del Frío -1* (pp. 299–310). UPCTySECYTEF.
- Azzolini, M., Jacomino, A. P., & Fillete, M. H. (2004). ESTUDIOS DE MATURAÇÃO E QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE GOIABAS. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26, 29–31.
- Barriga Téllez, L. M., Yahuaca Juárez, B., & Martínez Flores, H. E. (2008). Efecto del almacenamiento sobre algunas propiedades físico-químicas en frutos de guayaba (*Psidium guajava*). *Biológicas*, (10), 87–93.
- Bashir, H. A., Bark, A., & Goukh, A. (2003). Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 80, 557–563.
- Bohórquez Díaz, O. A. (2003). Guía para postcosecha y mercadeo de productos agrícolas. Retrieved June 24, 2017, from [https://books.google.es/books?id=W4bv8O7W2ecC&pg=PA16&lpg=PA16&dq=Guía+para+post+cosecha+y+mercadeo+de+productos+agrícolas&source=bl&ots=c03BBiFmj4&sig=evNY\\_h-29jBaS9zbdibyUBOg0h0&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwj0n9elv9rWAhUiCsAKHZwnCCYQ6AEIMDAC#v=onepag](https://books.google.es/books?id=W4bv8O7W2ecC&pg=PA16&lpg=PA16&dq=Guía+para+post+cosecha+y+mercadeo+de+productos+agrícolas&source=bl&ots=c03BBiFmj4&sig=evNY_h-29jBaS9zbdibyUBOg0h0&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwj0n9elv9rWAhUiCsAKHZwnCCYQ6AEIMDAC#v=onepag)
- García Betanzos, C. I. (2011). *Cambios en la concentración de polifenoles presentes en la guayaba (Psidium guajava) variedad Media China, recubierta con nanopartículas*

*lipídicas sólidas y almacenada en refrigeración*. Universidad Nacional Autónoma de México.

García M., C., Cury R., K., & Dussán S., S. (2012). Evaluación de atributos de calidad de guayaba fresca en diferentes condiciones de conservación. *Vitae*, 19(1), S105–S107. <http://doi.org/10.5944/educxx1.17.1.10708>

González, E., Padilla, S., Reyes, L., Perales de la Cruz, M., & Esquivel, F. (2002). *Guayaba su cultivo en Mexico*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro.

González Araiza, J. R. (2014). *Impedancia bio-eléctrica como técnica no destructiva para medir la firmeza de la fresa (Fragaria x ananassa Duch) y su relación con técnicas convencionales*. Universidad Politécnica de Valencia.

González Cárdenas, I. A. (2010). *Caracterización química del color de diferentes variedades de guayaba (Psidium guajava L.) colombiana*. Tesis. Universidad Nacional de Colombia.

Gutiérrez Devia, Á. A., Muñoz Flórez, J. E., Belalcázar Martínez, J. E., Ibarra Espinosa, D. M., Caicedo Arana, Á., & Caetano, C. M. (2014). Aplicación de la espectroscopia NIR para la predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba. *Acta Agronómica*, 64(2), 103–109.

Kader, A. A. (2002). Maturation and Maturity Indices. In *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (Third, pp. 1–535). UCANR Publications.

Kader, A. A. (2013). Postharvest Technology of Horticultural Crops. *Journal of Applied Sciences and Technology*, 1(1), 1–8.

Knee, M. (2002). *Fruit Quality and its Biological Basis* (First). Sheffield Academic Press Ltd.

Mercado Silva, E., Benito Bautista, P., & García Velasco, M. de los A. (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*, 13(2), 143–150. [http://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00003-9](http://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00003-9)

NMX-F-103-1982. (1982). Alimentos.Frutas y derivados. Determinación de grados Brix. Dirección General de Normas.

- Parra-Coronado, A. (2014). Maduración y comportamiento poscosecha de la guayaba ( *Psidium guajava* L .). Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(2), 314–327.
- Siddiq, M., Ahmed, J., Lobo, M. G., & Ozadali, F. (2012). *Tropical and Subtropical Fruits : Postharvest Physiology, Processing and Packaging*. John Wiley & Sons, Inc. <http://doi.org/10.1002/9781118324097>
- Solarte Cruz, M. E. (2013). *Aspectos ecofisiológicos y compuestos bioactivos de guayaba( Psidium guajava L.) en la provincia de Vélez, Santander-Colombia*. Universidad Nacional de Colombia.
- Suárez, J., Pérez de Camacaro, M., & Giménez, A. (2009). Efecto de la temperatura y estado de madurez sobre la calidad poscosecha de la fruta de guayaba (*Psidium guajava* L.) procedente de MERCABAR, estado lara, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(1), 60–69.
- Thumdee, S., Manenoi, A., & Paull, R. E. (2007). Activity of papaya fruit hydrolases during natural softening and modified softening. *Acta Horticulturae*, 740, 317–322. <http://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.740.39>

• **CAPÍTULO II Determinación de firmeza, sólidos solubles y color mediante esparcimiento de luz láser en frutos de *Psidium guajava* L.**

Adriana Padilla Tena <sup>a\*</sup>, Berenice Yahuaca Juárez, Jorge A. Huerta Ruelas, Consuelo de J.-Cortés Penagos, Javier Ponce Saavedra, Rafael Salgado Garciglia

<sup>a</sup> Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Químico Farmacobiología  
Tzintzuntzan 173, 58240 Michoacán, México.

**RESUMEN**

La firmeza, contenido de sólidos solubles totales y el color externo de los frutos de guayaba son parámetros relacionados con la calidad. En esta investigación se evaluó la capacidad del esparcimiento de luz láser para predecir el estado de maduración frutos de guayaba mediante los parámetros fisicoquímicos de calidad. Los patrones del esparcimiento de la luz en la superficie obtenidos por una longitud de 650 nm se generaron de guayabas cv. “media china” almacenadas bajo diferentes temperaturas (6, 12, 18 y 23 °C) observándose un incremento dependiente de la temperatura. A 12 °C se dieron las mejores predicciones de firmeza con  $R_{SEC}^2 = 0.53$  (RMSECV = 12.43 N), contenido de sólidos solubles totales  $R_{SEC}^2 = 0.41$  (RMSECV = 0.88 °Brix), luminosidad  $R_{SEC}^2 = 0.68$  (RMSECV = 5.74), croma  $R_{SEC}^2 = 0.69$  (RMSECV = 2.77) y hue  $R_{SEC}^2 = 0.87$  (RMSECV = 4.42). La técnica de esparcimiento es prometedora para predecir el color externo de los frutos y realizar una clasificación, así como proporcionar una aproximación respecto a la firmeza y el contenido sólidos solubles.

**Palabras claves:** guayaba, esparcimiento de luz, técnica no destructiva.

**ABSTRACT**

The firmness, content of total soluble solids and the external color of the guava fruits are parameters related to quality. In this research, the ability of the laser light scattering to predict the state of ripeness of guava fruits was evaluated by the physicochemical parameters of quality. The scattering patterns of light on the surface obtained by 650 nm were generated from guavas cv. "media china", these were stored under different temperatures (6, 12, 18 and 23 °C) observing an increase dependent on the temperature. At 12 °C the best firmness predictions were

given with  $R_{SEC}^2 = 0.53$  ( $r = 0.73$  and  $RMSECV = 12.43$  N), total soluble solids content  $R_{SEC}^2 = 0.41$  ( $r = 0.64$  and  $RMSECV = 0.88$  ° Brix), luminosity  $R_{SEC}^2 = 0.68$  ( $r = 0.82$  and  $RMSECV = 5.74$ ), chroma  $R_{SEC}^2 = 0.69$  ( $r = 0.83$  and  $RMSECV = 2.77$ ) and hue  $R_{SEC}^2 = 0.87$  ( $r = 0.93$  and  $RMSECV = 4.42$ ). The laser light scattering technique is promising to predict the external color of the fruits and to make a classification, as well as to provide an approximation regarding the firmness and the soluble solids content.

**Keywords:** guava, light scattering, non-destructive technique.

## INTRODUCCIÓN

La calidad de los frutos es definida como una combinación de propiedades sensoriales, valores nutritivos, componentes químicos, propiedades mecánicas y funcionales y daños o defectos que determinan la idoneidad de los frutos para ser consumidos en fresco o para su óptimo almacenamiento. Los atributos de calidad externa son los índices de calidad sensorial más importantes, que pueden ser evaluados visiblemente de acuerdo a sus propiedades físicas, como tamaño, forma, firmeza, color y defectos superficiales (Costa et al., 2011; Zhang et al., 2014). Por otro lado, las características intrínsecas o lo referente al a calidad interna, no son visibles, pero son los atributos más importantes que pueden ser evaluados de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas no percibidas, como contenido de azúcar y sólidos solubles totales, firmeza, acidez y antioxidantes (Lorente et al., 2012).

Los frutos de acuerdo con sus propiedades ópticas son considerados como turbios u opacos, en donde al hacer pasar un haz de luz, esta sufrirá un esparcimiento múltiple en diferentes direcciones antes de que sea absorbida o emerja a la superficie mediante reflexión. Los tejidos vegetales están compuestos principalmente por epidermis, sistemas vasculares y células, las cuales son las unidades básicas estructurales que llevan a cabo diferentes funciones biológicas y difieren en su tamaño, provocando que la absorción y el esparcimiento de luz sea diferente.

El esparcimiento de luz se encuentra estrechamente relacionado con la refracción, reflexión y absorción de luz en una interfaz entre dos medios o provocado por partículas en el medio. Existen dos tipos de reflexión: la reflexión especular o de Fresnel, la cual se da en superficies de materiales ópticamente homogéneos o transparentes (acabado espejo), en donde la luz al

impactar sobre la superficie, los rayos serán reflejados con un ángulo igual al ángulo de incidencia. Por otro lado, la reflexión difusa, se experimenta cuando la radiación incide sobre una superficie rugosa en donde una pequeña fracción de la luz será reflejada especularmente, pero una fracción mayor será reflejada en diferentes ángulos y la luz restante será transmitida o experimentará refracción. En ambas reflexiones la luz que logra ingresar al medio del es absorbida o esparcida en diferentes direcciones resurgiendo al área incidente o área vecina en forma de reflexión difusa o emergiendo del lado opuesto del medio a lo que se llama transmisión

El esparcimiento de luz ocurre por las variaciones del índice de refracción lo que produce un cambio de dirección en la propagación de la luz y se ve afectado directamente por la densidad y tamaño de las partículas, la composición química y las estructuras celulares del material biológico.

En este trabajo se evaluó la reflexión difusa mediante la técnica de esparcimiento de luz láser, para predecir el estado de maduración frutos de guayaba cv. “media china” mediante los parámetros fisicoquímicos de firmeza, sólidos solubles totales y los parámetros de color.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron frutos de guayaba cv. “media china” de pulpa color blanca-amarilla, diámetro longitudinal aproximado 5.5 – 6.5 cm, diámetro ecuatorial aproximado 4.5 – 5 cm y peso 65-85 g, los cuales fueron obtenidos en la Central de Abastos de la ciudad de Morelia, Michoacán, México y trasladados al laboratorio de Biotecnología “M.C. Víctor M. Rodríguez Alcocer” de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Los frutos se clasificaron tomando en consideración dos parámetros, color y firmeza. El color se asoció al estado de maduración fisiológica (color verde) y fue determinado visualmente y la firmeza por medio de un ensayo de resistencia a la compresión a 1mm de distancia de compresión (Figura 4).



Figura 4 Guayaba cultivar "Media china" estado de maduración fisiológica

Los frutos se almacenaron en cámaras frigoríficas bajo las siguientes condicionantes de temperatura: T1= 6 °C, T2= 12 °C, T3= 18 °C y T4= 23 °C.

### **Caracterización fisicoquímica de frutos de guayaba**

Se realizó la caracterización fisicoquímica del fruto de guayaba como se describe en Padilla, A. et al. (en preparación) correspondiente al capítulo I de este trabajo, para evaluar los parámetros de firmeza, sólidos solubles y color del externo del epicarpio de los frutos.

### **Determinación de parámetros ópticos**

La determinación de los parámetros ópticos se realizó mediante la técnica de esparcimiento de luz láser. En la Figura 5 se presenta el diagrama general del sistema óptico, en la parte superior se encuentra la fuente de luz que consiste en un diodo láser (modelo VLM-635002-LPA1 (Clase III A; Quarton Inc.) de un rango de operación de longitud de onda de 650 nm, el cual incide sobre los frutos de guayaba en un ángulo de 40 ° respecto a la normal.

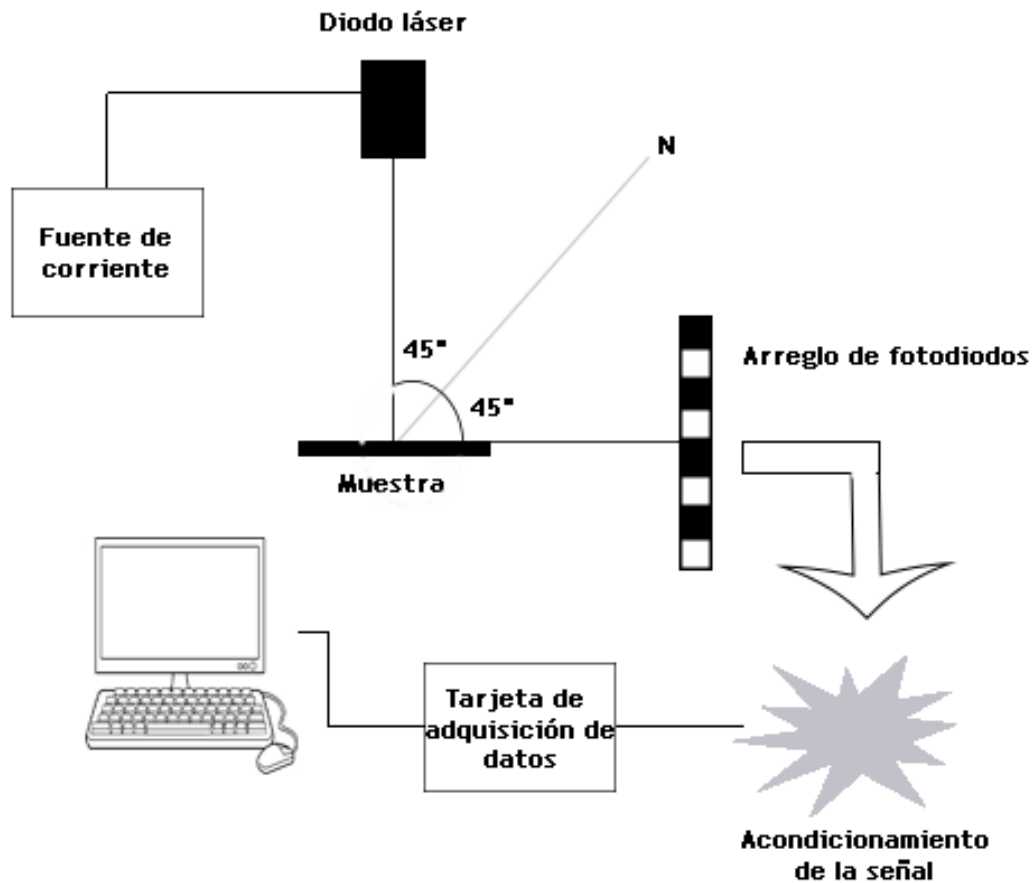


Figura 5 Diagrama de configuración del equipo óptico para la medición del espaciamiento de luz

Para detectar la intensidad de luz láser esparcida se utilizó como sensor un arreglo de fotodiodos compuesto de 16 fotodiodos de silicio (modelo BPW-34 OSRAM) de 5mm, con una sensibilidad en un rango espectral de 400 -1100 nm en donde la longitud de onda de máxima sensibilidad es de 850 nm y un área fotosensible de 7.02 mm<sup>2</sup> acomodados en forma de ojo (Figura 6), donde los fotodiodos centrales detectan la intensidad de luz en la posición angular en que se transmite la radiación, permitiendo que la radiación detectada sea la máxima y esta disminuye conforme se aleja el fotodiodo de la posición central.



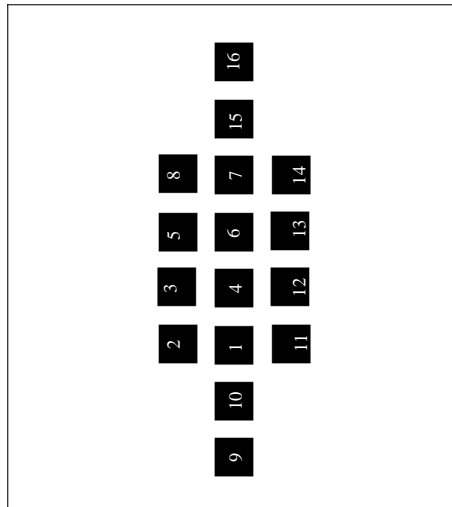


Figura 6 Distribución del arreglo de fotodiodos

Con el uso de un multiplexor se selecciona la señal de cada fotodiodo y es transferida a su acondicionamiento, el cual se lleva a cabo mediante una tarjeta Arduino mega 2560 para posteriormente ser transmitida a una computadora. El procesamiento de datos se realizó mediante el software de Labview, donde cada 100 ms se tomó una lectura para el arreglo de fotodiodos y se formó un vector de los 16 componentes cada 60 s. Como parámetro que permite cuantificar el efecto de esparcimiento producido por la composición de la estructura interna se utilizó la varianza ( $S$ ) de la distribución normal a la que se aproxima el patrón de esparcimiento. Un segundo parámetro utilizado es el esparcimiento parcialmente integrado (PIS), que se calculó a partir de la sumatoria de las intensidades detectadas por cada uno de los fotodiodos del arreglo.

Los equipos fueron colocados dentro de enfriadores utilizando iguales condiciones de distancias como se muestra en la Figura 7.

La caracterización óptica consistió en dos ensayos experimentales al igual que la evaluación fisicoquímica, en donde se analizó un mismo fruto en el mismo punto de incidencia durante el almacenamiento por un periodo de 45 min en donde se registraron 45 mediciones. El equipo óptico se encendía durante el periodo de análisis dejándolo calentar durante 1 hora para estabilizar la emisión del láser.

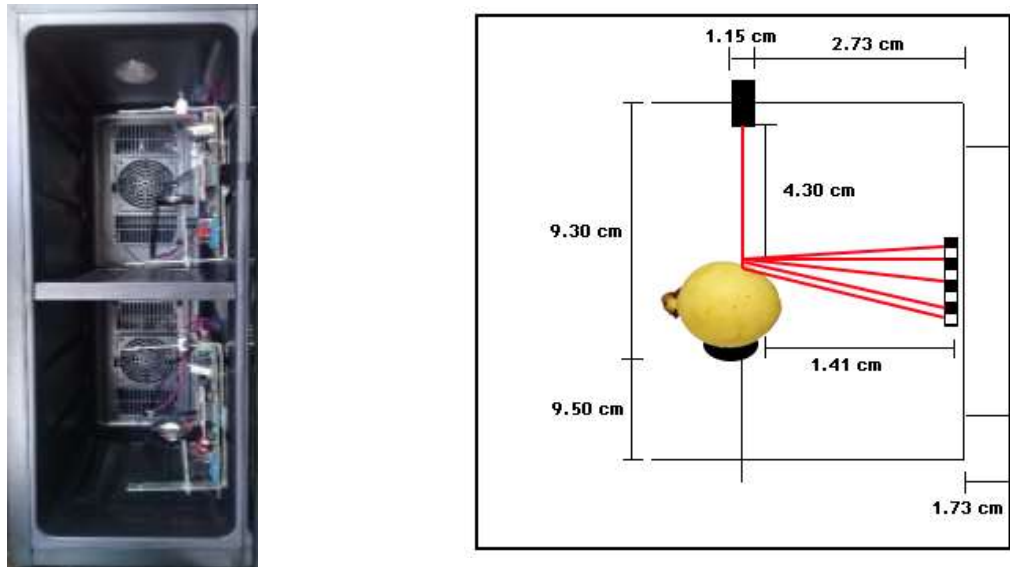


Figura 7 Organización y distribución de equipos ópticos

### Análisis estadístico

Se realizó por medio de un modelo de regresión lineal de mínimos cuadrados parciales (PLS), usando validación cruzada para la evaluación de los 4 diferentes experimentos, según condiciones de almacenamiento a 6 °C, 12 °C, 18 °C y 23 °C respectivamente. Las variables respuesta (y) fueron los parámetros fisicoquímicos (firmeza, SST y coordenadas de color) y la variable independiente la intensidad de luz esparcida detectada por los 16 fotodiodos. Para la obtención de los resultados estadísticos se utilizó el Software The Unscrambler X 10.5 (CAMO Software AS, Norway).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados del análisis de los parámetros fisicoquímicos se describen en los cuadros 6, 7, 8, 9 y 10 en donde se muestran las tendencias de firmeza, contenido de sólidos solubles totales y parámetros de color en frutos de guayaba (*Psidium guajava*) cv. “media china” la cual fue conservada bajo diferentes condiciones de temperatura postcosecha. Se observó que la temperatura óptima de almacenamiento es de 12 °C, en donde el fruto prolonga su vida de anaquel hasta 21 días, así como conserva sus propiedades de calidad en firmeza, sólidos solubles y color del epicarpio sin sufrir daños por frío según lo descrito por Padilla et al. (en preparación).

Cuadro 6 Cambios en la firmeza de frutos de guayaba en postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Día								
0	87.2 a	9.32	78.7 a	10.7	81.5 a	4.27	80.8 a	2.44
3	56.7 b	3.77	46.3 b	4.5	37.0 b	2.94	28.4 b	2.86
6	38.6 bc	1.86	36.2 bc	6.8	20.5 c	1.74	17.2 c	1.57
9	38.3 bc	3.41	19.6 cd	2.9	18.2 c	2.04	14.2 c	0.89
12	29.3 bc	3.91	19.2 cd	2.9	17.1 c	1.86		
15	37.7 c	2.69	15.1 cd	3.6	11.1 c	1.32		
18	27.5 c	2.95	12.1 d	1.9				
21	20.0 c	3.62	9.8 d	0.9				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

Cuadro 7 Evolución de sólidos solubles totales de frutos de guayaba en postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Día								
0	9.77 a	0.29	10.03 a	0.22	9.67 a	0.29	9.90 a	0.32
3	9.70 a	0.28	10.72 ab	0.28	10.30 ab	0.18	10.32 a	0.20
6	10.47 ab	0.16	11.03 ab	0.39	10.73 ab	0.24	10.72 a	0.29
9	10.03 abc	0.35	11.45 ab	0.68	11.60 b	0.56	10.75 a	0.16
12	11.10 abc	0.06	11.70 ab	0.48	10.60 ab	0.29		
15	11.53 cb	0.18	11.77 ab	0.37	11.25 b	0.32		
18	11.47 c	0.18	11.67 ab	0.26				
21	11.60 c	0.47	12.27 b	0.12				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

Cuadro 8 Cambios en la luminosidad de frutos de guayaba en postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Día								
0	50.10 a	4.43	47.96 a	1.38	61.64 a	1.20	59.15 a	1.02
3	50.88 a	4.78	48.58 a	2.52	64.52 a	2.02	65.27 b	1.81
6	48.54 a	2.96	49.47 ab	2.94	62.93 a	1.57	64.71 b	1.05
9	52.92 a	1.94	58.60 bc	2.12	65.30 a	1.73	64.36 b	0.70
12	53.60 a	1.73	61.36 c	2.36	66.94 a	0.76		
15	53.21 a	2.61	62.77 c	2.22	61.12 a	2.08		
18	52.84 a	1.09	62.79 c	1.17				
21	58.43 a	6.14	62.35 c	0.66				

Cuadro 9 Evolución de croma en frutos de guayaba almacenada bajo diferentes condiciones postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Día								
0	22.47 a	1.80	22.77 a	0.75	27.50 a	0.51	26.75 a	0.36
3	23.32 a	1.90	23.66 a	1.42	29.28 a	0.78	29.96 ab	0.91
6	22.51 a	1.04	23.95 a	1.59	28.08 a	0.80	29.13 ab	0.61
9	25.01 a	0.76	28.59 b	0.91	30.68 a	1.88	28.41 b	0.39
12	25.22 a	0.73	30.19 b	0.96	29.43 a	0.57		
15	24.44 a	0.56	29.96 b	0.45	26.92 a	0.66		
18	24.84 a	0.64	30.66 b	0.35				
21	25.05 a	1.13	30.96 b	0.41				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

Cuadro 10 Cambios matiz de color Hue de frutos de guayaba en postcosecha

Temperatura	6 °C		12 °C		18 °C		23 °C	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Día								
0	103.28 a	4.04	107.71 a	0.56	94.28 a	1.70	95.80 a	1.35
3	105.44 a	3.36	105.01 a	2.19	87.71 b	2.11	84.56 b	1.45
6	101.06 a	3.37	102.00 a	2.55	80.77 c	0.86	78.68 c	0.50
9	100.25 a	2.82	92.73 b	2.11	80.01 c	0.43	77.64 c	0.57
12	100.03 a	1.63	87.88 bc	1.52	80.11 c	0.52		
15	100.16 a	1.42	85.40 cd	0.46	76.89 c	0.68		
18	94.91 a	1.07	79.87 d	0.49				
21	95.17 a	1.84	79.86 d	1.03				

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )

EE = error estándar de la media

### **Análisis de datos ópticos**

En el Cuadro 11 se observan los resultados obtenidos del esparcimiento parcialmente integrado (PIS) en la caracterización óptica para los cuatro tratamientos de almacenamiento. Para facilitar el análisis se normalizaron los datos del esparcimiento parcialmente integrado (PIS) dividiendo entre el valor inicial para las diferentes temperaturas de almacenamiento (Figura 8), donde se nota un incremento en el esparcimiento cuando la temperatura aumenta.

Cuadro 11 Datos del esparcimiento parcialmente integrado (PIS)

Fase experimental	Temperatura	Esparcimiento parcialmente integrado PIS							
		Tiempo (días)							
		0	3	6	9	12	15	18	21
No. 1	6 °C	169.91	53.64	65.70	82.96	208.94	107.50	96.11	99.49
	12 °C	205.30	220.35	225.29	219.64	233.80	207.22	200.49	215.91
	18 °C	201.45	210.10	230.02	218.26	180.56	229.26		
	23 °C	301.32	394.08	340.27	215.77				
No. 2	6 °C	121.93	127.89	114.05	87.43	88.80	105.53	121.54	100.82
	12 °C	198.61	214.10	228.16	195.91	201.54	201.08	181.65	193.49
	18 °C	192.08	194.34	195.38	192.65	189.88	200.39		
	23 °C	473.86	497.44	480.68	473.58				

A 23 °C se muestra un aumento conforme avanza el proceso de maduración hasta el día 3, a 18 °C al día 9 con una tendencia a disminuir dado que la reflexión difusa está relacionada con la rugosidad del epicarpio y el esparcimiento ocasionado por la estructura intra e intercelular de los tejidos de los frutos, siendo la estructura celular del tejido en estado de maduración fisiológica compacta con espacios intercelulares muy pequeños que hacen que la luz sea esparcida y reflejada dentro de un área pequeña la cual aumenta al experimentar hidrólisis de almidones y pectinas, que influye en la degradación de las paredes celulares y el debilitamiento de las fuerzas cohesivas que mantienen la unión entre células durante su madurez y posteriormente decrece probablemente porque el fruto empieza su proceso de senescencia en donde existe pérdida de volumen y reestructuración celular (Arias, 2000; Tu et al., 2000). En relación con 6 °C no existe tendencia probablemente por la baja temperatura que según lo analizado por Padilla et al. (en preparación) correspondiente al Capítulo I de dicha investigación la cual causa daño por frío a los frutos afectando sus propiedades fisicoquímicas durante la maduración.

En la Figura 8 se observa que la temperatura de almacenamiento si está relacionada con el esparcimiento de luz, dado que a menores temperaturas el esparcimiento disminuye en comparación con temperaturas más elevadas.

Se muestra que a 12 °C el esparcimiento detectado se mantiene estable lo que demuestra que es la temperatura más adecuada para la de conservación de los frutos de guayaba, como lo descrito por Padilla et. al. (en preparación) y Kader (2013) quien señala que la temperatura óptima de almacenamiento para guayaba es de 8 – 12 °C con un tiempo de vida postcosecha de 2 - 3 semanas.

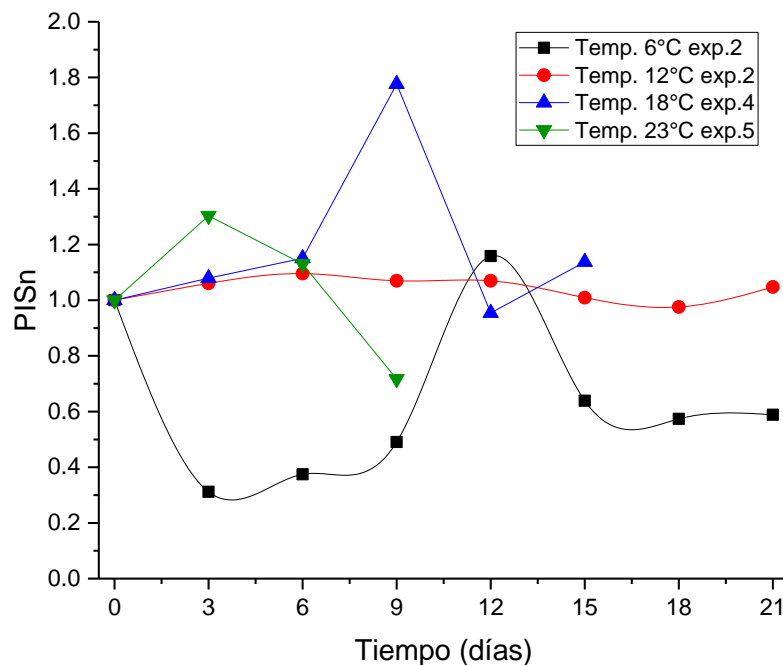


Figura 8 Esparcimiento parcialmente integrado PIS para las diferentes temperaturas de almacenamiento

En la Figura 9 se pueden observar los patrones de esparcimiento obtenidos por los 16 detectores para las temperaturas de 6, 12 y 18 °C donde es posible visualizar el comportamiento de cada fotodiodo conforme el almacenamiento postcosecha de los frutos, así como el aumento en el esparcimiento.

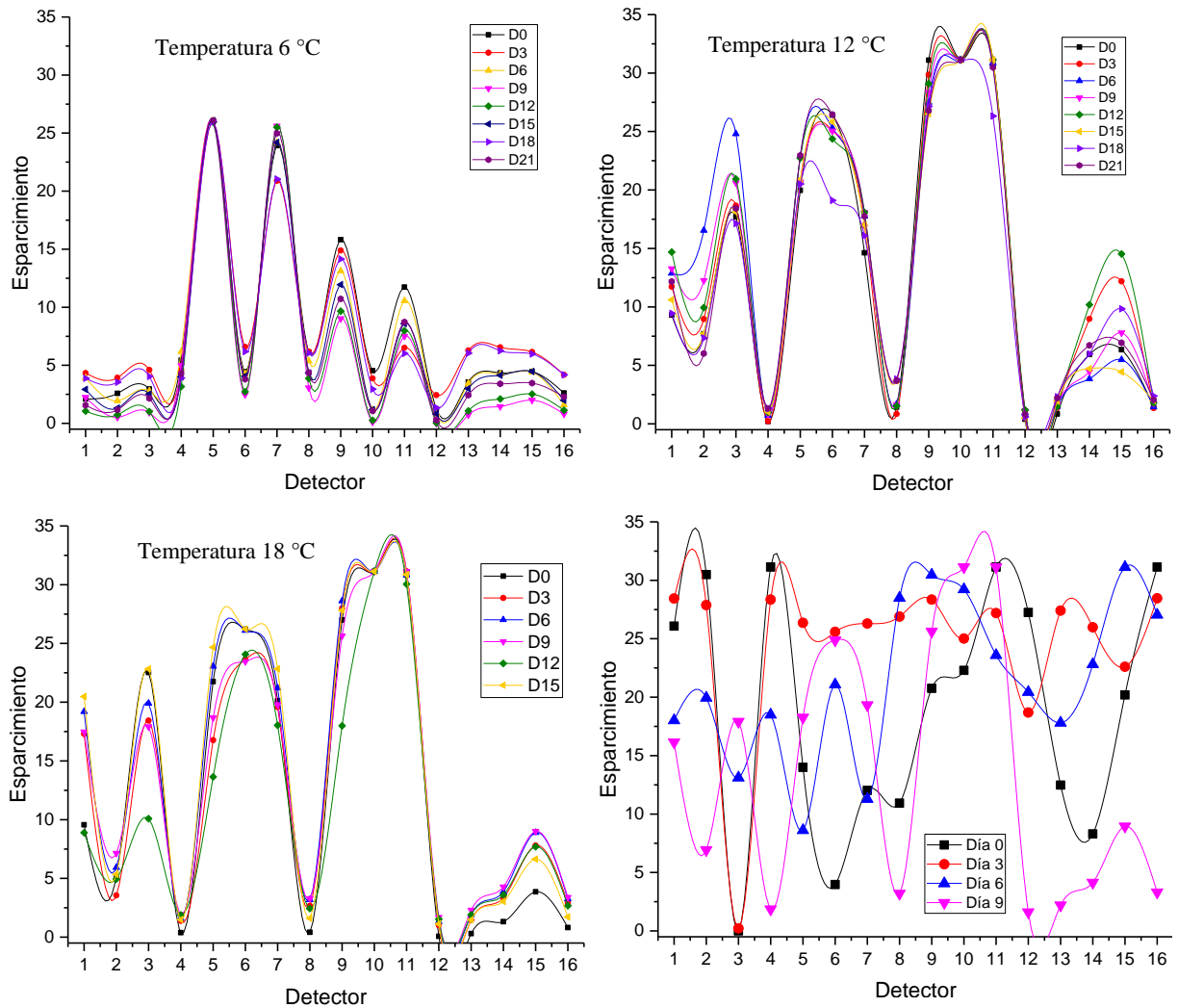


Figura 9 Patrones de escarcimiento para diferentes temperaturas postcosecha

En el Anexo 1 se presentan los resultados obtenidos de la varianza del escarcimiento detectado por cada uno de los fotodiodos en frutos de guayaba almacenados bajo diferentes condiciones postcosecha.

A pesar de que se presentan variaciones en la señal de medida del escarcimiento pudiéndose relacionar a la muestra utilizada, su proceso de maduración, los equipos empleados para medir el escarcimiento a 12, 18 y 23 °C tienen la capacidad de reproducibilidad (Figura 10) al entregar información similar en el comportamiento del escarcimiento para diferentes muestras medidas, en diferentes periodos almacenadas bajo mismas condiciones con un tiempo de estabilización

del equipo de 1 hora, sin embargo, el utilizado a 6 °C no mostró esa reproducibilidad probablemente a la baja temperatura utilizada, el comportamiento de maduración de los frutos o del equipo.

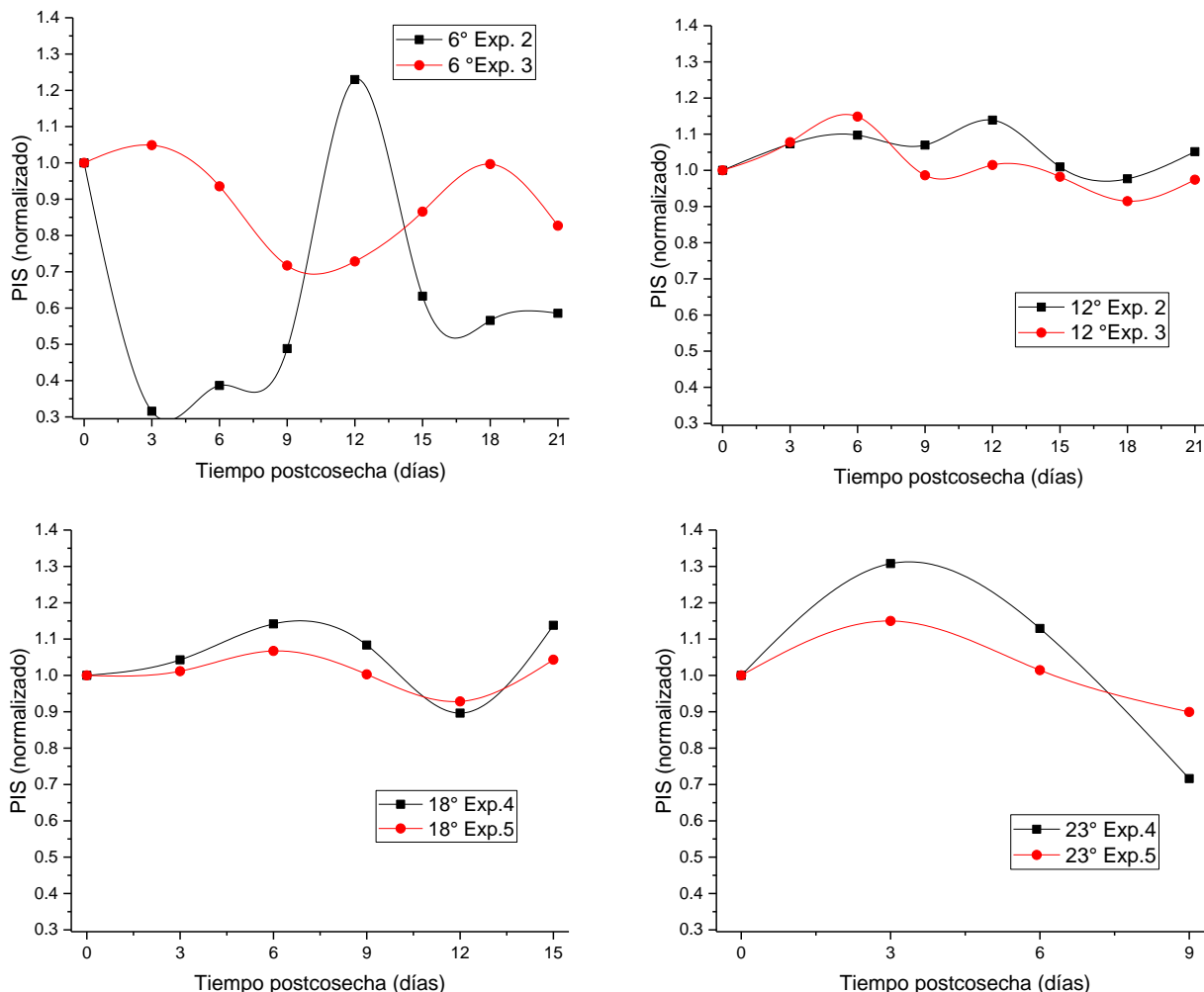


Figura 10 Esparcimiento parcialmente integrado de dos fases experimentales a 6, 12, 18 y 23 °C

### Predicción de firmeza

Las correlaciones entre firmeza y el esparcimiento de luz se muestran en el Cuadro 12 para las diferentes temperaturas de almacenamiento. En este conjunto de datos se observa que la firmeza de la fruta fresca estuvo moderadamente correlacionada ( $0.5 < r < 0.8$ ) con el esparcimiento de luz láser en la temperatura de 12 °C con un coeficiente de correlación de calibración de  $r = 0.73$



(RMSEC = 9.0 N) y validación de  $r = 0.66$  (RMSECV = 12.43 N) usando 4 factores que no conduce a un sobreajuste siendo el modelo válido para predecir firmeza en frutos de guayaba.

Cuadro 12 Regresión de mínimos cuadrados parciales para la predicción de la firmeza en guayaba

Temperatura	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
			RMSEC	$R_{SEC}^2$	r	RMSECV	$R_{SECV}^2$	r
6 °C	48	6	9.78	0.46	0.68*	13.30	0.38	0.62*
12 °C	48	4	9.00	0.53	0.73*	12.43	0.43	0.66*
18 °C	36	6	9.68	0.52	0.72*	13.73	0.37	0.61*
23 °C	12	6	13.47	0.49	0.70*	16.04	0.37	0.61*

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
 RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
 $R_{SEC}^2$  = coeficiente de determinación para calibración  
 $R_{SECV}^2$  = coeficiente de determinación para validación cruzada  
 Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
 r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

De acuerdo con la literatura no se encontraron trabajos relacionados con esta técnica para predecir la calidad en frutos, sin embargo se realizó la comparación con otras técnicas no destructivas que utilizan el esparcimiento de luz pero analizado por imágenes, Tu et al. (2000) quienes estudiaron la calidad en jitomates relacionando imágenes obtenidas por esparcimiento, utilizando un láser diodo de 670 nm, con la firmeza obtenida mediante compresión mostrando una correlación  $R^2 = 0.61$  ( $r = 0.78$ ) y Lu and Peng (2006) indicaron la posibilidad de usar la luz retroesparcida con 11 longitudes de onda (625, 645, 661, 671, 674, 677, 947, 957, 976, 980, 996 nm) abarcando las bandas de absorción de la clorofila y agua para clasificar los frutos de durazno de acuerdo a su firmeza con un coeficiente de correlación  $r = 0.76$  ( $R^2 = 0.58$ , SECV = 19.1 N).

Cabe destacar que el cambio en firmeza y la degradación de clorofila son eventos fisiológicos que tienen relación entre ellos, sin embargo, no depende uno del otro, pero se asocia a que al degradarse la clorofila se denota una disminución en la firmeza lo cual no quiere decir que la clorofila sea la responsable del ablandamiento del fruto. Por lo que Valero Ubierna, (2001) indica que en cualquier técnica óptica aplicada a frutos en el que se incluya la región visible existe la probabilidad de que las medidas evaluadas pueden estar correlacionándose con el nivel de pigmentos de los tejidos, en lugar de los parámetros que el investigador analiza otorgando valores indirectos o erróneos. Para evitar este efecto se propone utilizar longitudes de onda

correspondientes a la región del infrarrojo cercano para la estimación de los parámetros fisicoquímicos.

### **Evaluación de sólidos solubles totales**

Los modelos de calibración para el contenido de sólidos solubles totales fueron desarrollados utilizando la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) basadas en las lecturas obtenidas por técnicas destructivas y los parámetros de dispersión del arreglo de fotodiodos (Anexo II).

Los parámetros de sólidos solubles tuvieron una correlación moderada ( $0.5 < r < 0.8$ ) con el esparcimiento de luz láser en la calibración de  $r = 0.58 - 0.64$  (RMSEC  $0.72 - 0.79$  °Brix) y validación  $r = 0.30 - 0.62$  (RMSECV  $0.85 - 0.95$  °Brix). En comparación con la literatura las correlaciones fueron bajas con lo obtenido por Qing et al. (2007) quienes predijeron el contenido de sólidos solubles en manzanas utilizando imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz láser con  $r = 0.80 - 0.85$  con errores estándar de calibración  $SEC = 0.59 - 0.82$  °Brix y validación  $SECV = 0.69 - 0.95$  °Brix.

Cuadro 13 Modelo de calibración para el contenido de sólidos solubles en guayabas

Temperatura	Modelo	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
				RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	r	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	r
6 °C	PLS	48	3	0.79	0.34	0.58*	0.89	0.16	0.40*
12 °C	PLS	48	2	0.76	0.41	0.64*	0.88	0.39	0.62*
18 °C	PLS	36	2	0.76	0.39	0.62*	0.95	0.09	0.30*
23 °C	PLS	12	4	0.72	0.39	0.62*	0.85	0.35	0.59*

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
 RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
 R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para calibración  
 R<sub>SECV</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para validación cruzada  
 Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
 r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

Lo anterior se puede relacionar a la longitud de onda utilizada la cual se encuentra en mayor relación con la absorción de los pigmentos, dado que las bandas de absorción del contenido de agua y carbohidratos se encuentran en la región del infrarrojo cercano, fundamentalmente en las longitudes de onda 760 nm y 970 nm (Nicolai et al., 2007), 840 y 962 nm (Saranwong et al., 2004). Así como se pueden observar bandas de absorción en la región del infrarrojo cercano

vinculados al contenido de carbohidratos 1200 nm y 1440 nm (Flores Rojas, 2009) y 1180 y 1460 nm (Lu et al., 2000).

### **Predicción del color externo en frutos de guayaba**

Si bien la técnica utilizada como tradicional para evaluar el color externo de los frutos es una técnica no destructiva se realizó la correlación con el esparcimiento de luz para verificar si la correlación obtenida con la firmeza era realmente debida a la firmeza del fruto o se originaba por la cantidad de clorofila y carotenoides presentes dado que la longitud de onda utilizada se encuentra relacionada con la banda de absorción de la clorofila. En los cuadros 14, 15 y 16 se observan las correlaciones.

La temperatura de 12 °C como lo antes mencionado es la temperatura que presenta una correlación mayor ( $r > 0.8$ ) con los datos ópticos obtenidos mediante el esparcimiento de luz láser a 650 nm para el tono (hue) en la calibración ( $r = 0.93$ ; RMSEC = 3.89) y para la validación ( $r = 0.88$ ; RMSECV = 4.42), para la saturación o croma ( $r = 0.83$  y RMSEC = 2.19) y en la validación ( $r = 0.73$ ; RMSECV = 2.77) esto es posible dado que en la evaluación fisicoquímica con determinación de color triestímulo los frutos bajo estas condiciones de temperatura durante su almacenamiento postcosecha presentaron una mayor luminosidad, colores más vivos y cambios en el tono de la cáscara de las frutas a medida que maduran, cambiando de tonos verdosos a amarillos.

Cuadro 14 Resultados de la calibración y validación cruzada mediante PLS para determinar la luminosidad en guayaba

Temperatura	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
			RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	r	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	r
6 °C	48	2	6.19	0.47	0.69	6.83	0.35	0.59
12 °C	48	7	4.60	0.68	0.82	5.74	0.50	0.71
18 °C	36	3	6.54	0.54	0.73	6.52	0.44	0.66
23 °C	12	2	2.07	0.66	0.81	2.49	0.55	0.74

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
 RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
 R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para calibración  
 R<sub>SECV</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para validación cruzada  
 Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
 r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

Cuadro 15 Análisis estadístico de calibración y validación para la predicción de croma

Temperatura	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
			RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	r	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	r
6 °C	48	2	1.80	0.60	0.77	2.05	0.48	0.49
12 °C	48	7	2.19	0.69	0.83	2.77	0.54	0.73
18 °C	36	2	1.75	0.55	0.74	1.56	0.44	0.67
23 °C	12	2	1.79	0.57	0.75	1.41	0.46	0.68

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para calibración  
R<sub>SECV</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para validación cruzada  
Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

Cuadro 16 Análisis de mínimos cuadrados parciales para predecir el tono (hue) en guayabas

Temperatura	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
			RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	r	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	r
6 °C	48	2	3.97	0.67	0.82	5.44	0.59	0.77
12 °C	48	7	3.89	0.87	0.93	4.42	0.78	0.88
18 °C	36	7	2.81	0.81	0.90	4.13	0.63	0.79
23 °C	12	2	3.72	0.76	0.87	4.18	0.75	0.87

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para calibración  
R<sub>SECV</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para validación cruzada  
Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

Con los resultados obtenidos podemos decir que el esparcimiento de luz láser a 650 nm es útil para proporcionar una aproximación del color externo de los frutos de guayaba, para su clasificación y cuantificación de pigmentos, requiriendo el uso de diferentes longitudes para poder predecir la firmeza.

## CONCLUSIONES

El equipo de esparcimiento es un instrumento prometedor para la evaluación en línea no destructiva de bajo costo, análisis sencillo, reproducible con una alta capacidad de funcionamiento bajo diferentes condiciones de temperatura.

Los resultados muestran que el esparcimiento de luz láser usando una longitud de onda de 650 nm se puede implementar como una técnica no destructiva que permite la clasificación de los frutos mediante su color externo, así como una aproximación en la cuantificación de firmeza y contenido de sólidos solubles totales en guayaba cv. “media china” almacenada a 12 °C requiriendo el uso de diferentes longitudes para una mayor precisión de predicción.

### LITERATURA CITADA

- Costa, F., Cappellin, L., ... Gasperi, F. (2011). Assessment of apple (*Malus domestica* Borkh.) fruit texture by a combined acoustic-mechanical profiling strategy. *Postharvest Biology and Technology*, 61(1), 21–28. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.02.006>
- Flores Rojas, K. U. (2009). *Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano*. Universidad de Córdoba.
- Kader, A. A. (2013). Postharvest Technology of Horticultural Crops. *Journal of Applied Sciences and Technology*, 1(1), 1–8.
- Lorente, D., Aleixos, N., Gómez-Sanchis, J., Cubero, S., García-Navarrete, O. L., & Blasco, J. (2012). Recent Advances and Applications of Hyperspectral Imaging for Fruit and Vegetable Quality Assessment. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1121–1142. <http://doi.org/10.1007/s11947-011-0725-1>
- Lu, R., Guyer, D. E., & Beaudry, R. M. (2000). Determination of Firmness and Sugar Content of Apples Using Near-Infrared Diffuse Reflectance. *Journal of Texture Studies*, 31(6), 615–630. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2000.tb01024.x>
- Lu, R., & Peng, Y. (2006). Hyperspectral scattering for assessing peach fruit firmness. *Biosystems Engineering*, 93(2), 161–171. <http://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2005.11.004>
- Nicolaï, B., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K., & Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 46, 99–118. Retrieved from

<http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>

- Qing, Z., Ji, B., & Zude, M. (2007). Predicting soluble solid content and firmness in apple fruit by means of laser light backscattering image analysis. *Journal of Food Engineering*, 82, 58–67. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.016>
- Saranwong, S., Sornsrivichai, J., & Kawano, S. (2004). Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2), 137–145. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.007>
- Tu, K., Jancsó, P., Nicolai, B., & De Baerdemaeker, J. (2000). Use of laser-scattering imaging to study tomato-fruit quality in relation to acoustic and compression measurements. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(5), 503–510. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00407.x>
- Valero Ubierna, C. (2001). *Aplicación de la espectroscopía láser de reflectancia difusa (ERDT) a la Medida de Calidad Interna de Frutas y Hortalizas*. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid.
- Zhang, B., Li, J., Fan, S., Huang, W., Zhang, C., Wang, Q., & Xiao, G. (2014). Principles and Applications of Hyperspectral Imaging Technique in Quality and Safety Inspection of Fruits and Vegetables. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 34(10), 2743–2751. [http://doi.org/10.3964/j.issn.1000-0593\(2014\)10-2743-09](http://doi.org/10.3964/j.issn.1000-0593(2014)10-2743-09)

- **CAPÍTULO III Determinación de firmeza y sólidos solubles totales mediante el análisis de imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz en frutos de guayaba**

Adriana Padilla Tena <sup>a\*</sup>, Ángel I. Negueruela Suberviola, Berenice Yahuaca Juárez, Victoria-Lafuente Rosales, Jorge A. Huerta Ruelas

<sup>a</sup> Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Químico Farmacobiología  
Tzintzuntzan 173, 58240 Michoacán, México

## **RESUMEN**

Se evaluó las imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz con respecto a su potencial para el análisis del contenido de sólidos solubles y la determinación de firmeza. Las imágenes de retroesparcimiento de luz láser de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) variedad “guayaba limón” se generaron con cuatro longitudes de onda de luz láser (670, 785, 850 y 905 nm) utilizando un sistema óptico equipado con una cámara monocromática CCD (Charge Couple Device). Para el análisis estadístico se utilizó un modelo lineal de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) y métodos de validación cruzada para predecir la firmeza y los sólidos solubles totales. El PLS mostró una mejor predicción mediante la combinación de los láseres 785, 850 y 905 nm, con un coeficiente de determinación de validación  $r = 0.71$  y un error cuadrático de validación  $RMSECV = 11.33$  N para la firmeza obtenida mediante la dureza aplicando el análisis de perfil de textura (TPA), y para el contenido de sólidos solubles totales  $r = 0.50$  y un error cuadrático de validación  $RMSECV = 1.45$  °Brix.

**Palabras claves:** guayaba, técnica no destructiva, imágenes, retroesparcimiento

## **ABSTRACT**

The laser light backscattering images technique was evaluated with respect to its potential for the analysis of the attributes of firmness quality and total soluble solids. The images of light backscattering of guava fruits (*Psidium guajava* L.) cv. “guayaba limón” are generated with four wavelengths of laser light (670, 785, 850 y 905 nm) using an optical system equipped with a monochromatic camera CCD (Charge Couple Device). It was used a linear model of partial least squares regression (PLS) and cross validation methods to predict firmness and total soluble

solids. The PLS showed a better prediction combining the lasers 785, 850 y 905 nm with a correlation coefficient in the validation  $r = 0.71$  and a root mean squared error of validation  $RMSECV = 11.33$  N for firmness obtained by hardness applying the texture profile analysis (TPA) and for the content of total soluble solids  $r = 0.50$  with a root mean squared error of validation  $RMSECV = 1.45$  ° Brix.

**Keywords:** guava, non-destructive technique, images, backscattering

## INTRODUCCIÓN

La calidad es un parámetro importante en la industria alimentaria ya que de ello depende la aceptabilidad de los frutos en el mercado, a razón de que los consumidores exigen cualidades sensoriales específicas en los frutos destacando entre ellas la firmeza, el contenido de sólidos solubles, la acidez, entre otros (Knee, 2002).

Tradicionalmente en México el estado de madurez de los frutos se determina manualmente y visualmente en base a su tamaño, color y defectos; sin embargo, la calidad interna como firmeza, sólidos solubles totales y acidez son atributos ocultos importantes para determinar su estado de maduración (Knee, 2002). Generalmente la determinación de dichos parámetros se realiza mediante métodos que se basan en análisis físicos y químicos, los cuales requieren de la destrucción de los frutos, invirtiendo un mayor tiempo de análisis, aumento en costos y no se monitorean todas las muestras. De ahí que el sector agrícola requiera de nuevos métodos no invasivos, que no requieran de una gran inversión de tiempo para la preparación de muestras para su análisis y que sean precisos y económicos; de tal forma que los productos expuestos en el mercado reúnan las características de calidad necesarias para aumentar la aceptación y satisfacción del consumidor, así como mejorar la competitividad de la industria (Cortés et al., 2014; Victoria; Lafuente, 2013; Lu, 2007).

La firmeza de un fruto está relacionada con las propiedades de textura que permiten determinar su estado de madurez, calidad y tiempo óptimo de cosecha; la firmeza puede determinarse mediante un panel sensorial u objetivamente con pruebas mecánicas como pruebas de penetración, compresión y cizallamiento; por otro lado, los sólidos solubles totales forman parte de los factores que determinan el sabor de los frutos de guayaba.



Diversos autores han desarrollado trabajos enfocados a la determinación no destructiva de parámetros de calidad en frutos frescos basados en propiedades ópticas. Qing et al. (2007) realizaron la predicción del contenido de sólidos solubles y firmeza en manzana mediante el uso de imágenes de retroesparcimiento de luz láser, Lu (2004) aplicó la técnica óptica de imágenes multiespectrales para predecir la firmeza y sólidos solubles totales en frutos de manzana, así como Lleó et al. (2011) hizo una comparación entre los índices multiespectrales para determinar el estado de maduración en durazno. Estos métodos son una combinación de un sistema de iluminación el cual puede ser frontal, retroiluminación o estructurada para la adquisición de imágenes que evalúen la calidad de los frutos, además de requerirse de un equipo de cómputo que permita visualizar y realizar el tratamiento de las imágenes para su análisis (Du and Sun, 2006).

En este trabajo se tuvo como objetivo evaluar la técnica de imágenes de retroesparcimiento de luz láser, para la clasificación por estado de madurez de frutos de guayaba limón y la predicción de su calidad interna correlacionando los parámetros ópticos con los fisicoquímicos de firmeza y sólidos solubles totales.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron frutos de guayaba (*Psidium guajava*) variedad “guayaba limón”, los cuales son frutos con forma periforme con pulpa color amarillenta, procedentes de una explotación comercial “Huerta la Tropical”, situada en la localidad de Motril, Málaga, España. Fueron transportados a la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, España. Las guayabas utilizadas se encontraban en dos estados de maduración: maduración fisiológica (color verde) y maduración de consumo (color amarillo) (Figura 11).

Se llevaron a cabo dos fases experimentales, en la primera se examinaron un total de 70 frutos y en la segunda 72 frutos, para obtener las imágenes de retroesparcimiento y parámetros fisicoquímicos de cada fruto se analizaron durante los días 0, 2, 6, 9, 13, 16 y 20 por triplicado.

Para el análisis se usaron guayabas conservadas en dos temperaturas para aumentar la variación de las muestras.

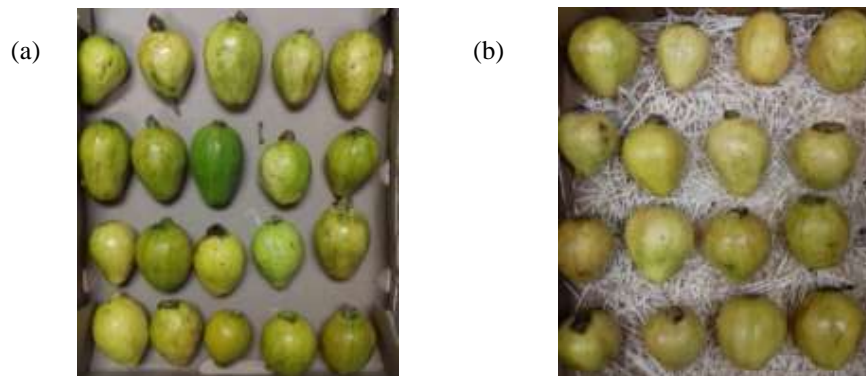


Figura 11 Frutos de guayaba variedad "guayaba limón" en estado de maduración fisiológica (a) y maduración de consumo (b)

## **Parámetros fisicoquímicos**

### **Determinación de firmeza**

Se midió haciendo uso de un Texturómetro TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Godalming, UK) equipado con una sonda de fuerza máxima de 5 kgf. Se llevaron a cabo las siguientes pruebas:

#### *1. Ensayo de resistencia a la penetración*

La penetración se realizó en 3 puntos del fruto con una profundidad de penetración de 15 mm. con el uso de una sonda cilíndrica P/2 2mm Ø de acero inoxidable, a una velocidad de desplazamiento de 1 mm/s, el resultado se reflejó en Newtons.

#### *2. Análisis de Perfil de Textura (TPA)*

Es el análisis que imita las condiciones a las que se somete el material durante el proceso de masticación, el cual implica que se deba comprimir el producto por lo menos dos veces y cuantificar los parámetros mecánicos de las curvas de fuerza–deformación (dureza, adhesividad, cohesividad y elasticidad).

El análisis se llevó a cabo mediante cilindros de un mismo diámetro 1 cm y longitud de 2.5 cm tomados del fruto, los cuales fueron expuestos a una compresión doble usando una sonda cilíndrica P/20 20mm Ø de acero inoxidable con una deformación del 25 %.

### **Cuantificación de sólidos solubles totales (SST)**

El fruto completo incluyendo semillas fue cortado en trozos y triturado mediante un extractor de zumo LI-240 Sammic de acero inoxidable. La determinación de los sólidos fue mediante un refractómetro digital SMART-1 con un rango de 0.00 a 95.00 % y con una exactitud de  $\pm 0.05\%$ ; previamente se calibró con agua destilada y posteriormente del zumo obtenido se tomaron 2 gotas de muestra, las cuales se colocaron sobre el lente del refractómetro para su cuantificación, obteniendo los resultados en °Brix. El análisis se realizó por triplicado.

### **Determinación de las propiedades ópticas**

Las imágenes de retroesparcimiento se obtuvieron mediante un sistema óptico equipado con una cámara monocromática CCD (Charge Coupled Device: Dispositivo de Carga Acoplado) y 4 fuentes de iluminación de luz láser con diferentes longitudes de onda (Figura 12).

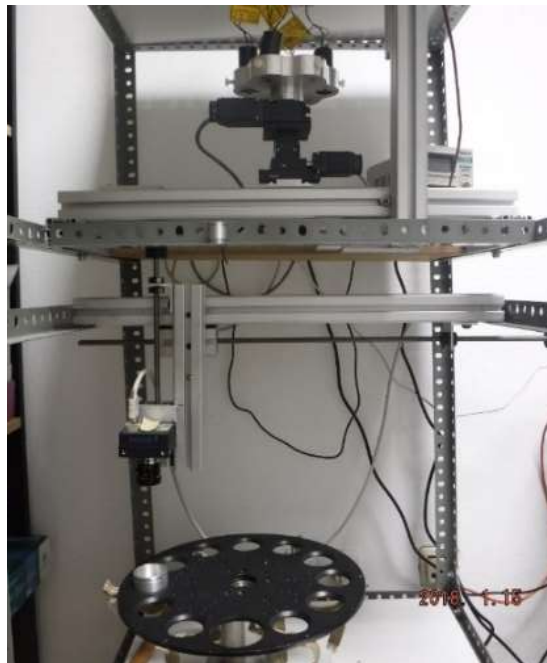


Figura 12 Equipo utilizado para la captura de imágenes de retroesparcimiento de la luz

## Adquisición de imágenes de retroesparcimiento de luz láser

Las muestras se colocaron en un dispositivo que permite obtener el retroesparcimiento mediante reflexión difusa en un área de 25 mm de diámetro. El ángulo de incidencia del láser fue de  $15^\circ$  con la normal y la distancia de la cámara al fruto fue de 14 cm como se muestra en la Figura 13.

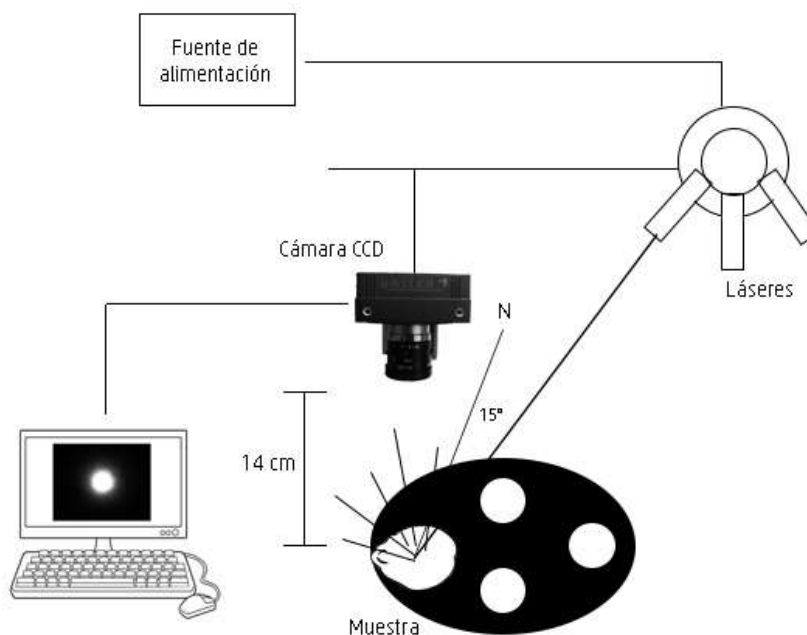


Figura 13 Equipo de obtención de imágenes de retroesparcimiento

Para automatizar el proceso de medida usando un controlador optomécánico Standa Greenlight acoplado al ordenador (puerto USB) se dirigieron el sistema de láseres y la cámara para que las medidas fueran en el punto indicado sin existir desplazamientos mientras fueran capturadas las imágenes.

Como fuente de iluminación, se utilizaron cuatro diodos láseres colimados (Power Technology Inc. Alexander, USA), con longitudes de onda de 670, 785, 850 y 905 nm respectivamente, con una potencia de salida de 3 mW. El retroesparcimiento de la luz que proveniente del fruto fue registrada en imágenes monocromáticas de 8 bits utilizando como detector una cámara CCD BASLER modelo A310f (Germany) sensible al Vis-NIR (400 - 1000 nm) que adquiere una imagen en forma de matriz de dos dimensiones (x,y) mediante condensadores enlazados o acoplados (fotosensores) de tamaño 782 (H) x 582 (V) píxeles. Cada una de las imágenes fue

tomada en una habitación sin luz, a temperatura ambiente de 20 °C y fueron analizadas con el programa de tratamiento de imágenes Matrox 8.0 (Matrox Electronic Systems Ltd.).

### Segmentación de las imágenes de retroesparcimiento

De las imágenes obtenidas (Figura 14) se calculó el histograma (Figura 15) que clasifica los píxeles de las imágenes en función del nivel de saturación de gris, el cual varía de oscuro (0) a blanco (255), mediante el software Matrox 8.0 (Matrox Electronic Systems Ltd.).



Figura 14 Imagen de retroesparcimiento de luz láser

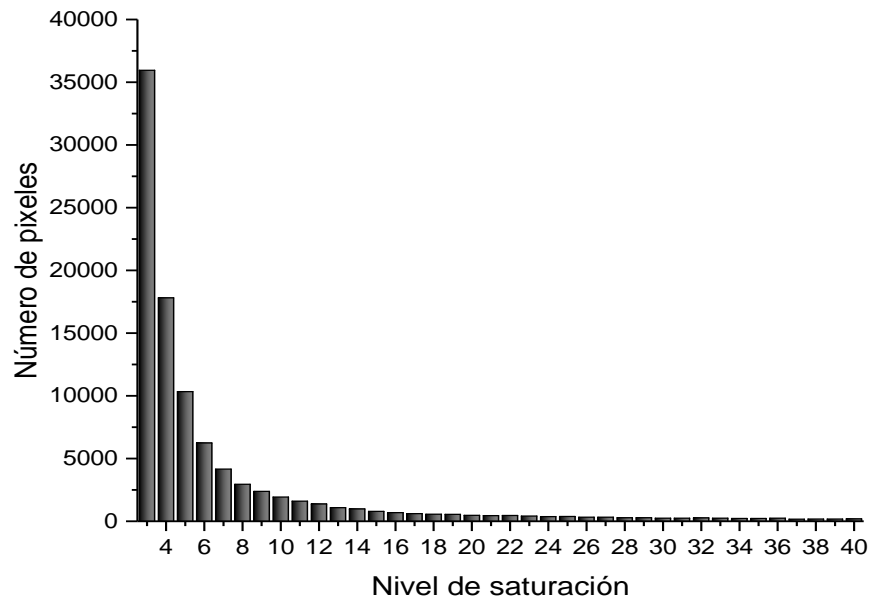


Figura 15 Histograma de píxeles de imagen de retroesparcimiento

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el Software The Unscrambler X 10.5 (CAMO Software AS, Norway). Se aplicó un análisis quimiométrico utilizando un pretratamiento utilizando un análisis de componentes principales (PCA), para determinar las variables que proporcionan información y observar posibles agrupaciones; mientras que para la obtención de los modelos de calibración se utilizó el método de regresión lineal de mínimos cuadrados parciales (PLS), usando validación cruzada para la evaluación, en donde el conjunto de datos se dividió en dos grupos, un 70 % de los datos para la calibración y 30 % para la validación con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ . Para valorar la capacidad predictiva de los modelos obtenidos, se utilizó el coeficiente de correlación de la validación ( $r$ ) que representa la proporción de la correlación de la variable dependiente (Y) respecto a la variable respuesta en la calibración. Para obtener un buen modelo, el coeficiente de correlación debe ser lo más alto posible, cercano a 1 (Chen et al., 2011) y la raíz del error cuadrático medio de la validación cruzada (RMSECV) conocida como la desviación estándar, cuan menor sea el valor del RMSECV mejor será el modelo. (Ecuación 3)

$$RMSEC = \sqrt{\frac{1}{I_c - 1} \sum_{i=1}^{I_c} (\hat{y}_i - y_i)^2} \qquad RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{np} (\hat{y}_i - y_i)^2}{I_p - 1}}$$

$I_c$  = número de observaciones en la calibración

$I_p$  = número de observaciones en la validación

$\hat{y}_i$  = valor de predicción

$y_i$  = valor medido

Para determinar si el valor obtenido de los coeficientes de correlación  $r$  son significantes y demostrar que las variables X y Y están relacionadas en realidad o si solo presentan dicha relación como consecuencia del azar se aplicó la prueba de t Student para contraste de hipótesis (Anexo 1).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los cuadros 17 y 18, se presentan los valores medios y la desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos de firmeza y sólidos solubles totales de los frutos de guayaba para ambas fases experimentales.

Cuadro 17 Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos primera fase experimental (n=70)

Tiempo (días)	Firmeza (N)		Sólidos Solubles Totales (°Brix)	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
0	23.7	1.70	13.2	0.25
2	22.6	2.44	11.4	0.31
6	19.5	1.53	12.0	0.37
9	14.8	1.59	11.8	0.30
13	19.6	2.33	11.2	0.41
16	21.1	3.34	13.5	0.47
20	16.5	2.14	11.4	0.76

Cuadro 18 Evolución de los parámetros fisicoquímicos segunda fase experimental (n=72)

Tiempo (días)	Firmeza pulpa (N)		Dureza (N)		Sólidos Solubles Totales (°Brix)	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
0	1.43	0.30	19.19	5.23	10.9	0.28
2	1.56	0.38	20.45	4.88	11.4	0.40
6	1.37	0.16	19.00	3.71	11.2	0.33
9	1.13	0.15	9.95	3.01	11.3	0.29
13	1.31	0.21	12.56	3.09	10.7	0.33
20	0.97	0.19	4.29	1.00	11.1	0.28

En la primera fase (Figura 16), se observó que con el proceso de maduración los frutos no siguen la tendencia lineal característica en donde la firmeza disminuye provocando un ablandamiento en la fruta, lo que pudo deberse a la variación en el tamaño de los frutos.

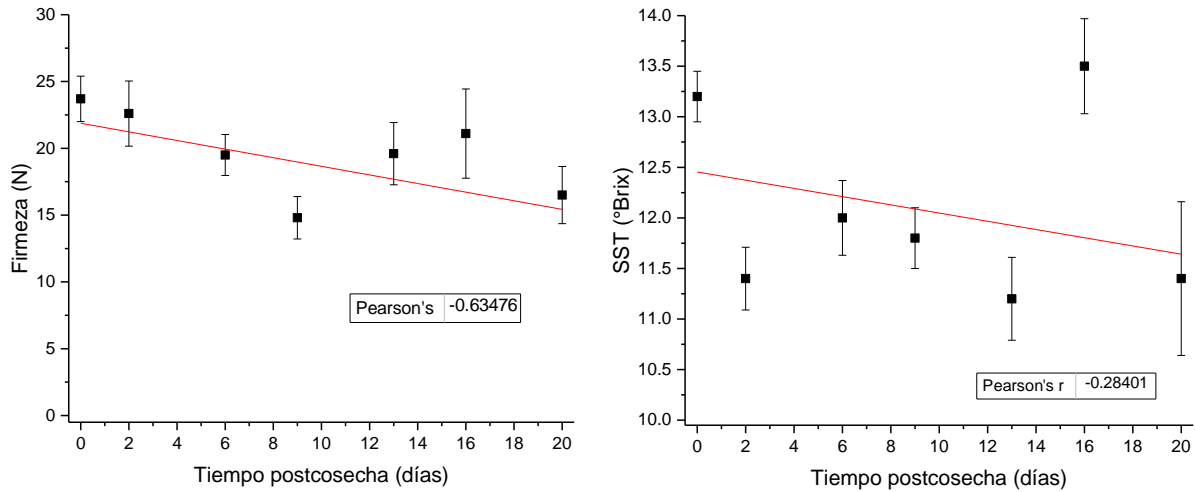


Figura 16 Evolución de la firmeza y sólidos solubles totales en el en frutos de guayaba (primera fase experimental)

Tomando en consideración lo anterior, en la segunda fase experimental se realizó una modificación en la determinación de la firmeza en donde se implementó el ensayo de resistencia a la penetración en cuatro puntos diferentes sobre la zona ecuatorial del fruto y el análisis de perfil de textura (TPA) utilizando el parámetro de dureza, se observó una mejor tendencia de maduración (Figura 17); por otra parte la concentración de sólidos solubles no mostraron un aumento postcosecha por la degradación hidrolítica de polisacáridos como el almidón, la celulosa y la pectina en azúcares simples (glucosa, fructosa y sacarosa) debido probablemente a la actividad de las enzimas hidrolasas (Nath et al., 2014), lo cual puede asociarse con daños por frío causados por la temperatura de almacenamiento, con la variedad de fruto utilizada así como a las condiciones agroclimáticas de cosecha.



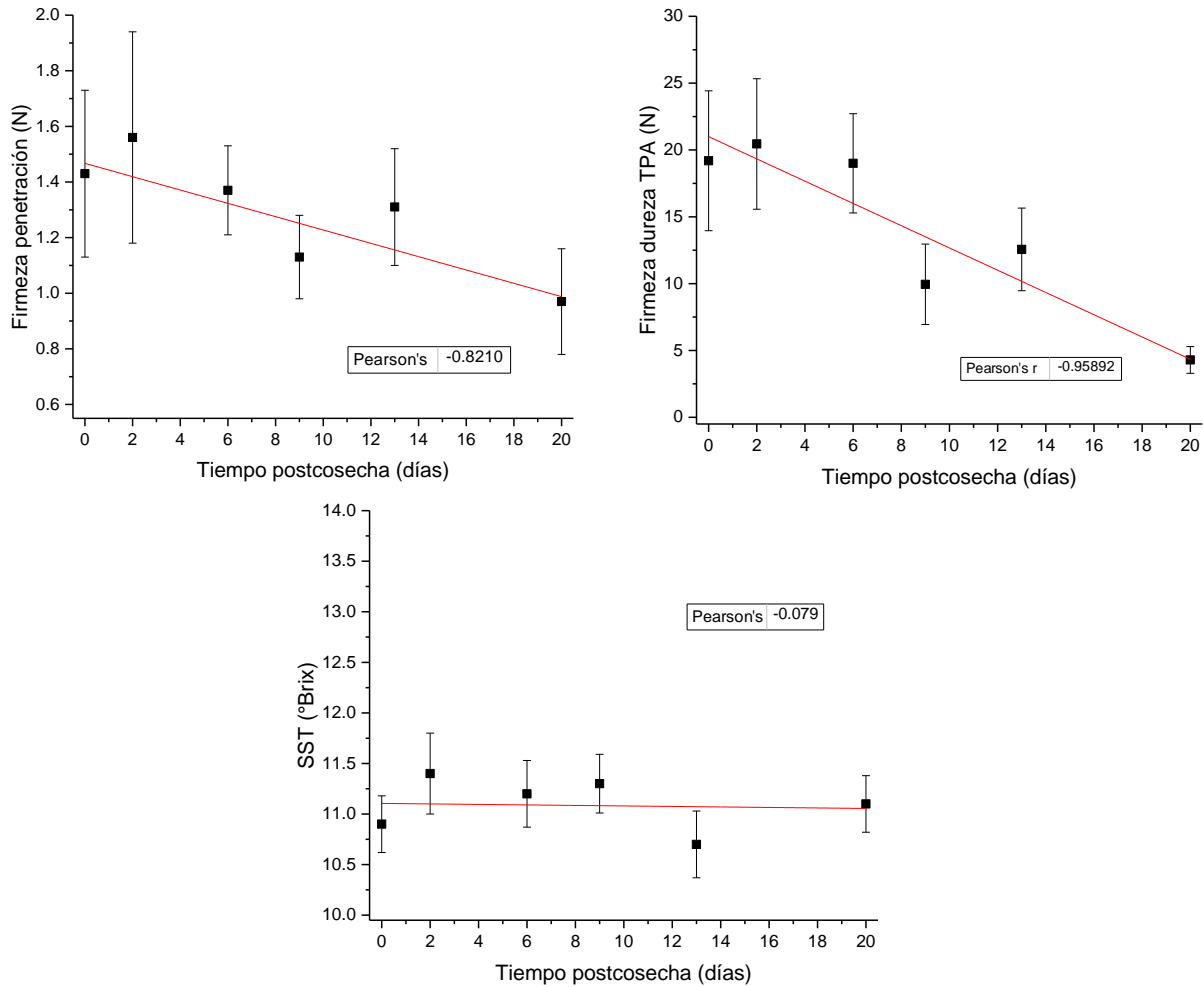


Figura 17 Comportamiento postcosecha de frutos guayaba limón (segunda fase experimental)

### **Imágenes capturadas por retroesparcimiento de luz láser**

En la Figura 18 se presenta una de las imágenes obtenidas por el retroesparcimiento de luz láser con cuatro longitudes utilizadas para dos estados de maduración, en las cuales se observa que el láser 1 (670 nm) presenta una menor reflexión de luz, esto puede deberse a que las longitudes de onda alrededor de 400-700 nm se encuentran estrechamente relacionadas con la absorción de luz de diferentes pigmentos como clorofila y carotenoides propios del fruto, aproximadamente entre 680 - 700 nm se encuentra la banda de absorción de la clorofila, la absorción de luz por parte de la clorofila disminuye durante el proceso de maduración del fruto, como consecuencia de la degradación de la clorofila durante la maduración del fruto se hacen presentes otros pigmentos como los carotenoides; por otra parte el esparcimiento de luz también se relaciona

con la densidad, estructura celular y matrices intracelulares del tejido del fruto (Lleó et al., 2011; Lu, 2004; Xue and Yang, 2009), de tal modo que frutos en maduración fisiológica presentan una estructura compacta con espacios intracelulares pequeños haciendo que la luz dispersada y reflejada se concentre en un área pequeña, mientras que los frutos en un estado de madurez avanzada contienen mayor cantidad de fluidos debido a la degradación de la pectina y variación del contenido de agua, haciendo que existan mayores espacios intracelulares y por tanto la luz reflejada sea mayor.

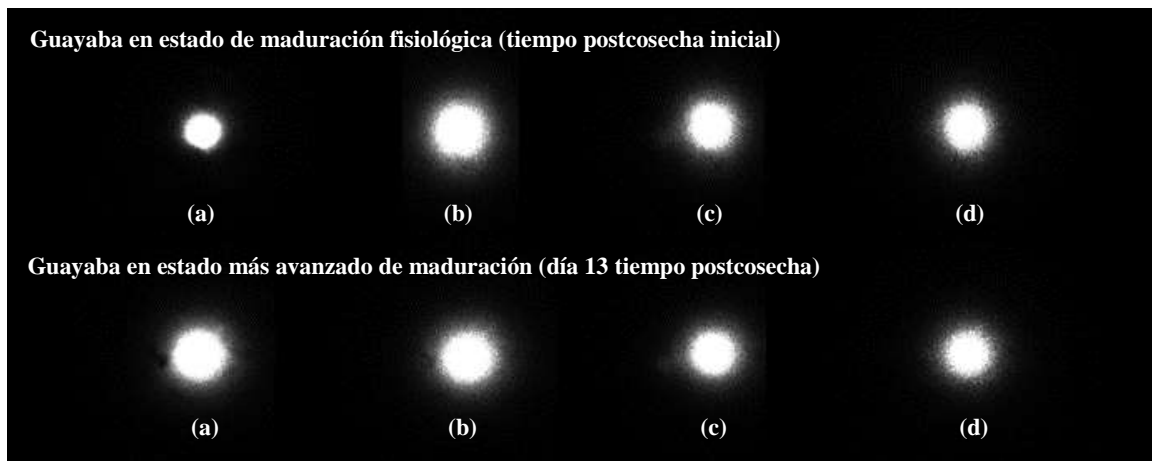


Figura 18 Imágenes de luz retroesparcida de los 4 láseres utilizados (a) 670 nm, (b) 785 nm, (c) 850 nm y (d) 905nm en dos frutos con diferente estado de madurez

### **Histogramas**

En la Figura 19 se muestra un ejemplo de histograma para los dos estados de madurez de frutos de guayaba con los diferentes láseres utilizados. Observándose que en frutos con un proceso de maduración menor (estado fisiológico) el número de píxeles es mayor en tonos oscuros los cuales disminuyen a tonos más claros cuando presentan una maduración más avanzada. Para el caso del láser 1 (670 nm) se produce una menor reflexión de la luz lo cual se atribuye al contenido de clorofila en los frutos, a medida que esta avanza en la maduración los píxeles en niveles de gris aumentan. Así como para el láser 2 (785 nm) que conforme aumenta la maduración aumenta el retroesparcimiento de luz observándose en un incremento en la reflexión

que se relaciona con los cambios que experimentan los frutos en su estructura debido a la hidrólisis de la pectina y a la modificación del contenido de agua (Victoria Lafuente et al., 2013).

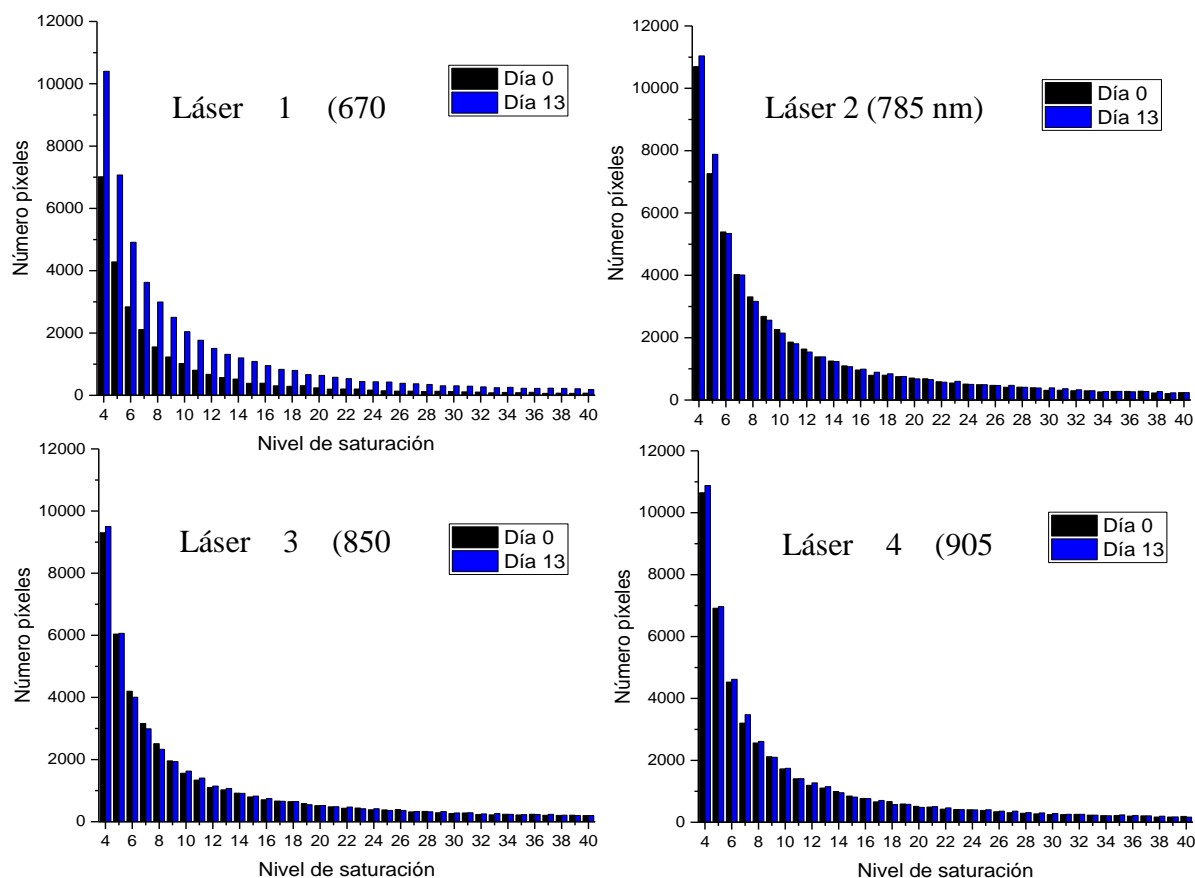


Figura 19 Histograma de las imágenes de retroesparcimiento de cada uno de los 4 láseres de frutos de guayaba en dos estados de maduración (a) color negro frutos en estado de maduración fisiológica y (b) color azul frutos estado de más avanzado de madurez con 13 días de almacenamiento

### Análisis de Componentes Principales

De acuerdo con los resultados del análisis de componentes principales (PCA) para reducir en lo posible la dimensión de la matriz y detectar posibles agrupamientos, se observó que utilizando el histograma de saturación completo de 0 - 255 (negro - blanco) en la matriz de coeficientes (loadings) para el láser 1 el primer componente principal PC-1 proporciona una varianza explicada del 83 – 85 % separando a los pixeles oscuros de los más claros, las variables de acuerdo con el nivel de saturación que presentan mayor influencia se encuentran en el rango

de 7 – 255 pero al ser sus pesos muy similares se toma el rango de los valores más oscuros 0 - 6, eliminando los valores de 0 y 1 debido al ruido de fondo (Figura 20).

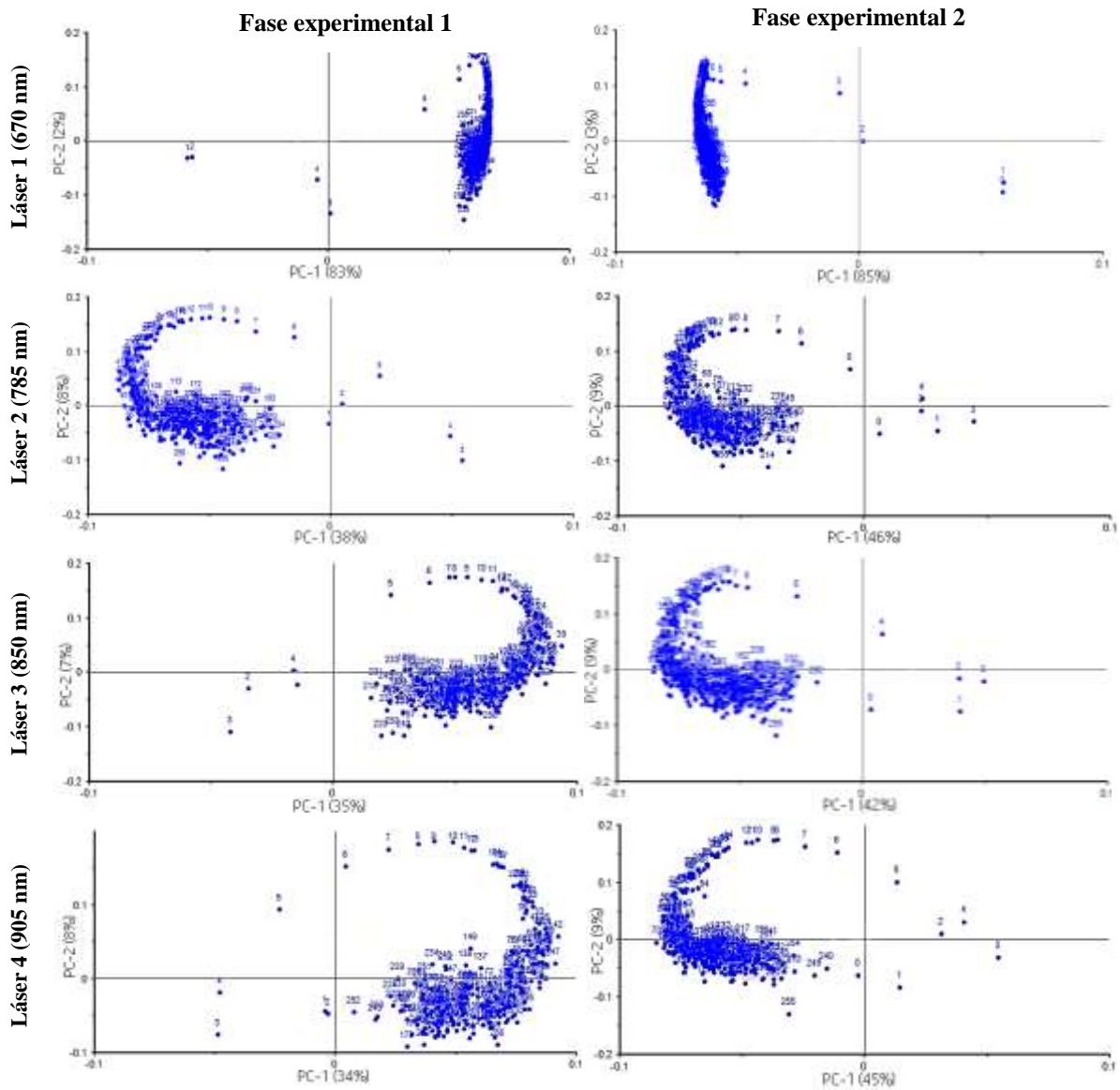


Figura 20 Análisis de componentes principales para los cuatro láseres en ambas fases experimentales: Eje x (porcentaje varianza explicada del primer componente principal) y eje y (porcentaje varianza explicada segundo componente principal)

Hay que mencionar que el PCA presenta incertidumbre en el signo, es decir, no lo tiene en cuenta en el cálculo y sólo se encarga de encontrar la variación máxima en los datos. Es por ello que en alguna componente como el caso del láser 1, 3 y 4 sale invertida y la correlación es negativa. Por ello el coeficiente de correlación se toma como valor absoluto.

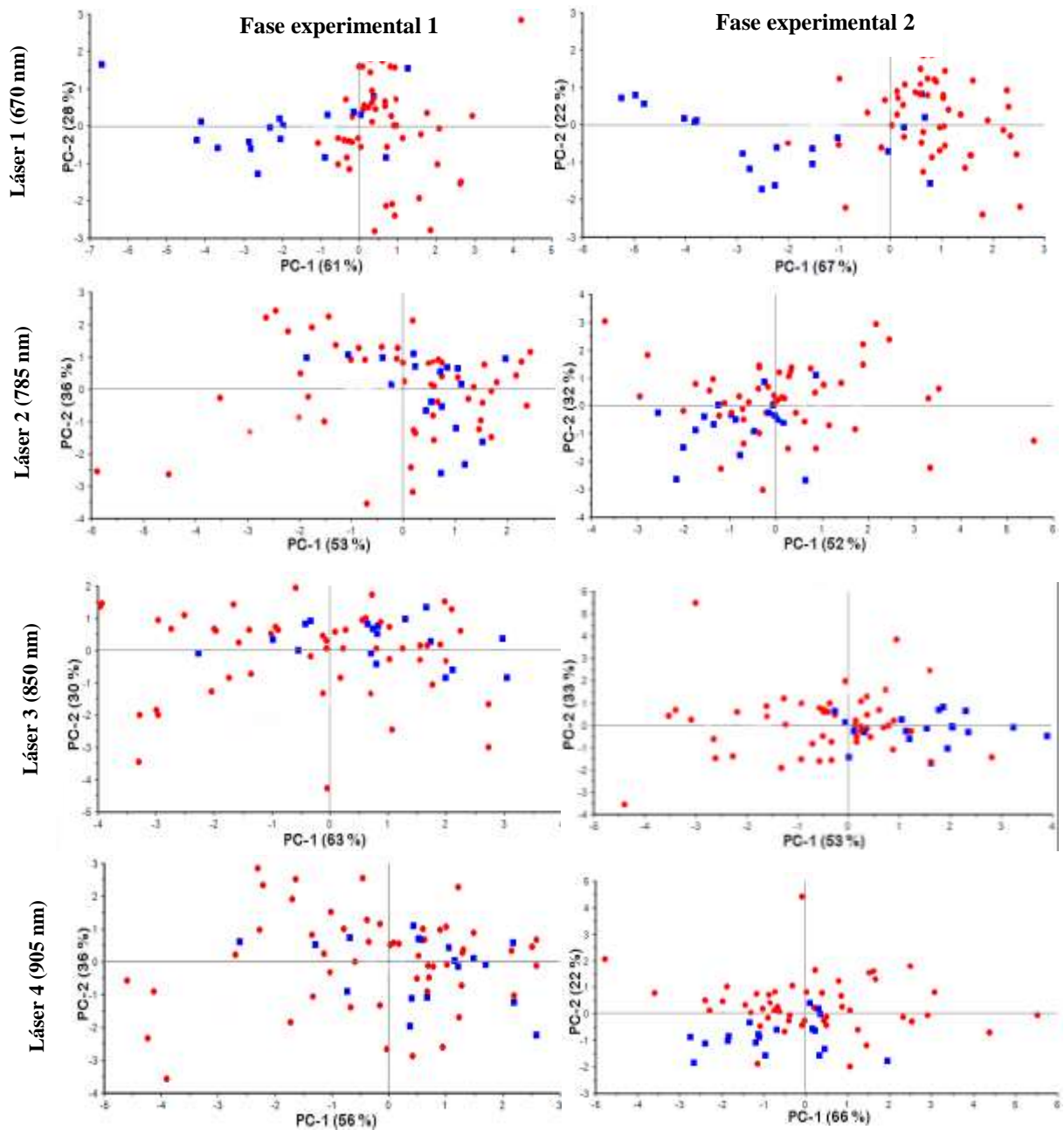


Figura 21 Análisis de componentes principales de los cuatro láseres en ambas fases experimentales: color rojo frutos que presentan mayor estado de madurez y color azul frutos en estado de maduración fisiológica

En función de la matriz de salida de las transformaciones los valores de las variables (scores), se observa que el láser 1 (670 nm) proporciona una separación en dos grupos de los frutos en función del primer componente principal (PC1) con una varianza explicada del 61 % para la

primera fase experimental y 67% en la segunda, teniendo la mayor correlación positiva con los frutos que presentan mayor estado de madurez y correlación negativa con los frutos verdes seleccionados visualmente, los láseres 2, 3 y 4 no proporcionan una separación clara como se muestra en la Figura 21.

Lleó et al., (2011) observaron que el pico de absorción de la clorofila se encuentra alrededor de los 675 nm, aumentando la reflexión de la luz conforme avanza la maduración por la degradación de esta y la aparición de pigmentos carotenoides, por lo que el histograma de niveles de grises se desplaza (aumento) hacia niveles más brillantes (saturación de blancos) a medida que el fruto madura. Estos resultados son congruentes con los reportados por Lu and Peng, (2006) quienes indicaron la posibilidad de usar la luz retroesparcida a 677 nm para clasificar los frutos de durazno de acuerdo a su firmeza. Con los resultados obtenidos es posible realizar una clasificación cualitativa de los frutos de acuerdo con su estado de madurez utilizando la reflexión difusa de un láser con longitud de onda de 670 nm de acuerdo con la absorción de pigmentos (color externo).

### **Predicción de firmeza y sólidos solubles totales**

- Primera fase experimental

En el Cuadro 19 se muestran los resultados estadísticos obtenidos haciendo uso del método de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) para los parámetros de firmeza, mediante el ensayo de resistencia a la compresión y sólidos solubles totales, con los cuatro láseres implementados.

Respecto a la firmeza se observa que existe una correlación moderada positiva ( $0.5 < r < 0.8$ ) para los 4 láseres tanto en la calibración como en la validación cruzada, pero respecto al láser 1 se obtuvo el mejor coeficiente de correlación  $r = 0.62$  con error cuadrático de validación  $RMSECV = 6.88$  N y para los sólidos solubles el valor más elevado fue del láser 1 con una correlación débil  $r = 0.41$  ( $0 < r < 0.5$ ) con un  $RMSECV = 1.44$  ° Brix. El láser 1 (670 nm) proporciona mayor información respecto a la firmeza, lo que se atribuye el contenido de clorofila que se encuentra relacionado a la degradación de los cloroplastos y aparición de carotenos (Martínez Vega et al., 2012). Para determinar la calidad interna de los frutos de

acuerdo con la literatura, Lammertyn et al. (2000) observaron en frutos de manzana que con una longitud de onda alrededor de 692 nm, en donde el pico de absorción de la clorofila se sitúa siendo un componente de la cáscara de los frutos que muestra una fuerte absorción, una menor reflexión de la luz al no permitir la interacción con otras capas del fruto asociadas a la firmeza y sólidos solubles totales por lo que recomiendan utilizar diferentes longitudes de onda que no interaccionen solo con las capas más próximas a la superficie y proporcionen mayor información.

Cuadro 19 Correlación estadística usando el método de regresión PLS para los parámetros fisicoquímicos con los obtenidos mediante la técnica óptica en la primera fase experimental

Parámetro	Láser	Modelo	N	Fc	Calibración			Validación cruzada		
					RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	R	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	r
Firmeza (N)	L1		70	2	6.58	0.42	0.65*	6.88	0.38	0.62*
	L2	PLS	70	1	6.97	0.35	0.59*	7.11	0.33	0.57*
	L3		70	1	6.58	0.42	0.65*	6.76	0.40	0.63*
	L4		70	4	6.08	0.40	0.63*	6.47	0.49	0.70*
SST (°Brix)	L1		70	5	1.38	0.27	0.45*	1.44	0.17	0.41*
	L2	PLS	70	1	1.49	0.14	0.37*	1.55	0.12	0.35*
	L3		70	4	1.43	0.22	0.46*	1.52	0.16	0.40*
	L4		70	4	1.45	0.19	0.44*	1.58	0.08	0.28*

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
 RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
 R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para calibración  
 R<sub>SECV</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para validación cruzada  
 Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
 r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

Dado que los resultados analizados de las correlaciones de firmeza respecto a la luz retroesparcida fueron positivamente moderadas ( $0.5 < r < 0.8$ ) (Cueva del Castillo, 2012) y para sólidos solubles una correlación débil ( $0 < r < 0.5$ ), de acuerdo a lo descrito en la literatura se hicieron diferentes combinaciones con los láseres (Peng and Lu, 2007; Qing et al., 2007; Lu, 2004) (Cuadro 20), para abarcar un rango espectral de infrarrojo cercano que contenga las banda de absorción del agua y carbohidratos con lo que existió un incremento en la correlación aplicando los láseres 2, 3 y 4 para la firmeza  $r = 0.65$  (RMSECV = 6.38); y para los sólidos solubles totales un aumento de 37 % acoplando los 3 láseres (785, 850 y 905 nm), lo cual

indica que al realizar la unión de diferentes longitudes de onda, los datos proporcionan una adecuada predicción de la firmeza y contenido de sólidos solubles del fruto.

Cuadro 20 Correlación estadística usando el método de regresión PLS para los parámetros fisicoquímicos con los obtenidos usando la combinación de láseres en la primera fase experimental

Parámetro	Láser	Modelo	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
					RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	R	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	R
Firmeza (N)	L2 L3 L4	PLS	70	1	6.07	0.47	0.69*	6.38	0.42	0.65*
	L1 L2 L3 L4		70	1	6.61	0.41	0.64*	6.92	0.38	0.62*
SST (°Brix)	L2 L3 L4	PLS	70	4	1.29	0.37	0.61*	1.45	0.25	0.50*
	L1 L2 L3 L4		70	4	1.26	0.34	0.58*	1.44	0.20	0.45*

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
 RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
 R<sub>SEC</sub><sup>2</sup> = coeficiente de determinación para calibración  
 R<sub>SECV</sub><sup>2</sup> = coeficiente de determinación para validación cruzada  
 Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
 r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

- Segunda fase experimental

Los valores obtenidos al aplicar el modelo de mínimos cuadrados parciales para relacionar los parámetros ópticos con los parámetros fisicoquímicos se pueden visualizar en el Cuadro 21. Se observa que los resultados idóneos para la predicción de la firmeza de la pulpa fueron observados para el láser 1 usando el ensayo de penetración ( $r = 0.53$ ) y mediante el perfil de textura ( $r = 0.59$ ), comparado con lo obtenido por Lu (2004) para predecir el contenido de firmeza  $r = 0.87$  (SEP = 5.8 N) y sólidos solubles  $r = 0.77$  (SEP = 0.78 %) en manzanas fueron bajos, lo que se presume se relaciona con la variedad de fruto utilizada, condiciones climáticas así como las prácticas culturales de manipulación de cosecha y postcosecha, haciendo que el comportamiento del proceso de maduración sea diferente para cada área de cultivo y la temporada de cosecha (Beltrán et al., 2004).



Cuadro 21 Correlación estadística usando el método de regresión PLS para los parámetros fisicoquímicos con los obtenidos mediante la técnica óptica en la segunda fase experimental

Parámetro	Láser	Modelo	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
					RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	r	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	r
Firmeza pulpa (N)	L1	PLS	72	1	0.77	0.34	0.58*	0.82	0.28	0.53*
	L2		72	2	0.80	0.29	0.54*	0.83	0.26	0.51*
	L3		72	1	0.77	0.33	0.57*	0.80	0.31	0.56*
	L4		72	2	0.78	0.32	0.57*	0.82	0.31	0.56*
Dureza (N)	L1	PLS	72	1	11.45	0.46	0.68*	12.45	0.35	0.59*
	L2		72	2	12.54	0.35	0.59*	13.20	0.31	0.56*
	L3		72	1	11.98	0.41	0.64*	12.36	0.37	0.61*
	L4		72	2	11.90	0.41	0.64*	12.61	0.38	0.62*
SST (°Brix)	L1	PLS	72	1	1.16	0.003	0.05	NA	NA	NA
	L2		72	1	1.15	0.03	0.17	NA	NA	NA
	L3		72	1	1.14	0.05	0.22*	NA	NA	NA
	L4		72	1	1.15	0.03	0.17	NA	NA	NA

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
 RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
 R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para calibración  
 R<sub>SECV</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para validación cruzada  
 Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
 r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

Analizando lo anterior, se combinaron los láseres para observar si se podían obtener mejores resultados de correlación para la predicción de firmeza y sólidos solubles. En el Cuadro 22 se aprecian los resultados, correspondiente a la firmeza adquirida por TPA en donde el coeficiente de correlación aumentó aproximadamente en un 18%, obteniendo una correlación positivamente moderada ( $r = 0.71$ ) combinando los láseres 2, 3 y 4 y un error cuadrático de validación de 11.33 N mediante la dureza determinada por el TPA. Por el contrario, para los sólidos solubles totales las correlaciones fueron positivamente débiles ( $0 < r < 0.5$ ) en comparación con lo obtenido en la primera fase experimental, así como las validaciones cruzadas no se pudieron aplicar según lo obtenido con el modelo y lo analizado. esto puede atribuirse al limitado número de longitudes de onda utilizadas (670, 735, 840 y 905 nm), ya que otras técnicas como la espectroscopía de infrarrojo cercano utiliza un rango espectral de 780 - 2500 nm, abarcando bandas de absorción correspondientes a carbohidratos, o bien por otro lado puede ser ocasionado por el periodo de

cosecha de los frutos, el cual modifica la composición fisicoquímica de los frutos debido a los cambios de temperaturas como lo reportado por Mercado Silva et al. (1998), quienes observaron los cambios que se producen durante la maduración de guayabas variedad “media china” en dos lotes cosechados en diferente temporada de cosecha primavera – verano y otoño – invierno; a bajas temperaturas se retrasa el proceso de maduración al disminuir su tasa de respiración y la producción de etileno. Peng and Lu (2007), predijeron los sólidos solubles en manzana mediante imágenes multiespectrales de retroesparcimiento ( $r = 0.81$  y un error de calibración de 0.92%).

Cuadro 22 Correlación estadística para los parámetros fisicoquímicos con la combinación de láseres en la segunda fase experimental

Parámetro	Láser	Modelo	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
					RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	R	RMSEC	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	R
Firmeza pulpa (N)	L2 L3 L4	PLS	72	2	0.71	0.43	0.66*	0.76	0.36	0.60*
	L1 L2 L3 L4		72	2	0.77	0.34	0.58*	0.80	0.31	0.56*
Dureza (N)	L2 L3 L4	PLS	72	2	10.70	0.53	0.73*	11.33	0.50	0.71*
	L1 L2 L3 L4		72	2	11.79	0.42	0.65*	12.47	0.36	0.60*
SST (°Brix)	L2 L3 L4	PLS	72	1	1.13	0.06	0.24*	NA	NA	NA
	L1 L2 L3 L4		72	1	1.13	0.05	0.22*	NA	NA	NA

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración  
 RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada  
 R<sub>SEC</sub><sup>2</sup> = coeficiente de determinación para calibración  
 R<sub>SECV</sub><sup>2</sup> = coeficiente de determinación para validación cruzada  
 Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración  
 r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$   
 NA= no se pudo llevar a cabo la validación del modelo estadísticamente ( $p < 0.05$ )

## CONCLUSIONES

Los histogramas de las imágenes capturadas por retroesparcimiento con un láser de 670 nm, son capaces de realizar una separación considerable utilizando un análisis de componentes principales (PC1 61 – 67 %) de acuerdo con el color externo de los frutos de guayaba, utilizando longitudes de ondas del espectro visible correspondientes a la banda de absorción de los pigmentos como clorofila y carotenoides.

Se ha comprobado la posibilidad de aplicar el análisis de imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz láser como técnica no destructiva para predecir la firmeza, y con ello

evaluar la calidad de los frutos de guayaba, mediante el uso de una combinación de longitudes de onda del infrarrojo cercano.

Las ventajas del uso de las técnicas ópticas son: realizan una mejor separación o clasificación, son no destructivas, de no contacto, bajo costo, no se requiere de muestreo, todos los frutos son analizados, rapidez de análisis, sencillez de manejo e interpretación y puede implementarse en línea de producción.

### LITERATURA CITADA

- Beltrán, G., del Río, C., Sánchez, S., & Martínez, L. (2004). Seasonal changes in olive fruit characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(April), 1783–1790. <http://doi.org/10.1002/jsfa.1887>
- Cortés, V., Blanes, C., Ortíz, C., & Talens, P. (2014). *Desarrollo de un sistema de automatización no destructivo para la clasificación de mangos en función de su madurez*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Cueva del Castillo, F. de J. (2012). *Estadística en fenómenos naturales y procesos sociales* (Primera). Secretaria de Educación Pública.
- Du, C. J., & Sun, D. W. (2006). Learning techniques used in computer vision for food quality evaluation: A review. *Journal of Food Engineering*, 72(1), 39–55. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.11.017>
- Knee, M. (2002). *Fruit Quality and its Biological Basis* (First). Sheffield Academic Press Ltd.
- Lafuente, V. (2013). *Aplicación de las técnicas de Espectroscopia Vis / NIR y de imágenes de retrodifusión de luz láser a la evaluación del estado de madurez de melocotón, manzana y cereza*. Universidad de Zaragoza.
- Lafuente, V., Val, J., Urzola, C., & Negueruela, I. (2013). Determination of quality parameters in apple “Smoothie Golden Delicious” using backscattering laser imaging. *Proceedings of the SPIE*, 8785, 8785DO–1–8785DO–6. <http://doi.org/10.1117/12.2026376>
- Lammertyn, J., Peirs, A., De Baerdemaeker, J., & Nicolai, B. (2000). Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment.

*Postharvest Biology and Technology*, 18(2), 121–132. [http://doi.org/10.1016/S0925-5214\(99\)00071-X](http://doi.org/10.1016/S0925-5214(99)00071-X)

- Lleó, L., Roger, J. M., Herrero-Langreo, A., Diezma-Iglesias, B., & Barreiro, P. (2011). Comparison of multispectral indexes extracted from hyperspectral images for the assessment of fruit ripening. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 612–620. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.01.028>
- Lu, R. (2004). Multispectral imaging for predicting firmness and soluble solids content of apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2), 147–157. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.006>
- Lu, R. (2007). Nondestructive measurement of firmness and soluble solids content for apple fruit using hyperspectral scattering images. *Sens. & Instrumen. Food Qual.*, 1, 19–27. <http://doi.org/10.1007/s11694-006-9002-9>
- Lu, R., & Peng, Y. (2006). Hyperspectral scattering for assessing peach fruit firmness. *Biosystems Engineering*, 93(2), 161–171. <http://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2005.11.004>
- Mercado Silva, E., Benito Bautista, P., & García Velasco, M. de los A. (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*, 13(2), 143–150. [http://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00003-9](http://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00003-9)
- Nath, P., Bouzayen, M., Mattoo, A. K., & Pech, J. C. (2014). *Fruit ripening : Physiology, signalling and genomics. Fruit Ripening: Physiology, Signalling and Genomics*. CAB International. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Peng, Y., & Lu, R. (2007). Prediction of apple fruit firmness and soluble solids content using characteristics of multispectral scattering images. *Journal of Food Engineering*, 82, 142–152. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.12.027>
- Qing, Z., Ji, B., & Zude, M. (2007). Predicting soluble solid content and firmness in apple fruit by means of laser light backscattering image analysis. *Journal of Food Engineering*, 82, 58–67. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.016>

Xue, L., & Yang, L. (2009). Deriving leaf chlorophyll content of green-leafy vegetables from hyperspectral reflectance. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 64(1), 97–106. <http://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2008.06.002>

- **CAPÍTULO IV Predicción de firmeza y sólidos solubles totales mediante espectroscopía Vis/NIR en guayaba.**

Adriana Padilla Tena <sup>a\*</sup>, Ángel I. Negueruela Suberviola, Berenice Yahuaca Juárez, Victoria-Lafuente Rosales, Jorge A. Huerta Ruelas

<sup>a</sup> Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Químico Farmacobiología Tzintzuntzan 173, 58240 Michoacán, México

## **RESUMEN**

La espectroscopia visible / infrarrojo cercano (Vis/NIR) surge como una técnica importante para la evaluación no destructiva de la calidad de frutos. Este trabajo de investigación se centró en la implementación de la espectroscopia Vis/NIR para la evaluación de las características de calidad externas e internas de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. "guayaba limón", mediante el establecimiento de las relaciones entre las propiedades fisicoquímicas de firmeza y contenido de sólidos solubles totales con las mediciones espectrales Vis/NIR. Estadísticamente para el análisis se utilizó el modelo de regresión parcial por mínimos cuadrados (PLS), el cual indicó que se puede obtener una predicción para la firmeza medida mediante el ensayo de resistencia a la penetración con un coeficiente de correlación  $r = 0.69$  y un error cuadrático medio de calibración de RMSECV = 0.75 N, por el contrario, para los sólidos solubles un coeficiente  $r = 0.59$  y un error cuadrático medio de calibración de RMSECV = 1.32 ° Brix en el rango espectral de 750 – 2450 nm. Implementar la técnica de espectroscopía de infrarrojo cercano (750 – 2450 nm) como técnica no destructiva es prometedora para evaluar la calidad en frutos de guayaba determinando la firmeza y cuantificando la cantidad de sólidos solubles totales.

**Palabras claves:** guayaba, técnica no destructiva, espectroscopía Vis/NIR

## **ABSTRACT**

Visible / near infrared (NIR) spectroscopy emerges as an important technique for the non-destructive evaluation of fruit quality. This research work focused on the implementation of Vis / NIR spectroscopy for the evaluation of external and internal quality characteristics of the fruits of guava (*Psidium guajava* L.) cv. "guayaba limón" by establishing the relationships between

the physicochemical properties of firmness and total soluble solids content with the Vis/NIR spectral measurements. For the statistical analysis, the partial least squares regression model was used (PLS), which can obtain a reasonable prediction for the firmness through the penetration resistance test with a correlation coefficient of  $r = 0.69$  and a root mean squared error of calibration of  $RMSECV = 0.75$  N, on the other hand, for soluble solids  $r = 0.59$  and a root mean squared error of calibration of  $RMSEC = 1.32$  ° Brix in the spectral range of 750 - 2450 nm. Implementing the technique of near infrared as a non-destructive technique is promising to evaluate the quality of guava fruits by determining the firmness and quantifying the amount of total soluble solids.

**Keywords:** guava, non-destructive technique, Vis/NIR spectroscopy

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el consumo de frutos ha aumentado significativamente. Sin embargo, muchos atributos de calidad requeridos por parte del consumidor son evaluados haciendo uso de técnicas tradicionales que son subjetivas o requieren del uso de instrumentos o análisis químicos, razón por la que, se han implementado técnicas no destructivas, entre las que destaca la técnica de espectroscopía visible e infrarrojo cercano, para determinar de forma no invasiva la calidad interna y externa en frutos y vegetales (Blanco and Villarroya, 2002; Nicolai et al., 2007), esta técnica es alternativa a las tradicionales ya que ofrece ventajas como reducción del tiempo de análisis, análisis simultáneo y no destructivo con un bajo costo por muestra.

La espectroscopía Vis/NIR es un conjunto de técnicas instrumentales de análisis que se basan en la interacción de la radiación ocasionada por una fuente de luz con la materia (Lourenco et al. 2012) y cubre el rango de 380 – 2500 nm en el espectro electromagnético. La zona de radiación visible (400 – 700 nm) interactúa con los electrones de valencia de átomos y moléculas produciendo transiciones electrónicas, mientras que la radiación infrarroja cercana (700-2500 nm) presenta bandas de absorción relacionadas las vibraciones de los enlaces moleculares O-H, C-H y N-H en los compuestos (Nicolai et al., 2007).

Al existir la interacción entre la radiación electromagnética con la materia, suceden fenómenos como la reflexión, absorbanza, esparcimiento y fluorescencia/fosforescencia (Cozzolino et al., 2011d; Nicolai et al., 2007).

Esta técnica es una herramienta analítica importante que proporciona un análisis rápido y sencillo, tanto cualitativo como cuantitativo, con poco esfuerzo en la preparación de la muestra (Kortesniemi et al., 2014; Snyder et al., 2014), de gran rapidez y aplicable a todos los materiales (Mbesse Kongbonga et al., 2014) y diversos campos como la industria alimentaria, permitiendo obtener espectros que contienen información tanto física como química de las muestras tales como firmeza, daños internos, sólidos solubles totales y acidez (Nicolai et al., 2007; Sun et al., 2010).

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es uno de los frutos más importantes a nivel mundial, ya que es apreciado por sus propiedades antioxidantes, tales como contenido de ácido ascórbico mayor que los frutos de naranja ( $67 \pm 9$  mg/100 g), carotenoides y fenoles (Lim et al., 2007). Su consumo principalmente es como fruto fresco (87 al 92 %) y el resto se destina a la industria para la elaboración de derivados: dulces, bebidas, mermeladas y otros productos afines (González et al., 2002). Debido a que es considerado un fruto climatérico se descompone fácilmente y en la actualidad una gran proporción de la cosecha no llega a los consumidores (Borrero Ortiz y Urrea López, 2007) con las pérdidas postcosecha que actualmente oscilan alrededor del 35 % (Casp, 2003). Varios procesos bioquímicos ocurren durante el proceso de maduración de los frutos de guayaba que son responsables de los cambios en la firmeza y la concentración de sólidos solubles.

El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de la espectroscopia Vis/NIR para cuantificar los parámetros de calidad de los frutos de guayaba cv. “guayaba limón”, y establecer la correlación entre las mediciones espectrales y las propiedades fisicoquímicas de los frutos incluyendo la firmeza y sólidos solubles totales, mediante el uso del análisis quimiométrico para extraer información útil de los espectros. La mayor parte hace uso de un análisis de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) para obtener la predicción cuantitativa de los parámetros estudiados.



## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron frutos de guayaba (*Psidium guajava*) variedad “guayaba limón”, los cuales son frutos con pulpa color amarillenta, procedentes de una explotación comercial en la “Huerta la Tropical”, situada en la localidad de Motril, Málaga, España. Fueron transportados a la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, España. Las guayabas utilizadas se encontraban en dos estados de maduración: maduración fisiológica (color verde) y maduración de consumo (color amarillo) (Figura 22).

Se llevaron a cabo dos fases experimentales, en la primera se examinaron un total de 70 frutos y en la segunda fase 72 frutos, los cuales se para analizarse durante los días 0, 2, 6, 9, 13, 16 y 20 para obtener los espectros Vis/NIR

y parámetros fisicoquímicos de cada fruto.

Para el análisis se usaron guayabas conservadas en dos temperaturas para aumentar la variación de las muestras.

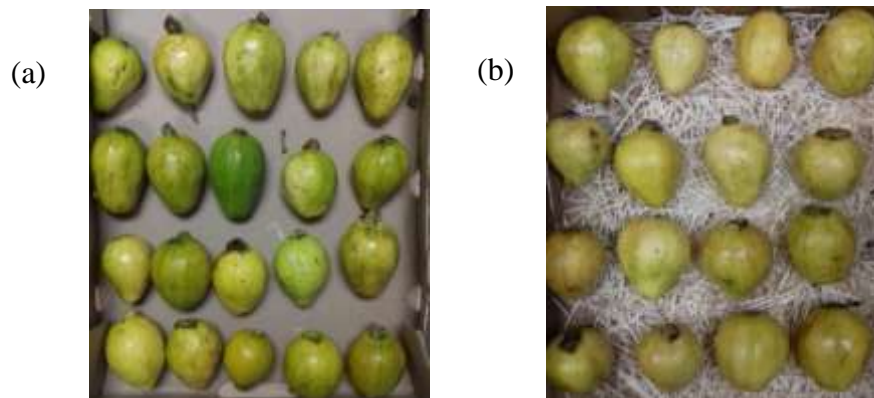


Figura 22 Frutos de guayaba variedad "guayaba limón" en estado de maduración fisiológica (a) y maduración de consumo (b)

### **Parámetros fisicoquímicos (métodos destructivos)**

#### **Determinación de firmeza**

Se midió haciendo uso de un Texturómetro TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Godlming, UK) equipado con una sonda de fuerza máxima de 5 kgf. Se llevaron a cabo las siguientes pruebas:

### *1. Ensayo de resistencia a la penetración*

La penetración se realizó en 3 puntos del fruto con una profundidad de penetración de 15 mm con el uso de una sonda cilíndrica P/2 2mm Ø de acero inoxidable con una velocidad de desplazamiento de 1 mm/s, el resultado se reflejó en Newtons.

### *2. Análisis de Perfil de Textura (TPA)*

Es el análisis que imita las condiciones a las que se somete el material durante el proceso de masticación, el cual implica que se deba comprimir el producto por lo menos dos veces y cuantificar los parámetros mecánicos de las curvas de fuerza–deformación (dureza, adhesividad y elasticidad).

El análisis se llevó a cabo mediante cilindros de un mismo diámetro 1 cm y longitud de 2.5 cm tomados del fruto, los cuales fueron comprimidos doble vez mediante una sonda cilíndrica P/20 20mm Ø de acero inoxidable con una deformación del 25 %.

### **Sólidos Solubles Totales (SST)**

El fruto incluyendo parte comestible y semillas fue cortado en trozos y triturado mediante un extractor de zumo LI-240 Sammic de acero inoxidable. La determinación de los sólidos fue mediante un refractómetro digital SMART-1 con un rango de 0.00 a 95.00 % y con una exactitud de  $\pm 0.05$  %; previamente se calibró con agua destilada y posteriormente del zumo obtenido se tomaron 2 gotas de muestra, las cuales se colocaron sobre el lente del refractómetro para su cuantificación, obteniendo los resultados en ° Brix. El análisis se realizó por triplicado.

### **Determinación de propiedades ópticas**

Se utilizó como técnica no destructiva la espectroscopía Vis/NIR, con la que se obtuvieron espectros de reflexión mediante el equipo Vis/NIR LabSpec 4 Standard-Res Lab Analyzer (ASD Inc. A PANalytical Company), espectrofotómetro de barrido rápido con un rango espectral de 350-2500nm ( $\Delta\lambda = 1$ nm), lámpara de iluminación halógena y sistema de detección formado por un arreglo de 512 fotodiodos de silicio (350-1000nm) y un doble detector de InGaAs (1001-1800 nm) y (1801 – 2500 nm). La luz de iluminación, así como la luz de medida se transportan mediante fibra óptica obteniendo los datos espectrales mediante el software Indico Pro 6.5.6. El

fruto fue colocado en una sonda externa donde se tomaron lecturas en dos puntos sobre la línea ecuatorial del fruto (Figura 23) y se promediaron los espectros para reducir el ruido.



Figura 23 Espectrofotometro Vis/NIR LabSpec 4 Standard-Res Lab Analyzer

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó con el software Unscrambler 10.1 (CAMO Software AS, Norway). Para la obtención de modelos de calibración se utilizó el método regresión por mínimos cuadrados parciales (Partial Least Square, PLS) y para evitar el sobreajuste en el desarrollo de los modelos de calibración, se usó la validación cruzada en la evaluación.

Para los análisis se utilizó el espectro completo (400 – 2450 nm) eliminando los extremos considerados como ruido, así como se realizaron predicciones en la zona NIR de forma separada (750 – 2450 nm).

El pretratamiento aplicado a cada una de las variables del espectro fue una normalización usando la media y desviación estándar (Rossi et al., 2006). Para valorar la capacidad predictiva de los modelos obtenidos, se utilizó el coeficiente de correlación de la validación ( $r$ ) que representa la relación entre la variable dependiente (Y) respecto a la variable respuesta. Para obtener un buen modelo, el coeficiente de correlación debe ser lo más alto posible, cercano a 1 (Chen et al., 2011) y la raíz de error cuadrático medio de la validación cruzada (RMSECV) conocida como la desviación estándar cuan menor sea el valor del RMSECV mejor será el modelo.

Para determinar si el valor obtenido de los coeficientes de correlación  $r$  son significantes y muestra que las variables X y Y están relacionadas en realidad o si solo presentan dicha relación

como consecuencia del azar se aplicó la prueba de t Student para contraste de hipótesis (Anexo 1).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los cuadros 23 y 24, se presentan los valores medios y el error estándar de los parámetros fisicoquímicos de firmeza y sólidos solubles totales de los frutos de guayaba para ambas fases experimentales.

Cuadro 23 Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos primera fase experimental (n=70)

Tiempo (días)	Firmeza (N)		Sólidos Solubles Totales (°Brix)	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
0	23.7	1.70	13.2	0.25
2	22.6	2.44	11.4	0.31
6	19.5	1.53	12.0	0.37
9	14.8	1.59	11.8	0.30
13	19.6	2.33	11.2	0.41
16	21.1	3.34	13.5	0.47
20	16.5	2.14	11.4	0.76

Cuadro 24 Evolución de los parámetros fisicoquímicos segunda fase experimental (n=72)

Tiempo (días)	Firmeza pulpa (N)		Dureza (N)		Sólidos Solubles Totales (°Brix)	
	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar	Promedio	Error estándar
0	1.43	0.30	19.19	5.23	10.9	0.28
2	1.56	0.38	20.45	4.88	11.4	0.40
6	1.37	0.16	19.00	3.71	11.2	0.33
9	1.13	0.15	9.95	3.01	11.3	0.29
13	1.31	0.21	12.56	3.09	10.7	0.33
20	0.97	0.19	4.29	1.00	11.1	0.28

En la primera fase (Figura 24), se observó que con el proceso de maduración los frutos no siguen la tendencia lineal característica en donde la firmeza disminuye provocando un ablandamiento en la fruta lo que pudo deberse a la variación en el tamaño de cada fruto.

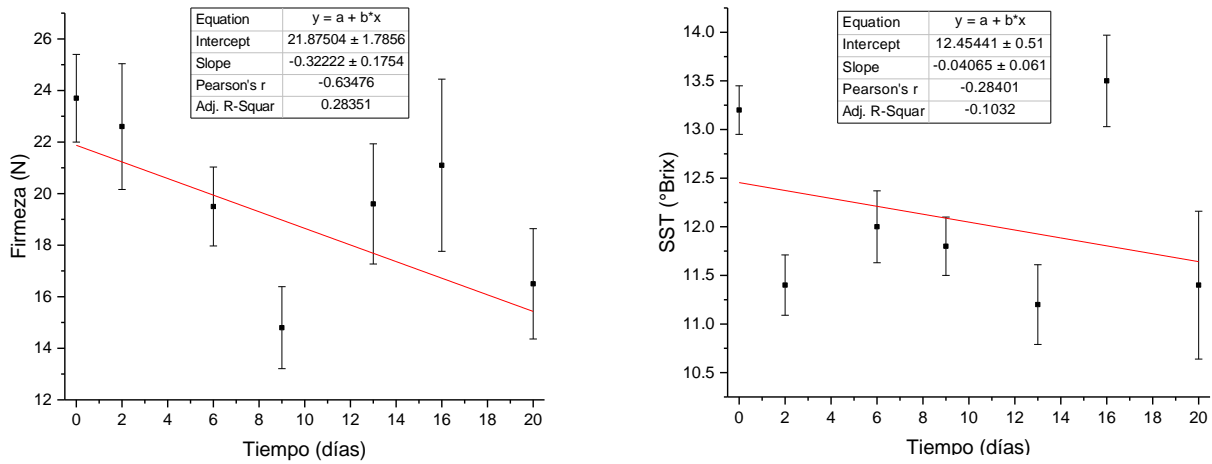


Figura 24 Evolución de la firmeza y sólidos solubles totales en el en frutos de guayaba (primera fase experimental)

Tomando en consideración lo anterior, en la segunda fase experimental (Figura 25) se realizó una modificación en la determinación de la firmeza de los frutos en donde se implementó el ensayo de resistencia a la penetración en cuatro puntos diferentes sobre la zona ecuatorial del fruto y el análisis de perfil de textura (TPA) utilizando el parámetro de dureza, se observó una mejor tendencia de maduración; por otra parte la concentración de sólidos solubles no mostraron un aumento postcosecha por la degradación hidrolítica de polisacáridos como el almidón, la celulosa y la pectina en azúcares simples (glucosa, fructosa y sacarosa) debido probablemente por la actividad de las enzimas hidrolasas (Nath et al., 2014), lo cual puede asociarse con daños por frío causados por la temperatura de almacenamiento, con la variedad de fruto utilizada así como a las condiciones agroclimáticas de cosecha.

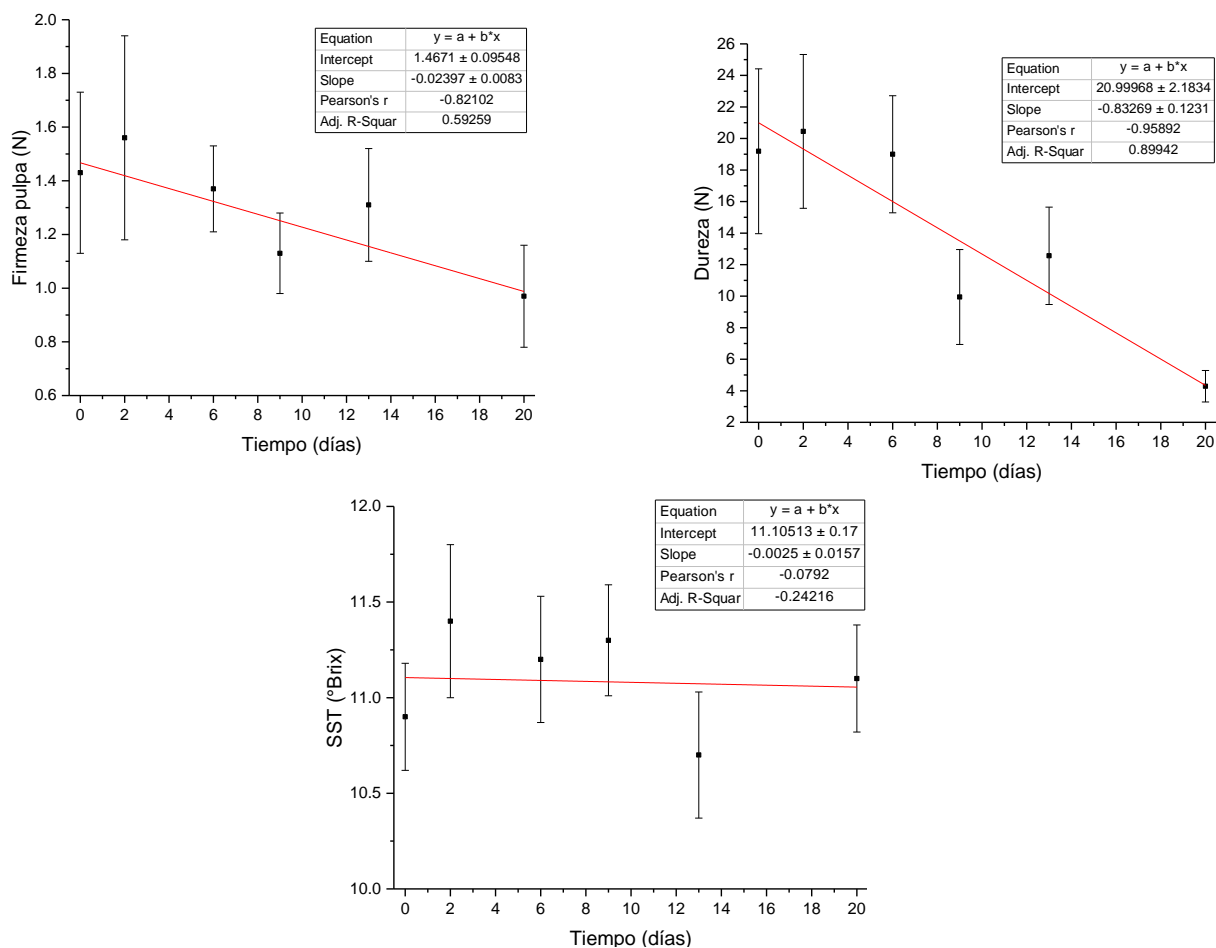


Figura 25 Comportamiento postcosecha de frutos guayaba limón (segunda fase experimental)

### Obtención de espectros Vis/NIR

En la Figura 26 se muestran dos espectros de reflexión obtenidos de los frutos de guayaba en los dos estados de maduración, pudiéndose observar los picos de mayor importancia. Las curvas de reflexión de los frutos en los dos estados de maduración muestran un pico alrededor de ~675 nm correspondiente a los pigmentos absorbentes de color rojo, particularmente la clorofila que proporcionan al fruto un color verde ya que su banda de absorción se encuentra entre los 600 – 700 nm, la cual es degradada conforme avanza el proceso de maduración y da lugar a la aparición de otros pigmentos como los carotenoides situados en un rango de 400-580 nm. Se aprecia que a los ~973 nm aparece un pico prominente el cual se debe a la absorción de agua y carbohidratos (pectina); según Nicolai et al., (2007) los espectros están dominados por las bandas

de absorción del agua, así como por enlaces -OH, fundamentalmente en las longitudes de onda 760 nm y 970 nm. comparable con lo obtenido por Saranwong et al. (2004) para la predicción del estado de madurez de mango (840 y 962 nm) y Lu et al. (2000) 970 nm. Así como se pueden observar en la región del infrarrojo cercano otros dos picos en ~1203 nm y ~1445 nm, los cuales de acuerdo con Flores Rojas (2009) 1200 nm y 1440 nm y Lu et al. (2000) 1180 nm y 1460 nm están vinculados al contenido de carbohidratos y picos de absorción del agua.

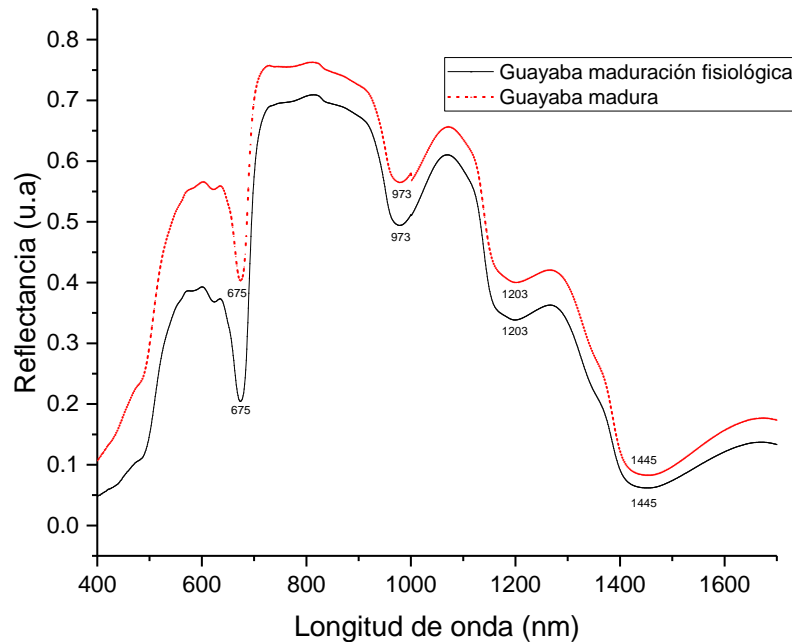


Figura 26 Ejemplo de dos espectros de reflectancia de frutos de guayaba en dos estados de maduración diferentes

En los frutos de maduración fisiológica se observa que existe una mayor concentración de clorofila a 675 nm, el cual disminuye conforme su proceso de maduración mostrando una menor reflexión debido al esparcimiento de luz el cual aumenta respecto al fruto con mayor madurez, de acuerdo al pico de absorción de agua 973 nm existe un incremento del 22 % en la reflexión en un fruto maduro.

### **Predicción de firmeza**

Desde un punto de vista fisiológico, la pérdida de firmeza se relaciona con la pérdida de estructuras de la pared celular como pectina, celulosa y hemicelulosa y al contenido de agua. Para la correlación de la espectroscopía con la firmeza de los frutos se utilizó el rango espectral Vis/NIR (400 – 2450 nm) y la región del infrarrojo cercano de 750 – 2450 nm la cual abarca

longitudes de onda de absorción de contenido de agua y carbohidratos los cuales están estrechamente relacionados con la firmeza de los frutos. En el cuadro 25 se muestran los estadísticos de calibración para la determinación de firmeza en las dos fases experimentales realizadas.

Cuadro 25 Estadísticos de calibración con PLS para correlacionar la firmeza de los frutos de guayaba

Fase experimental	Parámetro	Rango	Modelo	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
						RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	r	RMSECV	R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup>	R
No. 1	Firmeza compresión (N)	400- 2450 nm	PLS	70	4	7.43	0.26	0.51*	8.01	0.18	0.42*
		750 - 2450nm	PLS	70	6	7.04	0.34	0.58*	7.45	0.27	0.52*
No. 2	Firmeza penetración (N)	400- 2450 nm	PLS	72	5	0.65	0.48	0.69*	0.79	0.31	0.56*
		750 - 2450nm	PLS	72	7	0.64	0.54	0.73*	0.75	0.48	0.69*
	Dureza TPA (N)	400- 2450 nm	PLS	72	3	11.82	0.42	0.65*	12.93	0.32	0.57*
		750 - 2450nm	PLS	72	7	10.52	0.54	0.73*	12.29	0.35	0.57*
RMSEC= Error cuadrático medio de calibración RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup> = coeficiente de determinación para calibración R <sub>SECV</sub> <sup>2</sup> = coeficiente de determinación para validación cruzada Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración r = coeficiente de correlación											



La mejor capacidad de la espectroscopía para predecir la firmeza de los frutos de guayaba fue en la segunda fase experimental, en donde se utilizó un rango espectral de 750 – 2450 nm usando como técnica destructiva el ensayo de resistencia a la penetración con coeficiente de correlación  $r = 0.69$  y la raíz del error cuadrático medio validación cruzada  $RMSECV = 0.75$ , así como con la dureza obtenida del análisis de perfil de textura con coeficiente  $r = 0.57$  y  $RMSECV = 12.29$  N, en comparación con la primera fase experimental donde se utilizó la resistencia a la compresión para cuantificar la firmeza donde la correlación en el rango de 750 – 2450 nm fue menor  $r = 0.52$  y  $RMSECV = 7.45$  N.

### **Predicción de sólidos solubles en frutos de guayaba**

Para la calibración de sólidos solubles se eligieron los rangos comprendidos entre 400 - 2450 nm y 750 - 2450 nm obteniéndose los resultados al aplicar el modelo de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) mostrados en el Cuadro 26.

En la primera fase experimental se observaron correlaciones moderadas positivas siendo el mejor rango espectral para la predicción el comprendido de 750 – 2450 nm ( $r = 0.59$  y  $RMSECV = 1.32$ ) con 7 factores, a diferencia de 400 - 2450 nm, estos resultados son mejores que los de Zude et al., 2006 ( $R^2 = 0.04$  y  $SEC = 1.82$  ° Brix) para manzanas en un espectro de 400 – 1000 nm, pero más bajos que los obtenidos por Lafuente, 2013 para la predicción de sólidos solubles totales en cerezas ( $r = 0.97$  y  $SECV = 0.83$  ° Brix), para la obtención de sólidos solubles en mandarina haciendo uso de espectroscopía NIR (400 – 2350 nm)  $r = 0.94$  y  $SEP = 0.32$  ° Brix (Hernández Gómez et al., 2006) y Peirs et al. (2002) usando una región espectral entre 380 – 2000 nm en manzanas ( $R^2 = 0.91$  a  $0.92$ ,  $SEC = 0.49$ ). En la segunda fase experimental los resultados obtenidos fueron muy bajos respecto a los de la primera fase, esto se puede relacionar con el periodo de cosecha de los frutos, ya que en la primera fase los frutos fueron cosechados en otoño y la segunda en invierno, las bajas temperaturas modifican el proceso de maduración de los frutos al disminuir su tasa respiratoria y como consecuencia la producción de etileno el cual es el encargado de producir los cambios fisicoquímicos característicos del proceso de maduración de los frutos (Mercado Silva et al., 1998) lo que puede afectar la precisión del modelo de predicción.

Se puede observar que los sólidos solubles totales se relacionan mejor con la banda de absorción del infrarrojo cercano debido a que los picos de absorción característicos de carbohidratos y agua son 760 y 980 nm (Gutiérrez Devia et al., 2014), 1200 nm y 1440 nm (Flores Rojas, 2009), estos picos se deben a que los índices de refracción cambian de dirección por las estructuras de las membranas, vacuolas u diferentes orgánulos del fruto al desviar la trayectoria de los fotones.

Cuadro 26 Estadísticos de predicción de sólidos solubles totales mediante modelo PLS

Fase experimental	Parámetro	Rango espectral	Modelo	n	Fc	Calibración			Validación cruzada		
						RMSEC	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	r	RMSECV	R <sub>SEC</sub> <sup>2</sup>	R
No. 1	Sólidos solubles totales (°Brix)	700 – 2450 nm	PLS	70	7	1.24	0.46	0.68*	1.32	0.37	0.59*
		400- 2450 nm	PLS	70	6	1.28	0.38	0.62*	1.53	0.15	0.40*
No. 2	Sólidos solubles totales (°Brix)	700 – 2450 nm	PLS	72	1	1.16	0.02	0.14	NA	NA	NA
		400– 2450 nm	PLS	72	1	1.15	0.04	0.20	NA	NA	NA

RMSEC= Error cuadrático medio de calibración

RMSECV=Error cuadrático medio de validación cruzada

R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para calibración

R<sub>SEC</sub><sup>2</sup>= coeficiente de determinación para validación cruzada

Fc = número de factores con el que se obtuvo el modelo de calibración

r = coeficiente de correlación \* = estadísticamente significativo con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

## CONCLUSIONES

La técnica de espectroscopía Vis/NIR es adecuada para ser implementada como técnica alternativa no destructiva teniendo la capacidad de predecir parámetros fisicoquímicos de un solo espectro obtenido. Lo cual es de gran interés para su aplicación en control de calidad en el

sector hortofrutícola ya que permitirá a mayor velocidad caracterizar las muestras sin ser manipuladas, reducir los tiempos de análisis al no requerir un pretratamiento y obtener las mediciones en un menor tiempo.

La región espectral del infrarrojo cercano es la más adecuada para la predicción de la firmeza y el contenido de sólidos solubles en frutos de guayaba utilizando longitudes de onda que abarquen 750 – 2450 nm, por otro lado, la región visible nos proporciona información sobre el color o clorofila debido a la absorción de los pigmentos (clorofilas y carotenoides).

### LITERATURA CITADA

- Blanco, M., & Villarroya, I. (2002). NIR spectroscopy: A rapid-response analytical tool. *Trends in Analytical Chemistry*, 21(4), 240–250. [http://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00404-1](http://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00404-1)
- Borrero Ortiz, M., & Urrea López, R. (2007). *Modulo poscosecha*. Retrieved from [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/30167/Modulo\\_30167.\\_Poscosecha.PDF](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/30167/Modulo_30167._Poscosecha.PDF)
- Flores Rojas, K. U. (2009). *Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano*. Universidad de Córdoba.
- González, E., Padilla, S., Reyes, L., Perales de la Cruz, M., & Esquivel, F. (2002). *Guayaba su cultivo en Mexico*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro.
- Gutiérrez Devia, Á. A., Muñoz Flórez, J. E., Belalcázar Martínez, J. E., Ibarra Espinosa, D. M., Caicedo Arana, Á., & Caetano, C. M. (2014). Aplicación de la espectroscopia NIR para la predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba. *Acta Agronómica*, 64(2), 103–109.
- Hernández Gómez, A., He, Y., & García Pereira, A. (2006). Non-destructive measurement of acidity , soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using Vis / NIR-spectroscopy techniques. *Journal of Food Engineering*, 77, 313–319. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.036>
- Lafuente, V. (2013). *Aplicación de las técnicas de Espectroscopia Vis / NIR y de imágenes de retrodifusión de luz láser a la evaluación del estado de madurez de melocotón , manzana*

y cereza. Universidad de Zaragoza.

- Lim, Y. Y., Lim, T. T., & Tee, J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*, *103*(3), 1003–1008. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.038>
- Lu, R., Guyer, D. E., & Beaudry, R. M. (2000). Determination of Firmness and Sugar Content of Apples Using Near-Infrared Diffuse Reflectance. *Journal of Texture Studies*, *31*(6), 615–630. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2000.tb01024.x>
- Mercado Silva, E., Benito Bautista, P., & García Velasco, M. de los A. (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*, *13*(2), 143–150. [http://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00003-9](http://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00003-9)
- Nath, P., Bouzayen, M., Mattoo, A. K., & Pech, J. C. (2014). *Fruit ripening: Physiology, signalling and genomics. Fruit Ripening: Physiology, Signalling and Genomics*. CAB International. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Nicolai, B., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K., & Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*, *46*, 99–118. Retrieved from <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Peirs, A., Scheerlinch, N., Touchant, K., & Nicolai, B. (2002). Comparison of Fourier Transform and Dispersive Near-Infrared Reflectance Spectroscopy for Apple Quality Measurements. *Biosystems Engineering*, *82*(2), 169–176. <http://doi.org/10.1006/bioe.2002.0066>
- Rossi, F., Lendasse, A., François, D., Wertz, V., & Verleysen, M. (2006). Mutual information for the selection of relevant variables in spectrometric nonlinear modelling. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *80*(2), 215–226. <http://doi.org/10.1016/j.chemolab.2005.06.010>
- Saranwong, S., Sornsrivichai, J., & Kawano, S. (2004). Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared

spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2), 137–145.  
<http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.007>

Sun, T., Huang, K., Xu, H., & Ying, Y. (2010). Research advances in nondestructive determination of internal quality in watermelon/melon: A review. *Journal of Food Engineering*, 100(4), 569–577. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.05.019>

Zude, M., Herold, B., Roger, J., Bellon-maurel, V., & Landahl, S. (2006). Non-destructive tests on the prediction of apple fruit flesh firmness and soluble solids content on tree and in shelf life. *Journal of Food Engineering*, 77, 254–260.  
<http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.027>

## VIII. DISCUSIÓN GENERAL

El desarrollo del presente trabajo fue centrado en la evaluación de modelos que permitan predecir los parámetros de calidad interna y externa de frutos de guayaba para su correcta clasificación y comercialización postcosecha, ello mediante tecnologías basadas en propiedades ópticas no destructivas y no invasivas tales como el esparcimiento de luz láser, análisis de imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz láser y espectroscopia Vis/NIR.

El retroesparcimiento de luz láser es una técnica que recientemente se ha implementado en el sector hortofrutícola para correlacionar los parámetros ópticos con los índices de calidad en frutas y hortalizas. Los trabajos desarrollados han arrojado óptimos resultados para la predicción de la firmeza y contenido de sólidos solubles en manzana (Lu, 2004; Qing et al., 2007; Peng and Lu, 2007; Victoria Lafuente et al., 2013), en la determinación del estado de maduración del melocotón rojo (Lleó et al., 2011), la evaluación de la calidad de tomates (Tu et al., 2000), así como para monitorear en daño por frío en plátanos (Hashim et al., 2013).

Por otra parte, para determinar los parámetros fisicoquímicos de calidad particularmente en frutos, la espectroscopia visible y de infrarrojo cercano es uno de los métodos más atractivos que se han implementado debido a que proporcionan una cuantificación simultánea, rápida y no destructiva en la predicción de los componentes internos de frutas y hortalizas: destacando la determinación de acidez, sólidos solubles totales y firmeza en mandarina Satsuma (Hernández Gómez et al., 2006), contenido de clorofila, sólidos solubles totales, firmeza y acidez titulable en manzana (Cubeddu et al., 2001; Peirs et al., 2002; Lu et al., 2000), parámetros de color, densidad, firmeza, materia seca, almidón y contenido de azúcares individuales en mango (Saranwong et al., 2004), firmeza en melocotón (Victoria Lafuente et al., 2014), firmeza, contenido de sólidos solubles totales y acidez en tomate (Shao et al., 2007), así como sólidos solubles en pulpa de guayaba (Gutiérrez Devia et al., 2014), todo ello correlacionado con los espectros Vis/NIR obtenidos.

Considerando lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo de investigación se involucraron como objeto de estudio dos variedades de fruto de guayaba en dos fases experimentales bajo diferentes condiciones de almacenamiento: Guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. “media china” y

“guayaba limón” teniendo como objetivo determinar el estado de maduración a través de parámetros fisicoquímicos haciendo uso de técnicas ópticas no destructivas.

La guayaba es un fruto tropical climatérico con vida postcosecha muy corta limitando la comercialización del producto por lo cual en el Capítulo I se evaluó su comportamiento almacenando frutos a 6, 12, 18 y 23 °C utilizando guayaba cv. “media china” en estado de maduración fisiológica. Los resultados indicaron que los frutos almacenados a 23 °C alcanzaron un almacenamiento máximo de 9 días mostrando un deterioro significativo con pérdida de firmeza de 82 % y un cambio en el color más rápido a diferencia de los frutos almacenados a bajas temperaturas 6 °C y 12 °C donde se observa un retraso el cambio de color y en el proceso de maduración alargando su vida útil a 21 días, sin embargo los frutos almacenados a 12 °C presentaron una mejor apariencia con colores más vivos ( $L = 62.35 \pm 0.66$ ), tendiendo a cambiar de tonos verde – amarillos a alcanzar colores más amarillos ( $\text{hue} = 79.86 \pm 1.03$ ) y en la calidad un aumento en el contenido de sólidos solubles  $12.27 \pm 0.02$  °Brix relacionado con el sabor de los frutos. Kader (2002) indica que la temperatura óptima de almacenamiento para guayabas en estado de maduración verde –maduras es de 8 – 10 °C con una vida potencial de anaquel de dos a tres semanas y para guayabas maduras al ser menos sensibles al daño por frío de 5 – 8 °C con una vida postcosecha igual a una semana. La temperatura de almacenamiento influye en los atributos de la calidad de la guayaba fresca, las bajas temperaturas tienen el beneficio de proteger los atributos de calidad como la textura, color, sabor y aroma, al reducir la velocidad de respiración, la producción de etileno, retardar el proceso de maduración y disminuir la pérdida de agua por transpiración alargando la vida útil del fruto.

Para la predicción de firmeza, el contenido de sólidos solubles totales y color del epicarpio en guayaba cv. “media china” se utilizó la técnica de esparcimiento de luz láser (Capítulo II), usando como fuente de luz un diodo láser de 650 nm y como detectores un arreglo de fotodiodos.

Mediante el uso de esta técnica se pudo predecir la firmeza de los frutos almacenados bajo diferentes condiciones siendo la temperatura de 12 °C la que tuvo mejor correlación  $r = 0.66$  (RMSECV = 12.43 N) debido a que esta temperatura fue la que presentó mejores atributos de calidad, con un proceso de maduración normal en donde sus propiedades fisicoquímicas no se vieron alteradas. Cabe destacar que, si bien la técnica de esparcimiento de luz utilizando una

longitud de onda de 650 nm tuvo una predicción favorable de la firmeza, se observaron que es más adecuado dada la longitud de onda utilizada predecir el color externo de los frutos bajo las mismas condiciones de almacenamiento obteniéndose resultados para los parámetros de luminosidad ( $r = 0.71$  y  $RMSECV = 5.74$ ), saturación ( $r = 0.73$  y  $RMSECV = 2.77$ ) y tono ( $r = 0.88$  y  $RMSECV = 4.42$ ), esto se relaciona a que en la región visible del espectro los principales compuestos absorbentes son los pigmentos: clorofilas, carotenoides y antocianinas en relación con sus sistemas conjugados de doble enlace. Las clorofilas son un pigmento con un anillo de porfirina que en la región central contiene magnesio que es la que se encarga de absorber la luz, y una cadena de fitol. Los carotenoides se caracterizan por una cadena de polieno de 40 carbonos, oxigenada (xantofilas) o no (carotenos).

Mediante la revisión bibliográfica no se encontraron trabajos relacionados con esta técnica para predecir la calidad en frutos frescos, sin embargo, esta técnica ha sido utilizada en alimentos para estudiar sistemas coloidales obteniendo buenos resultados, específicamente se utiliza para determinar la concentración de sólidos en suspensión, así como para determinar el tamaño de partículas en suspensión (Domínguez et al., 2008). De acuerdo a la literatura You et al. (1999) realizó una caracterización molecular de amilopectinas de trigo suspendidos en un medio líquido utilizando el esparcimiento multiángulo de luz láser e índices de refracción, obteniendo el peso molecular promedio del almidón. (Yahuaca et al., 2013) lo implementaron para evaluar el tratamiento térmico alcalino en relación con los cambios estructurales y bioquímicos de los lípidos del maíz; así como (Xin et al., 2006) demostraron que es útil para determinar el contenido de grasa y proteínas en leche.

En lo referente al estudio de guayaba cv. “guayaba limón” (Capítulo III), se trabajó mediante el análisis de imágenes obtenidas por retroesparcimiento utilizando de 4 láseres como fuentes de luz con diferentes longitudes de onda (670, 785, 850 y 905 nm) cabe destacar que dicha metodología ha sido implementada fundamentalmente para frutos de manzana (Lu, 2004; Qing et al., 2007; Peng and Lu, 2007; Victoria Lafuente et al., 2013), melocotón rojo (Lleó et al., 2011) y plátanos (Hashim et al., 2013).

Para el desarrollo de esta investigación los parámetros de firmeza y contenido de sólidos solubles totales de los frutos de guayaba limón se correlacionaron con parámetros ópticos



mediante los histogramas de las imágenes obtenidos aplicando la técnica anteriormente mencionada. Al desarrollar el análisis de componentes principales (PCA) se observó una separación en dos grupos de acuerdo con el estado de maduración de los frutos evaluados particularmente utilizando el láser de 670 nm que la longitud de onda más cercana a la banda de absorción de los pigmentos de clorofila.

Con respecto a la firmeza, se tuvo una predicción aceptable utilizando los parámetros ópticos obtenidos mediante los histogramas de saturación de las imágenes de retroesparcimiento de luz láser, mediante la combinación de los láseres 785, 850 y 905 nm ( $r = 0.71$  y  $RMSECV = 11.33$  N), sin embargo, en lo que respecta al contenido de sólidos solubles los resultados obtenidos no fueron débiles correlacionando los datos con una sola longitud de onda ( $r = 0.28 - 41$  y  $RMSECV = 1.44 - 1.58$  °Brix) y con la combinación de longitudes de los láseres 785, 850 y 905 nm ( $r = 0.50$  y  $RMSECV = 1.45$  °Brix), probablemente se requiera del uso de otras longitudes de onda por encima de 905 nm en el infrarrojo cercano para predecir este parámetro, por lo que se propone continuar estudiando otras fases experimentales para la obtención de modelos de predicción.

En este sentido, en trabajos similares se han utilizado longitudes de onda semejantes, y comparando con lo obtenido, los coeficientes de correlación fueron bajos respecto a firmeza, entre los que destacan: para manzanas (Qing et al., 2007)  $r = 0.88$  y  $SEC = 5.23$  N/cm<sup>2</sup> utilizando el histograma de imágenes obtenidas por 5 longitudes de onda de 680, 780, 880, 940, and 980 nm, Lleó et al. (2009) consideraron los histogramas en un rango de nivel de gris de 36 a 255 para clasificar los melocotones de acuerdo a la firmeza utilizando tres longitudes de onda: 450, 675 y 800 nm, observándose que la firmeza disminuyó mientras que la reflectancia a 675 nm aumentó con un coeficiente de correlación  $r = 0.79$  ( $SEP = 13.7$  N). Para el contenido de sólidos solubles en frutos de guayaba cv. “guayaba limón” las correlaciones fueron bajas con los histogramas de saturación de gris encontrándose diferencias significativas con respecto a las obtenidas por autores como: Peng and Lu (2007)  $r = 0.82$  and  $SECV = 0.92\%$  y los resultados obtenidos por Lu (2004) en manzanas que fue  $r = 0.77$  y  $SEP = 0.78\%$ . utilizando tres longitudes de onda de 880, 905 and 940nm.

En el capítulo IV se aplicó la técnica de espectroscopía visible e infrarroja cercana, a frutos de guayaba cv. “guayaba limón” para la predicción de la firmeza y contenido de sólidos solubles totales en un rango espectral de 350 – 2500 nm. Para la correlación de la espectroscopía con la firmeza y sólidos solubles totales de los frutos se utilizó el rango espectral completo de 400 – 2450 nm y de 750 - 2450 nm, correspondientes a la región del infrarrojo cercano que presenta las bandas de absorción del agua y carbohidratos Gutiérrez Devia et al. (2014), Saranwong et al. (2004), Lu et al. (2000) y Flores Rojas (2009).

Se demostró que la región del infrarrojo cercano 750 – 2450 nm, es la mejor zona para determinar la firmeza: firmeza obtenida mediante compresión ( $r = 0.52$  y  $RMSECV = 7.45$  N), profundidad de penetración ( $r = 0.69$  y  $RMSECV = 0.75$  N) y dureza mediante TPA ( $r = 0.57$  y  $RMSECV = 12.93$  N) siendo mejores los resultados en comparación con lo obtenido por Lu et al. (2000) para la determinación de firmeza en manzanas ( $r = 0.38$  a  $0.58$  y  $SEP = 6.6$  a  $10.1$  N) e inferiores con lo reportado por Qing et al. (2007) ( $r = 0.90$  y  $\% SECV = 5.49$ ). El mejor resultado en la predicción de los sólidos solubles totales en frutos de guayaba fue utilizando el rango espectral de 700 – 2450 nm ( $r = 0.59$  y  $RMSECV = 1.32$  °Brix); estos datos fueron inferiores con lo reportado por otros autores para diferentes frutos. Shao et al. (2007) utilizó un rango de 400 – 2350 nm y obtuvo excelentes correlaciones para predecir los sólidos solubles totales en tomate ( $r = 0.9$  y  $SEP = 0.19$  °Brix), Lu et al. (2000) en manzanas utilizando un rango de 700 – 1800 nm ( $r = 0.93$  a  $0.97$  y  $SEP = 0.37$  a  $0.42$  °Brix) y Lafuente et al. (2013) para la predicción del contenido de sólidos solubles en cereza en un rango de 700 – 2450 nm  $r = 0.98$  y  $SECV = 1.3$  °Brix . Al estudiar e implementar en este trabajo las técnicas no destructivas se pudo comprobar que dichas técnicas son capaces de determinar los parámetros de calidad relacionados con el estado de maduración de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.).

Las técnicas no destructivas mostraron una correlación con el parámetro de firmeza para su predicción, siendo la espectroscopia NIR la que proporciona mejores resultados al comprender un rango de longitudes de ondas que están estrechamente relacionadas con la firmeza de los frutos referidas a bandas de absorción de agua y carbohidratos. Por el contrario, la técnica de esparcimiento de luz láser otorga una buena clasificación de acuerdo al color externo y predicción de la firmeza de los frutos de manera sencilla y económica utilizando desde una

longitud de onda en la región visible hasta múltiples longitudes que abarquen el infrarrojo cercano.

Figura 27 Comparación entre las técnicas no destructivas evaluadas

Técnica	Registro gráfico	Rango espectral	Costo	Determinación	Correlación calibración / validación	Raíz cuadrada del error medio de validación RMSECV	Ventajas	Desventajas
Espectroscopía Vis/NIR	Espectros de reflexión	400 – 700 nm	10000 - 80000 dls	Contenido de pigmentos: clorofila, carotenos			* Multivariable al tener capacidad de predicción de características químicas y físicas	* Alto costo de inversión inicial
		750 -2450 nm		Calidad interna: firmeza, sólidos solubles	* Firmeza: r = 0.73 / 0.62 * SST: r = 0.68 / 0.59	* Firmeza: 0.75 N * SST: 1.32 °Brix	* Obtención rápida de datos (< 1 min) * Mejora en relación señal/ruido	
Esparcimiento de luz láser	Patrones de esparcimiento	650 nm	150 dls	Calidad externa: color y/o contenido de pigmentos	* Firmeza: r = 0.73 / 0.66 * Hue r = 0.93 / 0.88	* Firmeza : 12.43 N * Tono: 4.42	* Clasificación de frutos en línea * Económicos	* No alcanzan a observar interior de la fruta
		670 nm	€ 125					
Retroesparcimiento de luz láser	Imágenes monocromáticas	785, 850 y 905 nm	€ 375	Firmeza y contenido de sólidos solubles	* Firmeza: r = 0.7 / 0.69 * SST : r = 0.61 / 0.50	* Firmeza: 11.33 N * SST: 1.45 °Brix	* Estimación de calidad interna de frutos * Menor precio de adquisición	* Menor precisión que NIR

## **IX. PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES**

De acuerdo con los resultados obtenidos, las técnicas no destructivas muestran resultados prometedores en la estimación de los parámetros de firmeza, sólidos solubles totales y color de los frutos de guayaba por lo que se recomienda:

- ~ Desarrollar los modelos no lineales como la máquina de vectores de soporte de mínimos cuadrados (LS-SVM) para observar si existe mejor capacidad predictiva y realizar la validación externa de los datos.
- ~ Se requiere incrementar la información de los datos de los ensayos destructivos para los parámetros fisicoquímicos mediante la ampliación de muestreo a nuevas fases experimentales, utilizar diferentes variedades de guayaba e índices de maduración para verificar si las técnicas no destructivas son capaces de clasificar o predecir la calidad de los frutos de guayaba mediante los parámetros ópticos.
- ~ De acuerdo con los resultados obtenidos para las técnicas no destructivas, referente al esparcimiento de luz láser (LLS) se requiere profundizar en la aplicación de otros emisores de láser con distintas longitudes de onda que pudieran presentar mejoras en la predicción de la calidad interna de frutos de guayaba. Evaluar otros parámetros como diámetro de Feret y área de las imágenes obtenidas por retroesparcimiento de luz láser y seleccionar diferentes longitudes de onda de los espectros obtenidos por espectroscopía Vis/NIR para observar si existe mejoras en las correlaciones con su estado de maduración.
- ~ Evaluar el efecto de la temperatura sobre las capacidades predictivas de los modelos obtenidos de las técnicas no destructivas.

## X. BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

- Angón, P., Santos, N. F., & Hernández, C. G. (2006). Índices para la determinación de las condiciones óptimas de maduración de un fruto. *Temas de Ciencia Y Tecnología*, 10(30), 3–8.
- Bashir, H. A., Bark, A., & Goukh, A. (2003). Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 80, 557–563.
- Chen, P., & Sun, Z. (1991). A review of non-destructive methods for quality evaluation and sorting of agricultural products. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 49, 85–98. [http://doi.org/10.1016/0021-8634\(91\)80030-I](http://doi.org/10.1016/0021-8634(91)80030-I)
- Cubeddu, R., D'Andrea, C., ... Johnson, D. (2001). Time-Resolved Reflectance Spectroscopy Applied to the Nondestructive Monitoring of the Internal Optical Properties in Apples. *Society for Applied Spectroscopy*, 55(10), 1368–1374.
- Domínguez, L. A. (2011). *Propagación in vitro de selecciones de guayabo (Psidium guajava L.) y su respuesta a hormonas y periodos de cultivo*. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas Campus Montecillo.
- González, E., Padilla, S., Reyes, L., Perales de la Cruz, M., & Esquivel, F. (2002). *Guayaba su cultivo en México*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro.
- González Araiza, J. R. (2014). *Impedancia bio-eléctrica como técnica no destructiva para medir la firmeza de la fresa (Fragaria x ananassa Duch) y su relación con técnicas convencionales*. Universidad Politécnica de Valencia.
- González Durán, E. D. (2013). *Recolección, transporte, almacenamiento y acondicionamiento de la fruta*. IC Editorial.
- Gregorio, M. P. (2014). *Métodos ópticos para establecer la madurez de cerezas*. Universidad Zaragoza.
- Gutiérrez Devia, Á. A., Muñoz Flórez, J. E., Belalcázar Martínez, J. E., Ibarra Espinosa, D. M., Caicedo Arana, Á., & Caetano, C. M. (2014). Aplicación de la espectroscopia NIR para la

- predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba. *Acta Agronómica*, 64(2), 103–109.
- Hashim, N., Pflanz, M., ... Zude, M. (2013). An approach for monitoring the chilling injury appearance in bananas by means of backscattering imaging. *Journal of Food Engineering*, 116(1), 28–36. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.11.018>
- Hernández Gómez, A., He, Y., & García Pereira, A. (2006). Non-destructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using Vis / NIR-spectroscopy techniques. *Journal of Food Engineering*, 77, 313–319. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.036>
- Kader, A. A. (2002). Maturation and Maturity Indices. In *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (Third, pp. 1–535). UCANR Publications.
- Lafuente, V., Herrera, L. J., Pérez, M. del M., Val, J., & Negueruela, I. (2014). Firmness prediction in *Prunus persica* “Calrico” peaches by visible/short-wave near infrared spectroscopy and acoustic measurements using optimised linear and non-linear chemometric models. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(10), 2033–2040. <http://doi.org/10.1002/jsfa.6916>
- Lafuente, V., Val, J., Urzola, C., & Negueruela, I. (2013). Determination of quality parameters in apple “Smoothie Golden Delicious” using backscattering laser imaging. *Proceedings of the SPIE*, 8785, 8785DO–1–8785DO–6. <http://doi.org/10.1117/12.2026376>
- León, C. A. (2001). *Factibilidad de desarrollo de un método no destructivo para detectar madurez en el fruto pasta (Pera americana mill)*. Universidad Austral de Chile.
- Lleó, L., Barreiro, P., Ruiz-Altisent, M., & Herrero, A. (2009). Multispectral images of peach related to firmness and maturity at harvest. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 229–235. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.028>
- Lleó, L., Roger, J. M., Herrero-Langreo, A., Diezma-Iglesias, B., & Barreiro, P. (2011). Comparison of multispectral indexes extracted from hyperspectral images for the assessment of fruit ripening. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 612–620. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.01.028>

- Lu, R. (2004). Multispectral imaging for predicting firmness and soluble solids content of apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2), 147–157. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.006>
- Lu, R., Guyer, D. E., & Beaudry, R. M. (2000). Determination of Firmness and Sugar Content of Apples Using Near-Infrared Diffuse Reflectance. *Journal of Texture Studies*, 31(6), 615–630. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2000.tb01024.x>
- Maldonado, N. E. (2011). *Métodos para la determinación de maduración en variedades de guayaba (Psidium guajava L.)*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Mondragón, C., Toriz, L. M., & Guzmán, S. H. (2009). Caracterización de selecciones de guayaba para el Bajío de Guanajuato, México. *Agricultura Técnica En México*, 35, 315–322.
- Ochse, J. J., Soule, M. J., Dijkman, M. J., & Wehlburg, C. (1986). *Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales*. (E. Limusa, Ed.).
- Pedersen, D. K., & Engelsen, S. B. (2001). Monitoring Industrial Food Processes Using Spectroscopy & Chemometrics. *New Food*, (2), 9–13.
- Peirs, A., Scheerlinch, N., Touchant, K., & Nicolaï, B. (2002). Comparison of Fourier Transform and Dispersive Near-Infrared Reflectance Spectroscopy for Apple Quality Measurements. *Biosystems Engineering*, 82(2), 169–176. <http://doi.org/10.1006/bioe.2002.0066>
- Peng, Y., & Lu, R. (2007). Prediction of apple fruit firmness and soluble solids content using characteristics of multispectral scattering images. *Journal of Food Engineering*, 82, 142–152. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.12.027>
- Perales de la Cruz, M. A., Padilla, J. S., González, E., & Reyes, H. R. (2005). Manual para la producción integral del cultivo de la guayaba. Aguascalientes: Consejo Nacional Mexicano de la guayaba, A.C.
- Qing, Z., Ji, B., & Zude, M. (2007). Predicting soluble solid content and firmness in apple fruit by means of laser light backscattering image analysis. *Journal of Food Engineering*, 82,

58–67. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.016>

Ruiz-Altisent, M., Ruiz-Garcia, L., ... García-Ramos, J. (2010). Sensors for product characterization and quality of specialty crops-A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 74(2), 176–194. <http://doi.org/10.1016/j.compag.2010.07.002>

SAGARPA/SIAP. (2009). Reporte 2009 Producción Agrícola de Guayaba por Estados.

SAGARPA/SIAP. (2010). Reporte 2010 Producción Agrícola de Guayaba por Estados.

SAGARPA/SIAP. (2011). Reporte 2011 Producción Agrícola de Guayaba por Estados.

SAGARPA/SIAP. (2012). Reporte 2012 Producción Agrícola de Guayaba por Estados.

SAGARPA/SIAP. (2013). Reporte 2013 Producción Agrícola de Guayaba por Estados.

SAGARPA/SIAP. (2014). Reporte 2014 Producción Agrícola de Guayaba por Estados.

SAGARPA/SIAP. (2016). Reporte cierre 2016 producción agrícola de guayaba en Michoacán. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.

Saranwong, S., Sornsrivichai, J., & Kawano, S. (2004). Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2), 137–145. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.007>

Shao, Y., He, Y., Gómez, A. H. ., Pereir, A. G. ., Qiu, Z., & Yun, Z. (2007). Visible / near infrared spectrometric technique for nondestructive assessment of tomato “ Heatwave ” ( *Lycopersicum esculentum* ) quality characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*, 81, 672–678. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.12.026>

Torres, J. (2014). *Biodesinfección del suelo y uso de Pochonia chlamydosporia en el manejo de Meloidogyne arenaria en el cultivo de guayabo en el oriente de Michoacán*. Colegio de Postgraduados.

Tu, K., Jancsó, P., Nicolai, B., & De Baerdemaeker, J. (2000). Use of laser-scattering imaging to study tomato-fruit quality in relation to acoustic and compression measurements. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(5), 503–510. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00407.x>



- USDA. (2016). Natural Resources Conservation Service.
- Xin, Q., Zhi Ling, H., Jian Long, T., & Zhu, Y. (2006). The rapid determination of fat and protein content in fresh raw milk using the laser light scattering technology. *Optics and Lasers in Engineering*, 44(8), 858–869. <http://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2005.02.007>
- Yahuaca, B., Huerta, J. A., & Martínez, H. E. (2013). *Optimización del proceso térmico-alcalino en función de las transformaciones inducidas en los lípidos del maíz evaluadas con técnicas ópticas y fisicoquímicas*. Instituto Politecnico Nacional.
- Yam Tzec, J. A., Villaseñor Perea, C. A., Kriuchkova Romantchik, E., Soto Escobar, M., & Peña Peralta, M. Á. (2010). Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 19(4), 74–82.
- You, S., Fiedorowicz, M., & Lim, S.-T. (1999). Molecular Characterization of Wheat Amylopectins by Multiangle Laser Light Scattering Analysis. *Cereal Chemistry Journal*, 76(1), 116–121. <http://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.1.116>

# XI. ANEXO I ESPARCIMIENTO DE LUZ LÁSER DETECTADO POR EL ARREGLO DE FOTODIODOS

Temperatura de almacenamiento 6 °C

Detector	Fase Experimental No. 1												Fase Experimental No. 2											
	Tiempo (días)												Tiempo (días)											
	0	3	6	9	12	15	18	21	0	3	6	9	12	15	18	21								
1	3.64	1.32	1.83	1.23	3.7	5.73	3.69	5.91	1.11	3.93	2.37	1.06	2.92	3.87	1.55	1.11								
2	3.35	1	1.71	1.63	3.67	2.29	1.88	2.3	1.24	1.85	0.4	0.74	1.29	3.53	1.15	1.24								
3	1.46	1.38	4.49	1.39	8.07	2.01	1.97	2.3	1.9	2.87	0.86	1.01	2.51	4.03	2.15	1.9								
4	8.19	3.01	18.81	4.15	26.02	5.81	4.64	4.89	5.76	6.16	5.15	3.17	4.02	3.91	4.3	5.76								
5	20.55	15.29	0	23.12	17.07	25.71	25.51	25.74	25.93	26.06	25.95	25.94	26.07	25.99	26.09	25.93								
6	12.29	0	11.26	1.62	25.64	0.92	0.14	0.63	3.49	4.47	2.37	2.73	4.05	6.18	3.79	3.49								
7	17.3	7.81	4.8	21.05	23.75	25.15	25.04	25.16	25.04	23.85	25.3	25.51	24.16	21.08	24.97	25.04								
8	17.91	2.83	4.53	5.34	9.16	12.82	11.69	8.1	4.87	5.35	2.94	3.87	4.36	6.01	4.37	4.87								
9	10.88	4.06	3.82	6.57	11.51	5.7	5.3	5.27	11.97	13.39	10.12	9.67	12.01	14.14	10.75	11.97								
10	7.08	2.26	1.47	5.75	16.46	4.61	2.37	3.37	0.99	1.26	0.18	0.27	1.17	2.93	1.06	0.99								
11	11.94	1.34	1.91	1	3.68	1.79	1.41	1.56	9.15	10.79	7.55	7.98	8.64	6.02	8.77	9.15								
12	1.78	1.27	0.36	0.35	2.75	1.08	1.11	1.8	0.58	0.81	0	0.04	0.8	1.33	0.3	0.58								
13	3.28	0.75	3.45	0.57	12.81	2.95	1.01	1.49	2.5	3.65	0.83	1.08	3	6.01	2.45	2.5								
14	15.34	5.18	2.57	5.53	15.64	5.73	5.29	4.83	3.42	4.46	1.62	2.1	4.16	6.23	3.43	3.42								
15	16.22	2.87	2.39	1.99	16.08	3.35	3.66	3.99	3.59	4.61	2.02	2.52	4.48	5.94	3.48	3.59								
16	17.97	2.36	0	1.7	0	2.47	2.4	2.21	1.27	1.68	0.78	1.12	1.99	4.17	2.29	1.27								



Temperatura de almacenamiento 18 °C

Detector	Fase Experimental No. 1															Fase Experimental No. 2														
	Tiempo (días)															Tiempo (días)														
	0	3	6	9	12	15	0	3	6	9	12	15	0	3	6	9	12	15												
1	9.55	19.13	19.73	31.09	11.53	20.24	11.26	9.77	9.32	9.99	10.08	9.89	11.26	9.77	9.32	9.99	10.08	9.89												
2	5.16	4.11	5.63	12.07	5.4	5.32	6.58	7.86	6.82	6.79	5.88	6.55	6.58	7.86	6.82	6.79	5.88	6.55												
3	22.53	20.48	20.33	25.35	11.99	22.66	17.21	17.25	15.93	15.69	15.23	15.66	17.21	17.25	15.93	15.69	15.23	15.66												
4	0.38	1.45	1.76	31.13	1.87	1.5	0.77	0.98	1.09	1.13	0.78	2.14	0.77	0.98	1.09	1.13	0.78	2.14												
5	21.72	18.36	23.2	14.95	16.18	24.71	21.01	18.77	18.36	18.08	18.44	18.91	21.01	18.77	18.36	18.08	18.44	18.91												
6	26.2	23.5	25.37	20.35	23.97	26.32	21.04	22.3	23.4	22.56	23.01	24.47	21.04	22.3	23.4	22.56	23.01	24.47												
7	20.1	20.26	21.23	17.33	19.37	22.81	16.03	16.4	15.99	15.72	15.75	16.17	16.03	16.4	15.99	15.72	15.75	16.17												
8	0.41	2.75	3.4	17.47	2.42	1.63	0.98	1.03	0.95	0.91	0.48	2.15	0.98	1.03	0.95	0.91	0.48	2.15												
9	26.96	28.14	29.22	26.86	20.15	27.85	24.28	25.88	26.73	25.91	25.59	25.8	24.28	25.88	26.73	25.91	25.59	25.8												
10	31.13	31.13	31.13	26.11	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13	31.13												
11	30.84	30.67	30.63	31.13	30.53	30.98	31.13	30.39	30.85	30.36	30.63	31.13	31.13	30.39	30.85	30.36	30.63	31.13												
12	0.07	1.09	1.53	25.99	1.52	1.13	0.59	0.63	0.67	0.73	0.43	1.7	0.59	0.63	0.67	0.73	0.43	1.7												
13	0.31	1.54	2.1	12.91	1.86	1.47	1.39	0.82	0.85	0.88	0.5	1.92	1.39	0.82	0.85	0.88	0.5	1.92												
14	1.33	3.59	4.05	12.67	3.78	3.02	2.36	2.61	3.17	3.29	3.13	3.53	2.36	2.61	3.17	3.29	3.13	3.53												
15	3.85	8.13	8.78	21.2	7.83	6.59	5.3	7.08	8.56	8.12	7.63	7.03	5.3	7.08	8.56	8.12	7.63	7.03												
16	0.82	3	3.52	31.13	2.63	1.72	1.13	1.44	1.54	1.4	1.19	2.21	1.13	1.44	1.54	1.4	1.19	2.21												

Temperatura de almacenamiento 23 °C

Detector	Fase Experimental No. 1									Fase Experimental No. 2								
	Tiempo (días)									Tiempo (días)								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	0	3	6	9	12	15	18	21	24
1	26.08	28.44	18.01	16.15	29.83	31.13	30.27	28.68		29.83	31.13	30.27	28.68					
2	30.49	27.88	19.94	6.93	29.66	31.13	29.81	27.49		29.66	31.13	29.81	27.49					
3	0	0.22	13.11	17.92	29.76	31.13	30.2	28.73		29.76	31.13	30.2	28.73					
4	31.13	28.35	18.5	1.86	29.64	31.13	30.07	28.65		29.64	31.13	30.07	28.65					
5	13.99	26.37	8.61	18.26	29.69	31.13	30.22	28.77		29.69	31.13	30.22	28.77					
6	3.97	25.59	21.08	24.88	29.58	31.08	29.7	28.44		29.58	31.08	29.7	28.44					
7	12.03	26.3	11.29	19.33	29.63	31.13	30.06	19.57		29.63	31.13	30.06	19.57					
8	10.94	26.9	28.5	3.2	29.52	31.12	29.99	19.54		29.52	31.12	29.99	19.54					
9	20.76	28.35	30.46	25.62	29.87	31.13	30.39	29.87		29.87	31.13	30.39	29.87					
10	22.29	25.02	29.23	31.13	29.76	31.13	30.29	28.88		29.76	31.13	30.29	28.88					
11	31.13	27.2	23.59	31.13	29.49	31.13	29.77	26.47		29.49	31.13	29.77	26.47					
12	27.24	18.69	20.44	1.61	28.83	30.58	29.15	27.81		28.83	30.58	29.15	27.81					
13	12.47	27.4	17.8	2.2	29.54	31.13	30.04	28.53		29.54	31.13	30.04	28.53					
14	8.3	25.98	22.81	4.14	29.75	31.13	30.27	28.7		29.75	31.13	30.27	28.7					
15	20.19	22.61	31.12	8.95	29.73	31.13	30.42	19.87		29.73	31.13	30.42	19.87					
16	31.13	28.46	27.05	3.31	29.61	31.11	30	26.56		29.61	31.11	30	26.56					

## XII. ANEXO II PRUEBA DE SIGNIFICACIÓN DEL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN

Una vez calculado el valor del coeficiente de correlación interesa determinar si el valor obtenido muestra que las variables X y Y están relacionadas entre sí o tan solo presentan dicha relación como consecuencia del azar ( $\rho = 0$ ).

Por lo cual se utiliza una prueba t de Student con  $n - 2$  grados de libertad donde:

- $H_0: r_{XY} = 0$  El coeficiente de correlación obtenido procede de una población cuya correlación es cero ( $\rho = 0$ )
- $H_A: r_{XY} \neq 0$  El coeficiente de correlación obtenido procede de una población cuya correlación es diferente cero ( $\rho \neq 0$ )

$$t_{calculado} = \frac{r_{xy} - 0}{\sqrt{\frac{1 - r_{xy}^2}{n - 2}}}$$

$t_{calculado} > t_{(\alpha, N-2)}$  se rechaza hipótesis nula. La correlación obtenida no procede de una población cuya correlación es 0 ( $\rho = 0$ ). Por lo tanto, las variables están relacionadas.

$t_{calculado} \leq t_{(\alpha, N-2)}$  Se acepta hipótesis nula. La correlación obtenida procede de una población cuyo coeficiente de correlación es distinto de cero ( $\rho \neq 0$ ). Por lo tanto, ambas variables no están relacionadas tan sólo presentan dicha relación como consecuencia del azar.