

PROYECTO DE INVESTIGACION (Registro FIA N° 4/86)

" APLICACION DE ANHIDRIDO SULFUROSO, NIVELES DE CONTROL DE
Botrytis cinerea Y RESIDUOS RESULTANTES EN CULTIVARES
DE UVA DE MESA DE EXPORTACION "

Director Proyecto : L. Antonio Lizana M.
Coordinador Area Postcosecha : Horst Berger S.
Coordinador Area Química : Carlos Silva P.
Coordinador Area Fitopatología : Jaime Auger S.

Colaboradores : Ljubica Galletti G.
Marcela Esterio G.
Jaime Montealegre A.
Antonio Rustom J.
Isabel Pérez de Castro M.
Giancarlo Zapata F.
Alberto Popper J.

" Aplicación de anhídrido sulfuroso, niveles de control de Botritys cinerea y residuos resultantes en cultivares de uva de mesa de exportación "

Sumario Ejecutivo de la Investigación

Patrocinante: Fondo de Investigación Agropecuaria, FIA, Ministerio de Agricultura.

Ejecutor : Corporación Privada de Desarrollo de las Ciencias Agropecuarias, CODECIAGRO, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile.

Presentación general :

En Diciembre de 1986, la Fundación Fondo de Investigación Agropecuaria, FIA, que preside el Ministro de Agricultura, don Jorge Prado Aránguiz resolvió llamar a licitación para la ejecución del proyecto " Aplicación de anhídrido sulfuroso (SO_2), niveles de control de Botritys Cinerea y residuos resultantes en cultivares de uva de mesa de exportación", a fin de establecer en forma clara una serie de incógnitas en la aplicación del SO_2 y sus efectos reales en el control de Botritys cinerea y los posibles residuos en la baya comestible.

En Enero de 1987, el FIA adjudicó la ejecución del proyecto a la propuesta presentada por la Corporación Privada de Desarrollo de las Ciencias Agropecuarias, CODECIAGRO, de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Chile, siendo jefe del proyecto el ingeniero agrónomo , doctor en fisiología de post-cosecha, señor Antonio Lizana M.; y coordinadores de las áreas de postcosecha, química, y fitopatología, los señores Horst Berger S., Carlos Silva P., y Jaime Auger S., respectivamente.

Los objetivos del proyecto fueron :

- 1.- Determinar los niveles, y su permanencia, de los residuos de anhídrido sulfuroso (SO_2) en, al menos, cinco cultivares de uva de mesa.
- 2.- Estudiar los factores que influyen en la absorción diferencial de anhídrido sulfuroso.
- 3.- Implementación de sistemas de análisis de residuos de SO_2 según metodología y diseño descrito por Monier y Williams.
- 4.- Diseño de un sistema de pronóstico de las pudriciones en uva de mesa, basado en la evolución de la infección durante el desarrollo del racomo bajo condiciones controladas y la infección final de almacenaje refrigerado en post-cosecha.
- 5.- Estimación de la efectividad de diferentes dosis de SO_2 bajo distintas condiciones de infección y almacenaje.
- 6.- Estimación de la efectividad del SO_2 in vitro e in vivo .

Desarrollo de la investigación.

Considerando que la expansión de la exportación de la uva de mesa depende en gran medida del generador de SO_2 , que el mercado principal, EE.UU., ha dispuesto que sólo se acepta un límite máximo de 0,5% de bayas infectadas con botritis, o sea, 8 bayas por caja, y que el residuo de SO_2 provisorio máximo permitido es de 10 ppm en uva, se diseñaron seis ensayos que permitieran efectuar un pronóstico de pudriciones, estimar la efectividad de diferentes dosis de SO_2 y gasificación de preembalaje, y efectividad de diferentes dosis de SO_2 sobre esporas del hongo en uvas de mesa. Por otro lado, se evaluó la temperatura de la fruta en la aplicación de SO_2 y la capacidad de absorción de SO_2 en cinco variedades de uva de mesa con el objeto de determinar los niveles de residuos que permanecen en las bayas.

Los resultados permitieron determinar que:

A mayor porcentaje de infección en plena flor, mayor es el porcentaje de pudrición en postcosecha. La infección de plena flor se manifiesta en la cosecha y en el período de postcosecha y se conoce como infección endógena. Los generadores de SO_2 permiten controlar la botritis exógena o superficial retardando la infección endógena. Con los resultados y la ecuación de regresión obtenida en este estudio se puede pronosticar el nivel de infección en postcosecha. De acuerdo a estos resultados, el control o prevención de la infección en plena flor es fundamental para obtener una uva sana en la cosecha y por consecuencia con bajo nivel de infección endógena.

Las dosis de SO_2 utilizada en las gasificaciones de preembalaje (0,25 y 0,5%) resultaron ser efectivas en el control de pudriciones de B. cinerea en postcosecha, no detectándose diferencias significativas entre éstas con los diferentes niveles de infección (dosis de inóculo). Por lo tanto, al utilizar dosis de SO_2 más altas a 0,25% (0,5%) en el período de preembalaje, no asegurará un control más eficiente de las pudriciones, dependiendo éste exclusivamente del nivel de infección endógena presente en la fruta. A medida que transcurre el tiempo de almacenaje, la incidencia de la temperatura en la condición fitosanitaria de la uva adquiere mayor relevancia. Es así como, el nivel de infección y las dosis de los tratamientos de SO_2 no mostraron diferencias entre sí cuando la uva se almacena a 5°C .

Es por esto último que la eficiencia de un tratamiento de SO_2 en postcosecha estuvo directamente relacionado con la temperatura de almacenaje, y ésta debería ser durante todo el período de transporte y almacenaje igual a 0°C . Así mismo, es importante señalar que gasificaciones de preembalaje con las dosis utilizadas en este estudio (0,25% y 0,5% de SO_2) no mostraron niveles residuales superiores a 2,1 ppm del gas en la fruta.

Cuando se utilizaron concentraciones bajas de SO_2 (2 y 5 ppm, gasificaciones IN VITRO), la efectividad del tratamiento dependió del estado de desarrollo de la espora, siendo más sensibles a la acción del gas las con mayor tiempo de incubación. A concentraciones más altas de gas (12 ppm), el factor de desarrollo de la espora tiene menor importancia debido a que la sensibilidad de la espora al gas es igual tanto a las 0 como a las 6 y 12 horas de incubación. Por lo tanto, bajo las condiciones de este ensayo la dosis de 12 ppm es la más efectiva para controlar Botritis en diferentes estados de desarrollo.

La cantidad de residuo de SO_2 encontrado en las bayas estuvo en

relación directa, aunque no proporcional, con la cantidad de generadores de SO_2 utilizados, observándose que a mayor tiempo de exposición al gas de SO_2 del generador aumentaron los residuos en la fruta alcanzando un máximo en este estudio a los 28 días. Con posterioridad a 35 días, los residuos detectables para todas las dosis fueron menores.

Se determinó que en el momento de realizar los análisis de residuo, después de retirar la fruta del frío y retirar el generador de SO_2 , hay un aumento en la cantidad de residuos detectables, y al mismo tiempo, se observa una dispersión de valores, especialmente al cabo de 21 días, con niveles cercanos a 10 ppm. Por otro lado, los residuos detectados en los escobajos son diez veces más altos que los de las bayas, lo que debe ser considerado ante la eventualidad de un análisis en conjunto de los racimos.

Se observó también que la mayor o menor absorción de SO_2 por parte de las bayas estuvo en función de la temperatura en que se encontraba la fruta al momento de la gasificación o exposición al gas. El descenso de la temperatura una vez gasificada a una cierta dosis, no influye en la cantidad de residuo detectable.

Las distintas variedades de uva de mesa retuvieron el anhídrido sulfuroso en cantidades ligeramente diferentes, debido a distintas velocidades de absorción y a que la disipación fue fluctuante una vez liberados de la acción del gas. Del estudio de los azúcares se desprendió que dentro del rango de madurez, expresado en sólidos solubles, con que se exporta la uva de mesa, los residuos que se pueden esperar no varían fundamentalmente.

En conclusión, se pudo establecer que, con un buen manejo del huerto que permita un bajo nivel de Botrytis endógena, cosecha con

madurez adecuada, uso de temperaturas bajas y sostenidas en postcosecha y uso de 1/2 generador por caja de 5 kg de uva, se puede cumplir con la norma de niveles de residuo de SO₂ inferiores a 10 ppm y llegar a los mercados en condiciones sanitarias adecuadas.

I N D I C E

	Pág.
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	6
Materiales	6
Metodología	9
PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS	19
CONCLUSIONES	54
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57
ANEXO 1. Gasificación de preembalaje	57
ANEXO 2. Evaluación combinaciones de temperatura y gasificación	59
ANEXO 3. Métodos físico-químicos	60
ANEXO 4. Evaluación de los tratamientos, en cuatro oportunidades	66
ANEXO 5. Características físico-químicas de compues tos sulfurosos	70
ANEXO 6. Usos y aplicaciones agroindustriales del anhídrido sulfuroso	74

INTRODUCCION

Las exportaciones de uva de mesa representan uno de los valores más altos en el total de las exportaciones de fruta fresca. Durante la temporada 1986-87 el volumen de uva exportada superó los 31 millones de cajas, teniendo como principal destino a Estados Unidos, que adquiere más del 70% de la producción chilena. La principal variedad de uva de exportación de nuestro país es la Sultanina, que se exporta en más de un 75% de su producción al mercado de Estados Unidos, el 40% de la producción de Ribier y el 93% de la variedad Flame Seedless.

Por disposiciones de este mercado, están en vigencia dos restricciones que afectan directamente a la uva de mesa chilena: 1) Un límite máximo de 0,5% de bayas infectadas de botritis, o sea, 8 bayas por caja, y 2) La restricción al uso de generadores de SO_2 , elemento que previene el desarrollo de botritis en las cajas de uva, permitiéndose provisoriamente un residuo máximo de 10 ppm (partes por millón) de SO_2 en la uva.

A raíz de estos antecedentes, las agencias protectoras de la salud en USA realizan análisis de residuo al arribo de la uva a puertos de entrada al país.

Chile pudo expandir su industria de uva de mesa, debido en gran medida al avance tecnológico del generador de SO_2 . Las exportaciones se han multiplicado más de 6 veces durante los últimos años gracias a la tecnología de este papelillo, que libera anhídrido sulfuroso durante el período de navegación y almacenaje de la uva. Los volúmenes de uva exportados durante las últimas temporadas no podrían llegar a destino, sin sufrir serios daños de pudrición por botritis,

si no se utilizaran los generadores de SO₂.

Actualmente, Estados Unidos se encuentra estudiando a través de EPA (Environmental Protection Agency) la condición residual de SO₂ en la uva de mesa, por lo que el SO₂ ya no es un producto considerado inocuo para el ser humano y se esperan distintas disposiciones restrictivas a su uso.

Resulta claro que no se podrá usar a futuro altas concentra- ciones de SO₂ en uva de mesa, de aquí que resulta importante un co- nocimiento más detallado del efecto de bajos niveles de SO₂ sobre el desarrollo de pudriciones por botritis.

Por otro lado, los generadores de SO₂ permiten controlar úni- camente la botritis exógena o superficial, retardando solamente la infección endógena; por esta razón, resulta indispensable la refri- geración de la uva para mantener la inactividad del patógeno endóge- no.

Considerando los antecedentes señalados, este trabajo tiene como objetivo general, estudiar sistemas de prevención y control de pudriciones de botritis y conocer la dinámica de absorción y libera- ción del anhídrido sulfuroso. Para lograr este objetivo general se plantearon varios objetivos específicos que a continuación se seña- lan:

- 1° Diseñar un sistema de pronóstico de pudriciones causadas por Botrytis cinerea en uva de mesa de exportación, basado en la evolución de la infección durante el desarrollo del racimo, ba- jo condiciones de campo y su relación con la infección final presente después del almacenaje refrigerado en postcosecha.

- 2° Estimación de la efectividad de diferentes dosis de SO_2 , gasificación de pre-embalaje, bajo distintas condiciones de infección y almacenaje.
- 3° Estudiar el efecto de diferentes dosis de anhídrido sulfuroso en Botrytis cinerea sobre esporas en distintos estados de germinación IN VITRO.
- 4° Determinar los residuos de anhídrido sulfuroso detectado en bayas inmediatamente después de distintos períodos de almacenaje bajo la presión de diferentes dosis de gas, y el nivel existente una vez que la uva se libera de la presión del gas.

Existiendo la posibilidad de colocar en las cajas de uva de exportación mayor o menor cantidad de generadores de gas, se hace necesario determinar la cantidad de SO_2 presente en las bayas como consecuencia de la mayor o menor presión de gas derivada de los generadores.

El transporte marítimo presenta períodos variables de tiempo, lo que significa que la uva está expuesta al anhídrido sulfuroso por mayor o menor tiempo, haciéndose necesario conocer la acumulación de SO_2 en la baya para cada caso.

La determinación inmediata, después del almacenaje, corresponde a la determinación que se efectuaría al momento de la descarga de la uva de los buques.

Como el análisis de la uva en su destino puede ser realizado después de salir del almacenaje refrigerado e incluso a nivel de supermercado, es necesario determinar la liberación del gas una vez retirado el generador. Esta liberación de gas se evaluó considerando las variables mencionadas en los objetivos

siguientes (tiempo de exposición al gas, dosis del mismo, contenido de azúcar de la baya y las variedades de uva).

- 5° Determinar la relación del contenido de azúcar de las bayas y la capacidad acumulativa de residuos de anhídrido sulfuroso de las mismas después de haber sido sometidas a una presión constante del anhídrido sulfuroso.

Como en la práctica se exportan uvas con distintos contenidos de azúcar y la absorción de anhídrido sulfuroso está en función de la cantidad de azúcar (7) se procedió a determinar los residuos de SO_2 en bayas agrupadas según sus distintos niveles de azúcar.

- 6° Determinar la relación de la temperatura de aplicación de SO_2 y de conservación de la uva y la capacidad de absorción de anhídrido sulfuroso por parte de las bayas mediante la medición de residuos.

Debido a que el manejo de la uva puede contemplar diferentes temperaturas de almacenaje y algunos autores plantean (1, 6) que existe una mayor absorción con bayas a temperaturas altas, se estudiaron los residuos de SO_2 en función de ese parámetro.

- 7° Determinar la similitud o diferencia de la capacidad de absorción de SO_2 en cinco variedades de uva de mesa en función del tiempo de exposición al gas a través de la medición de residuos.

Como no todas las variedades de uva de mesa tienen la misma capacidad de absorción y retención del anhídrido sulfuroso

sino que varían por la consistencia de su hollejo, pueden absorber y liberar más o menos rápidamente dependiendo de la variedad de uva (6, 7).

MATERIALES Y METODOS

MATERIALES

Los ensayos se realizaron en los laboratorios de Fisiología de Postcosecha, Fitopatología Frutal, y en el de Análisis de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad de Chile, utilizándose las cámaras frigoríficas de la Facultad, campus Antumapu.

1. Variedades de uva de mesa de exportación

El estudio se realizó fundamentalmente con el cultivar Sultanina (Thompson Seedless) y además con los cv. Flame Seedless, Black Seedless, Red Seedless y Ribier.

2. Materiales de embalaje

Se utilizaron, según ensayo:

- Cajas de madera con capacidad para 5 kilos
- Cajas de cartón con capacidad para 5 kilos
- Bolsas plásticas perforadas y esponja
- Frascos de 0,5 litros de capacidad.

3. Fuentes de anhídrido sulfuroso

Se utilizó gas envasado en bombonas de diferentes concentraciones y generadores en forma de papelillo, marca Uvas Quality de

12 celdillas, de fase rápida y lenta. (Según indicación del fabricante, el constituyente principal de los papelillos es la sal Metabisulfito de Sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)).

4. Cámaras de gasificación. Para cajas de madera y para estudio in vitro.
5. Material de vidrio, que incluye placas petri, probetas, pipetas, etc.
6. Cámaras de cultivo
7. Flujómetro Harris
8. Analizador infrarrojo específico de gases. Miran 101 (Foxboro EUA).
9. Microscopio Nikon.
10. Bombas de aire de impulso y succión, marca HAGEN-ELITE 800.
11. Sistema distribuidor de flujo (según esquema mostrado en la Figura 1).
12. Refractómetro manual, de temperatura compensada, marca A.O.
13. Medidor de pH digital, marca Hanna.
14. Detector de has Kitagawa modelo 400 y tubos detectores de anhídrido sulfuroso

15. Reactivos

- Agar - glucosa - dextrosa - tween 20 - colorantes - alcohol.
- Peróxido de Hidrógeno 3%, que se prepara diluyendo Peróxido de Hidrógeno P.A. al 30% y ajustando a pH = 4,0 con NaOH 0,1 N.
- Solución de Pirogalol, que se prepara disolviendo 300 g de Pirogalol en 1 lt de agua. Posteriormente se agregan 2,5 lt de NaOH 50%.
- Acido Clorhídrico concentrado 37% P.A.
- Hidróxido de Sodio 0,1 N (titrisol Merck).
- Hidróxido de Sodio 0,01 N, preparado por dilución a partir de Hidróxido de Sodio 0,1 N (titrisol Merck).
- Solución de Yodo 0,1 N (titrisol Merck).
- Solución de Tiosulfato de Sodio 0,1 N (titrisol Merck).

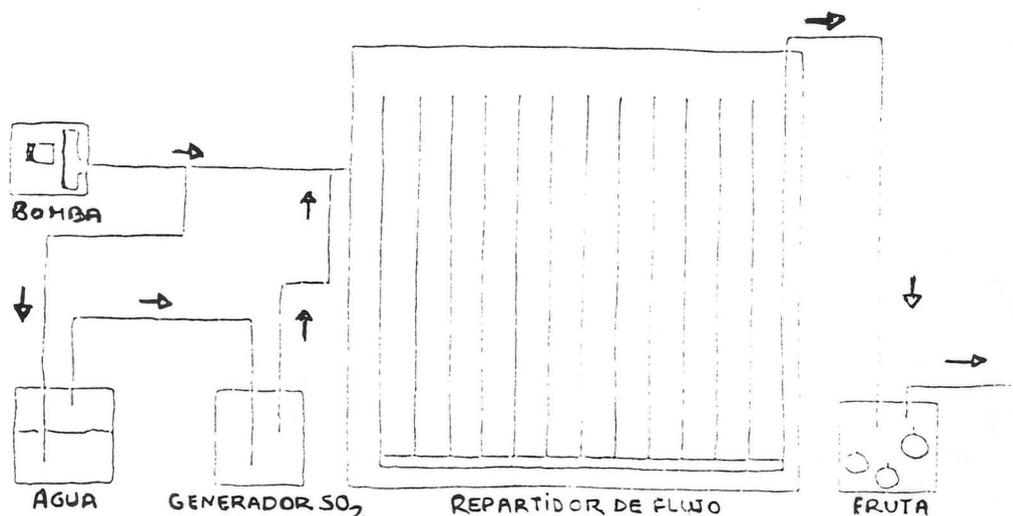


FIGURA 1. Sistema distribuidor de flujo.

METODOLOGIA

ENSAYO 1

" Diseño de un sistema de pronóstico de pudriciones causadas por Botrytis cinerea".

Este estudio se realizó mediante muestreos periódicos de flores o bayas en parronales de la zona Central. Las flores y bayas se colectaron al azar y se sembraron en placas de Petri conteniendo agar-agua, las que se incubaron por un período de 15 días a 20°C, período después del cual se procedió a evaluar el nivel de infección presente.

El muestreo se realizó en 4 épocas diferentes y evaluación final en postcosecha. Las épocas fueron: 1) plena flor, 2) cuaja, 3) pinta, y 4) precosecha.

Con los resultados de infección obtenidos, se ajustó a un Modelo Parabólico que indicó un ajuste perfecto de los 4 datos utilizados.

ENSAYO 2

" Estimación de la efectividad de diferentes dosis de SO₂ bajo distintas condiciones de infección y almacenaje".

En este ensayo se inocularon racimos con dos diferentes concentraciones de esporas de Botrytis cinerea Pers. (50.000 y 100.000 esporas/ml de agua destilada estéril), manteniéndose como testigos racimos sin inocular.

Posteriormente se efectuaron, sobre los racimos inoculados (dosis baja y dosis alta de inóculo) y los no inoculados, los tratamientos de postcosecha que se indican en el Cuadro 1.

Se realizaron 4 evaluaciones durante un período de 28 días (7, 14, 21 y 28 días). Cada evaluación se analizó separadamente.

Los diferentes tratamientos se evaluaron en base a la siguiente escala de notas:

- 0 : sin desarrollo o crecimiento de micelio
- 1 : desarrollo de tubo germinativo y/o micelio
- 2 : desarrollo activo de micelio
- 3 : desarrollo activo de micelio a bayas vecinas
- 4 : esporulación.

Además, a partir de los tratamientos T_{10} ; T_{13-15} y T_{14-16} (0; 0,25 y 0,5% de SO_2), se efectuó el análisis residual de anhídrido sulfuroso, mediante el método Monier-Williams (Anexo 3). Estas determinaciones se realizaron a las 0 y 24 horas, así como a los 7 y 15 días de la aplicación.

ENSAYO 3

" Estimación de la efectividad del SO_2 in vitro"

En este estudio se seleccionó una cepa de B. cinerea, la que se cultivó en medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar), por 12 días a 20°C. La cepa seleccionada presentó un comportamiento normal de sobrevivencia (100%) a las 6 horas de incubación (D'Ercole, 1981). A

CUADRO 1. Numeración de los Tratamientos realizados según tipo de tratamiento recibido en postcosecha. Análisis estadístico.

N° tratamientos	Tratamientos de postcosecha efectuados	T (°C) al macenaje	N° de cajas
T ₁ (T ₁₀)*	Racimos sin inoculación	5°C (0°C)*	8
T ₂ (T ₁₁)	Racimos inoculados Dosis baja 50.000 esp/ml	5°C (0°C)	8
T ₃ (T ₁₂)	Racimos inoculados Dosis alta 100.000 es/ml	5°C (0°C)	8
T ₄ (T ₁₃)	Racimos inculados. Dosis baja 50.000 esp/ml + gasificación dosis 0,25% SO ₂	5°C (0°C)	8
T ₅ (T ₁₄)	Racimos inoculados Dosis baja: 50.000 esp/ml + gasificación dosis 0,5% SO ₂	5°C (0°C)	8
T ₆ (T ₁₅)	Racimos inoculados. Dosis alta 100.000 esp/ml + gasificación dosis: 0,25% SO ₂	5°C (0°C)	8
T ₇ (T ₁₆)	Racimos inoculados. Dosis alta 100.000 esp/ml + gasificación dosis: 0,5% SO ₂	5°C (0°C)	8
T ₈ (T ₁₇)	Racimos gasificados Dosis: 0,25% SO ₂	5°C (0°C)	3
T ₉ (T ₁₈)	Racimos gasificados Dosis: 0,5% SO ₂	5°C (0°C)	3
-- (T ₁₉)	Racimos gasificados. Dosis 0,5% SO ₂ + inoculación 50.000 esp/ml al embalar	- (0°C)	5
-- (T ₂₀)	Racimos gasificados. Dosis 0,5% SO ₂ + inoculación 100.000 esp/ml al embalar	- (0°C)	5

* Tratamientos entre paréntesis corresponden a igual tratamiento pero almacenados a 0°C.

partir de este cultivo de 12 horas de desarrollo se obtuvieron esporas, las que se sembraron sobre placas de Petri, plásticas, conteniendo AD-G (Agar-D-Glucosa), y se incubaron en tres distintos tiempos que fueron 0, 6 y 12 horas de incubación. Las placas de Petri así sembradas fueron sometidas a tres concentraciones de gas: 2, 5 y 12 ppm de SO_2 , en una cámara de gasificación hermética de acrílico con vías de entrada y salida del gas, y sistemas de ventilación incorporados. Las gasificaciones se efectuaron utilizando un sistema de flujo continuo de SO_2 , el cual fue regulado mediante un flujómetro Harris, modelo 101 (The Harris Calorific Co. EUA), corroborándose las distintas concentraciones con un analizador infrarrojo específico de gas, Miran 101 (FOXBORO, EUA). El tiempo de exposición al gas fue de 25 minutos.

Una vez efectuadas las gasificaciones, los cultivos se mantuvieron en incubación por 12 horas a $20^{\circ}C$. Como testigos se consideró a cultivos de esporas de sólo un estado inicial de desarrollo, 6 horas de incubación, no expuestas al SO_2 , esto debido a que con 0 hora existe un 0% de esporas germinadas y con 12 horas el 100% de las esporas ha germinado.

Los tratamientos efectuados se presentan en el Cuadro 2. Por cada uno de los tratamientos se consideró un número igual a 6 repeticiones.

Cuadro 2. Estimación de la efectividad del SO_2 IN VITRO. Resumen de tratamientos efectuados. Concentraciones de SO_2 (0, 2, 5 y 12 ppm). Estados iniciales de desarrollo de las esporas expuestas al gas.

TRATAMIENTOS ESTADOS INICIALES* DE DESARROLLO	CONCENTRACIONES DE SO_2 (ppm)			
	0	2	5	12
T ₀ (Testigo)**	+***	-	-	-
T ₁₋₁	-	+***'	-	-
T ₁₋₂	-	-	+	-
T ₁₋₃	-	-	-	+
T ₂₋₁	-	+	-	-
T ₂₋₂	-	-	+	-
T ₂₋₃	-	-	-	+
T ₃₋₁	-	+	-	-
T ₃₋₂	-	-	+	-
T ₃₋₃	-	-	-	+

*Estados iniciales de desarrollo: 0, 6 y 12 horas de incubación.

**Se consideró un solo estado inicial de desarrollo, 6 horas de incubación.

***+, indica que el tratamiento no consideró aplicación de SO_2 .

***': +, indica que esporas de 0 hora de incubación fueron expuestas a una concentración de SO_2 igual a 2 ppm.

ENSAYO 4

" Determinación de residuos de anhídrido sulfuroso en uva de mesa Sul
tanina según distintas dosis y tiempo de exposición"

Se utilizó uva proveniente de un parronal de Colina, embalada en cajas de madera de 5 kg. Las cajas con uva se sometieron a 4 tra
tamientos según la cantidad de generador usado:

Tratamiento (T₁) = 1/4 generador, (T₂) = 1/2, (T₃) = 3/4 ge-
nerador, (T₄) = 1 generador.

El tiempo de almacenamiento en frío a 0°C y 95% de humedad re
lativa, fue de 14- 21- 28 y 35 días para todos los tratamientos. El tratamiento con 1/2 generador (T₂) tuvo además una primera eva
luación a los 7 días.

Inmediatamente de cumplido el período de almacenamiento, en los tratamientos de 1/4 generador (T₁), 3/4 generador (T₃) y 1 gene
rador (T₄), se analizó en bayas el residuo de SO₂ (Método Monier-Wi
lliams, Anexo 3). En el tratamiento con 1/2 generador (T₂) se ana
lizó además de las bayas, los escobajos.

Veinticuatro horas después que se retiró la uva de frío, pe-
ríodo durante el cual se mantuvo sin generador y a temperatura de 18-20°C, se volvió a analizar el residuo de SO₂.

El anhídrido sulfuroso gaseoso del ambiente interno de las ce
pas se midió en dos oportunidades (14 y 28 días) inmediatamente antes de retirar las cajas de frío.

El diseño estadístico utilizado es completamente aleatorizado con estructura factorial 4x4x2, que corresponde a 4 dosis de gene
rador (1/4, 1/2, 3/4, 1), 4 tiempos de almacenamiento (14, 21,

28 y 35 días) y 2 evaluaciones (salida de frío y después de 24 horas a temperatura de 18-20°C). El modelo estadístico incluyó los 3 factores y 3 interacciones dobles.

Para la determinación de la dinámica de liberación de SO₂ en este ensayo se incorporó una serie de análisis de residuos a uvas que habían sido sometidas al anhídrido sulfuroso por tiempos distintos. Estos análisis, también realizados con el método Monier-Williams, se efectuaron en varias oportunidades a fin de evaluar la posible liberación de SO₂ desde las bayas al medio una vez retirado el generador de la caja.

Para este ensayo adicional se utilizaron cajas con 1/2 generador de SO₂ y se le determinó el residuo tanto a las bayas como al escobajo.

Terminados los 14 días de almacenamiento se realizaron 8 mediciones en un período de 28 horas.

A los 21 días de almacenamiento se realizaron 6 mediciones en un período de 47 horas.

A los 49 días de almacenamiento se realizaron mediciones en bayas, en 7 oportunidades durante un período de 264 horas y en escobajo en 4 oportunidades durante 29 horas.

ENSAYO 5

" Determinación de residuo de anhídrido sulfuroso según el porcentaje de azúcar en bayas del cv. Sultanina".

Se clasificaron las bayas según método densimétrico (Anexo 3), en seis categorías desde 14,5°B hasta 19,5°B.

Este ensayo se dividió en dos sub-ensayos, el primero se efectuó en frascos de vidrio a los que se les proporcionó un flujo de anhídrido sulfuroso de 78,7 (\pm 6) ppm. El sistema de aplicación del anhídrido sulfuroso se efectuó de la forma que se señala en la Figura 1.

La concentración del anhídrido sulfuroso se verificó mediante el método volumétrico yodo-tiosulfato (Anexo 3), en forma periódica durante el almacenamiento.

En el segundo sub-ensayo se utilizaron cajas de madera en las que se colocaron las bayas en canastillos con 250 g cada uno, con una relación de medio generador para cada 5 kg de uva.

Ambos sub-ensayos se mantuvieron a una temperatura de 0°C y 90-95% de humedad relativa durante un período de 14 y 28 días. Finalizados estos períodos se determinaron inmediatamente (0 horas) los residuos de anhídrido sulfuroso, en el segundo sub-ensayo además se determinó a las 24 horas.

El diseño estadístico fue totalmente al azar y los resultados se sometieron a análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de Duncan.

ENSAYO 6

" Determinación de residuo de anhídrido sulfuroso según temperatura de aplicación del gas y de conservación de las bayas".

Se utilizaron bayas de un mismo porcentaje de sólidos solubles (método densimétrico, Anexo 3), las que se dividieron en tres grupos iguales y se gasificaron con una misma dosis de anhídrido sulfuroso, manteniéndose luego cada grupo a un régimen distinto de temperatura: Uno de los grupos se colocó a 0°C, un segundo a 5°C y un tercero a 20°C; en una oportunidad (27.03.87) se agregó un cuarta temperatura, 10°C. Al cabo de 1 a 2 días se efectuó el análisis de residuos de anhídrido sulfuroso total con el método Monier-Williams (Anexo 3).

Este ensayo se realizó 5 veces con las variables indicadas en el Cuadro 3.

CUADRO 3. Determinación de residuos de SO₂ según temperatura, concentración de anhídrido sulfuroso y sólidos solubles.

Nº	Fecha	Tº de aplicación del SO ₂	Concentración SO ₂ Aplicada	Sólidos Solubles de las bayas (ºBrix)	Envase
1ero.	12.03	18ºC	63 ppm*	16,5 - 17,5	Frasco
2do.	16.03	18ºC	40 ppm*	18,5 - 19,5	Frasco
3ro.	27.03	18ºC	33 ppm*	19,5 - 20,5	Frasco
4to.	15.04	Temperatura de	32 ppm*	19,5	Frasco
5to.	5.05	almacenamiento	1/2 generador/ 5 kg de uva	18,5 - 19,5	Caja de madera

* Determinada por el método volumétrico Yodo Tiosulfato (Anexo 3).

El diseño estadístico fue totalmente al azar y los resultados de tres repeticiones se sometieron a un análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de Duncan.

ENSAYO 7

" Determinación de residuo de anhídrido sulfuroso en distintas variedades de uva de mesa ".

Para este ensayo se utilizaron cinco variedades de uva que se embalaron en cajas de cartón de 5 kg netos. Estas variedades fueron: Sultanina, Black Seedless, Red Seedless, Flame Seedless y Ribier. Las tres primeras se obtuvieron de San Bernardo y las dos últimas de Malloco.

Todas las variedades se almacenaron con 1/2 generador de anhídrido sulfuroso por tres períodos de guarda (14, 21 y 28 días) a 0°C y 95% de humedad relativa.

Inmediatamente cumplidos estos períodos se les determinó el residuo de SO_2 en las bayas con el método Monier-Williams (Anexo 3), se volvió a realizar el análisis de residuo luego de mantener la uva por 24 horas a 18°C sin generador de SO_2 .

El diseño estadístico fue totalmente al azar, se utilizaron tres repeticiones y los resultados fueron sometidos a análisis de varianza y a prueba de comparación múltiple de Duncan.

PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

ENSAYO 1

Para realizar el estudio de un sistema de pronóstico de infección por *Botrytis*, se reunieron los antecedentes de infección de *Botrytis* durante 1986-87 en diversas localidades de la zona Central del país. La información considerada fue la correspondiente a racimos sin tratamiento de fungicidas. Se consideró la información de los estados fenológicos de plena flor, cuaja, pinta y precosecha, además del número de granos podridos por caja en postcosecha. Los datos obtenidos en el estudio se presentan en el Cuadro 4

CUADRO 4. Niveles de infección (%) de *B. cinerea* en uva cv. Sultana.

Localidad	Plena flor	Estado fenológico			evaluac. final postcosecha \bar{X} (bayas/caja)
		cuaja	pinta	pre-cosecha	
Colunquén	19,9%	38,3%	3,3%	0%	17 b/caja
Colina	5,0%	1,7%	3,3%	0%	11 b/caja
Miraflores (Rancagua)	2,0%	19,0%	2,0%	4%	3,7 b/caja
Miraflores (Rancagua)	15,0%	21,0%	0,0%	5%	2,3 b/caja
Peñaflor	50,0%	34,0%	1,0%	3%	4,3 b/caja

La relación entre postcosecha respecto a plena flor, cuaja, pinta y precosecha, se muestra en la Figura 2.

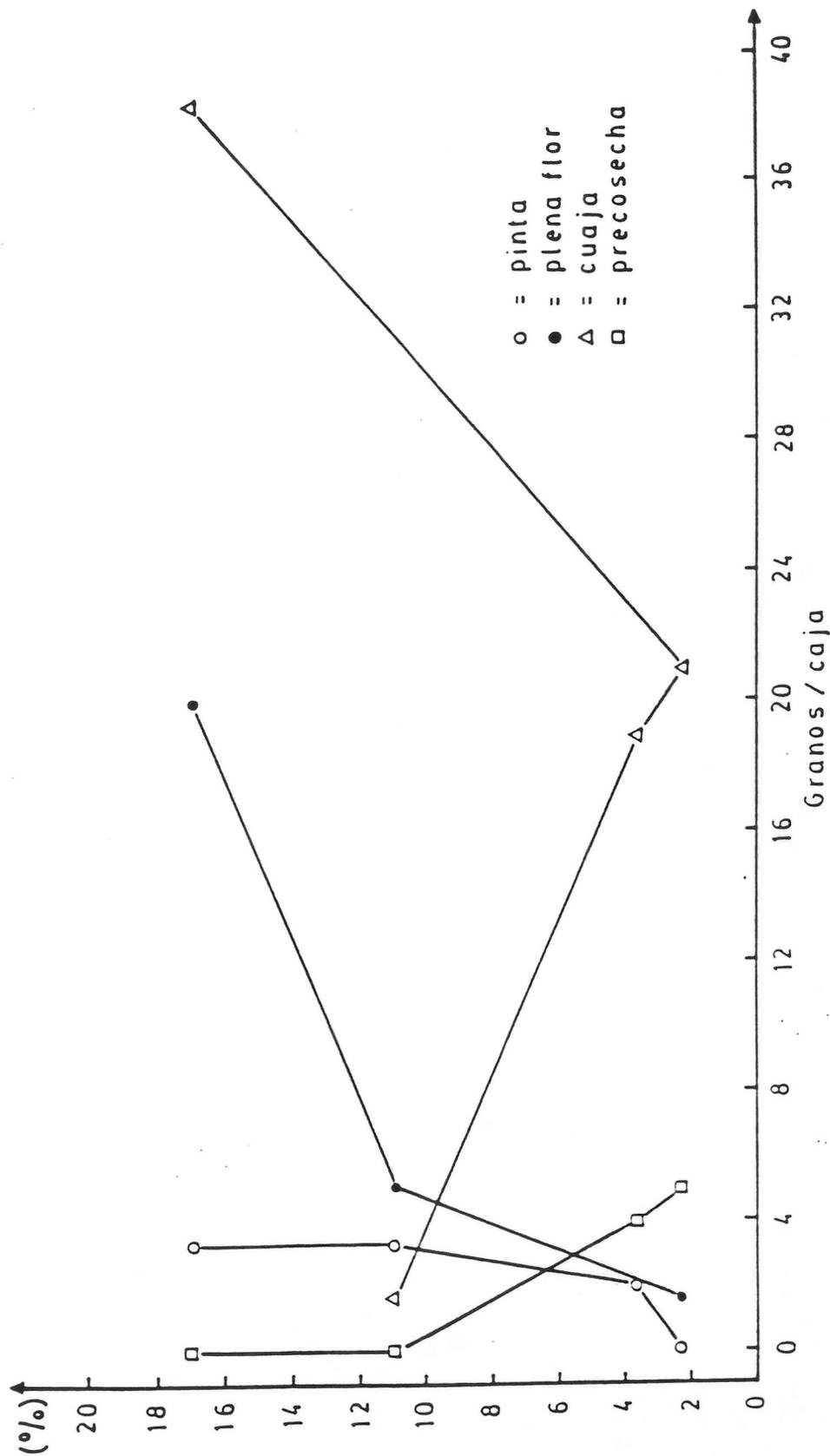


FIGURA 2. Porcentaje (%) de flores o granos infectados en los distintos estados fenológicos y su relación con el número de granos por caja con síntomas de pudrición de Botrytis cinerea en postcosecha.

Puede apreciarse que entre cuaja, pinta y precosecha hay escasa relación con postcosecha, de manera que parece claro que esos estados no influyen en las pudriciones que se manifiestan en postcosecha. Sin embargo, se observa que la infección en plena flor sí incide en las pudriciones de postcosecha.

Con el ajuste de la serie de 4 datos usando el modelo parabólico, resultó la siguiente ecuación de regresión:

$$Y = -2,287 + 322,4X - 1,133 X^2$$

donde: Y = número de granos infectados por caja en postcosecha

X = % de flores infectadas en plena flor.

Resultó un coeficiente de determinación múltiple $R^2 = 100\%$ con 1 grado de libertad, lo que indica un ajuste perfecto para los 4 puntos (Figura 2).

En próximos estudios debería confirmarse este modelo agregán-dole mayor información sobre infección en los diferentes estados fenológicos del racimo, e incluir las variables de humedad y tempera-tura que son factores ambientales que inciden fuertemente en el de-sarrollo de Botrytis en uva de mesa.

ENSAYO 2

Los resultados se analizaron en términos de un modelo corres-pondiente a un diseño completamente aleatorizado, con estructura fac-torial $3 \times 3 \times 2$. Los factores analizados fueron los siguientes:

- i) inoculación (I) : 0; 50.000 y 100.000 esporas/ml
- ii) gasificación (G) : 0; 0,25 y 0,50% de SO₂
- iii) temperatura (T) : 0 y 5°C.

En consecuencia, el modelo utilizado fue:

$$Y_{ykl} = u + I_i + G_j + T_k + (I \times G)_{ij} + (I \times T)_{ik} + (G \times T)_{jk} + E_{ijkl}$$

donde: Y, es el grado de desarrollo de la infección, medido en una escala de 0 a 4, ponderado por el número de racimos por caja en cada nivel (5 racimos por caja).

La fórmula para el cálculo de Y es la siguiente:

$$Y = \sum_i (\text{valor escala nivel } i) \times (\% \text{ de racimos nivel } i)$$

Según los niveles de inóculo, el orden de menor a mayor infección de los tratamientos fue de: $0 \leq 50.000$ y ≤ 100.000 . Del mismo modo, no se observó diferencias significativas entre los niveles de gasificación, comportándose las 2 dosis utilizadas en forma similar ($0,50 = 0,25\% \text{ SO}_2$) $\leq 0\%$ de SO₂. En relación a la temperatura en esta primera fecha de evaluación (7 días embalaje refrigerado), sí se detectaron diferencias entre 0 y 5°C.

De los resultados del análisis del Test de Duncan, los que se presentan en los cuadros 5, 6, 7 y 8, se desprende que:

- Los mejores tratamientos correspondieron a los que consideraron gasificación en las diferentes dosis sin inoculación. Es importante señalar además que los tratamientos se comportan de igual forma tanto a 5 como a 0°C.
- Los tratamientos que resultaron con mayor nivel de infección correspondieron a los testigos inoculados con dosis de 100.000 y 50.000 esporas/ml (T₃ y T₂, respectivamente). (Véase Anexo 4, Sección A).

CUADRO 5. Efecto de la inoculación, gasificación y temperatura en la incidencia de las pudriciones causadas por Botrytis cinerea en la 1a. fecha de evaluación (7 días de almacenaje refrigerado) (Prueba de rango múltiple de Duncan).

	N	Media*	$\alpha = 0,05$
Factor inoculación			
0	28	0,4071	a
50.000	48	1,6042	b
100.000	48	2,0417	c
Factor gasificación			
0,50	38	1,1526	a
0,25	38	1,2526	a
0	48	1,9792	b
Factor temperatura			
0°C	62	1,19032	a
5°C	62	1,81613	b

* En todos los casos la Media se obtiene sobre el total de los niveles de los otros dos factores.

CUADRO 6. Efecto de la inoculación, gasificación y temperatura en la 2a. fecha de evaluación (14 días de almacenaje) en la incidencia de las pudriciones causadas por Botrytis cinerea (Prueba de rango múltiple de Duncan).

	N	Media*	$\alpha = 0,05$
Factor inoculación			
0	28	0,9857	a
50.000	48	2,3333	b
100.000	48	2,7875	c
Factor gasificación			
0,50	38	1,8526	a
0,25	38	2,0263	a
0	48	2,6250	b
Factor temperatura			
0°C	62	1,5484	a
5°C	62	2,8613	b

* En todos los casos la Media se obtiene sobre el total de los niveles de los otros dos factores.

En esta segunda fecha de evaluación realizada a los 14 días de almacenaje refrigerado, en los factores de inoculación, gasificación y temperatura, se observa la misma tendencia presentada en la primera evaluación. Véase orden de tratamientos según nivel de infección (<a>) en Anexo 4, Sección B.

CUADRO 7. Efecto de la inoculación, gasificación y temperatura en la 3a. fecha de evaluación (21 días de almacenaje refrigerado) en la incidencia de las pudriciones causadas por Botrytis cinerea (Prueba de rango múltiple de Duncan).

	N	Media *	$\alpha = 0,05$	$\alpha = 0,01$
Factor inoculación				
0	28	1,6071	a	
50.000	48	2,5667	b	
100.000	48	3,0333	c	
Factor gasificación				
0,50	38	2,1158	a	a
0,25	38	2,2000	a	a
0	48	3,1208	b	b
Factor temperatura				
0°C	62	1,8710	a	
5°C	62	3,1903	b	

* En todos los casos la Media se obtiene sobre el total de los niveles de los otros dos factores.

Aunque en esta tercera fecha de evaluación realizada a los 21 días de almacenaje refrigerado, los niveles de infección obtenidos en cada uno de los tratamientos siguen la misma tendencia de las dos evaluaciones anteriores; sin embargo, es importante destacar que el factor temperatura comienza a manifestarse en las medias de los tratamientos (T_{18} y T_{17}) que son menores en infección a sus tratamientos homólogos T_8 y T_9 , los cuales corresponden a 0°C y 5°C, respectivamente. (Véase Anexo 4, Sección C).

CUADRO 8. Efecto de la inoculación, gasificación y temperatura en la 4a. fecha de evaluación (28 días de almacenaje refrigerado), en la incidencia de las pudriciones causadas por Botrytis cinerea (Prueba de rango múltiple de Duncan).

	N	Media*	$\alpha = 0,05$
Factor inoculación			
0	28	2,6429	a
50.000	48	3,2458	b
100.000	48	3,2958	b
Factor gasificación			
0,50	38	2,8789	a
0,25	38	2,9474	a
0	48	3,4708	b
Factor temperatura			
0°C	62	2,5161	a
5°C	62	3,7419	b.

* En todos los casos la Media se obtiene sobre el total de los niveles de los otros dos factores.

En esta cuarta evaluación realizada a los 28 días de almacenaje refrigerado, la diferencia entre las 2 temperaturas de almacenaje se hace mucho más evidente. Es así como el tratamiento T₁₆ consistente en racimos inoculados con dosis alta de esporas + gasificación 0,5% mantenido a 0°C, resulta en esta evaluación presentar niveles de infección muy similares a los tratamientos T₁₇ y T₁₈ (tratamientos que consideran sólo gasificación sin inoculación a 0°C) y aunque no presenta diferencias significativas entre los tratamientos T₁₀, T₁₄, T₁₅ y T₁₉, se comporta mejor que éstos. (Véase Anexo 4, Sección D).

Del mismo modo es importante señalar que después de 28 días de almacenaje refrigerado a 5°C los tratamientos testigos sin gasificación independientemente del nivel de inóculo utilizado, resultan ser los con mayores niveles de infección (T_1 , T_2 y T_3), no presentándose diferencias significativas entre ellos. En cambio, los mismos tratamientos almacenados a 0°C, presentan porcentajes de infección (medias) significativamente menores. Esto último reafirma la importancia de la temperatura en el régimen de almacenaje de uva de mesa.

Niveles de residuos de SO_2 detectados en los tratamientos de gasificación

El nivel de residuos de SO_2 presente en la uva utilizada en el ensayo se determinó en las siguientes etapas:

- Antes de ser sometida la uva a la acción del gas: esta determinación se efectuó tanto en la uva correspondiente al tratamiento testigo que consideraba almacenaje refrigerado a 0°C (T_{10}), como en los que consideraban tratamientos posteriores de gasificación (tratamientos 13 al 16).
- Inmediatamente después de haber sido expuesto al gas (0 hora) y 24 horas después de efectuada la gasificación. Determinándose también a los 7 y 14 días de almacenaje.

En cada una de las fechas en que se efectuaron las determinaciones de residuos, se procedió de la siguiente manera: Colectar al azar tres muestras de cada uno de los tratamientos (dosis de gasificación 0; 0,25 y 0,5% de SO_2), realizando dos análisis de re-

siduos por cada muestra.

Los resultados de estas determinaciones se presentan en el Cuadro 9, en el cual se observan los niveles mínimos, máximos y promedios de residuos de SO_2 (ppm) obtenidos en las dos dosis utilizadas (0,25 y 0,5%) y en el testigo sin tratamiento (0% de SO_2).

Estas determinaciones señalan que en promedio el nivel inicial de SO_2 presente en la uva utilizada en el ensayo alcanzaba a 1,88 ppm del gas y que al tiempo cero (T_0), inmediatamente después de haber sido realizados los tratamientos de gasificación, la uva presentaba niveles residuales cercanos a las 5,99 y 10,61 ppm de SO_2 con dosis de 0,25 y 0,5% del gas, respectivamente.

Finalmente, es importante señalar que a los 7 días de efectuados los tratamientos de gasificación el nivel de residuos de SO_2 detectado en las bayas fue muy similar al obtenido en la uva sin tratamiento (0% = 2,15; 0,25% = 2,52 y 0,5% = 2,42)..

CUADRO 9. Niveles residuales de SO₂.
(Valores mínimos, máximos y promedio (\bar{X}), de residuos de SO₂ (ppm), obtenidos en uva con y sin tratamiento de gasificación (0,25; 0,5 y 0% de SO₂), a las 0 y 7 horas y 7 y 15 días después de efectuado el tratamiento.

Tiempo	Dosis de SO ₂ (%)									
	0%			0,25%			0,5%			
	NIVELES DE RESIDUOS DE SO ₂ (ppm)*									
	mín.	máx.	\bar{X}	mín.	máx.	\bar{X}	mín.	máx.	\bar{X}	
T ₀ Valor inicial	1,62	2,12	<u>1,88</u> ^{1/}	1,62	2,12	1,88	1,62	2,12	1,88	
GASIFICACION										
T ₀ , (0 horas)	1,62	2,12	1,88	4,54	7,56	<u>5,99</u> ^{2/}	9,67	10,86	<u>10,61</u> ^{3/}	
T ₁ (24 horas)	1,85	1,92	1,89	-	-	-	2,98	3,21	3,07	
T ₂ (7 días)	1,99	2,32	2,15	2,37	2,74	2,52	1,91	2,77	2,42	
T ₃ (14 días)	-	-	-	1,28	2,08	1,60	1,62	2,68	2,10	

* Determinaciones efectuadas en uva almacenada a 0°C.

1/ 1,88, significa que en promedio la uva utilizada en los tratamientos presentaba al momento de cosecha 1,88 ppm de SO₂.

2/ 5,99, significa que el nivel de residuos de SO₂ en la uva inmediatamente después de haber sido expuesta por 20 min. a 0,25 % de SO₂ (T₁), alcanzó valores promedios cercanos a 5,99 ppm

3/ 10,61, significa que el nivel de residuos de SO₂ en la uva inmediatamente después de haber sido expuesta por 20 min. a 0,5% de SO₂ alcanzó valores promedios cercanos a 10,61 ppm.

ENSAYO 3Estimación de la efectividad del SO₂ in vitro.

La evaluación de los distintos tratamientos se efectuó después del tiempo de incubación de 12 horas post gasificación ya citado y consistió en medir la efectividad de las tres concentraciones de SO₂ en estudio, en términos de sobrevivencia de las esporas al gas (% de esporas germinadas). Todas las evaluaciones se realizaron por observación bajo microscopio de las esporas. En la evaluación se consideraron 100 esporas, contadas al azar en cada una de las repeticiones, observándose la presencia o ausencia de tubo germinativo y/o anomalía en éste. Los resultados se presentan en el Cuadro 10.

De los resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos efectuados se concluye que:

- Existiría una estricta correlación entre el nivel de sobrevivencia (% G) de las esporas y la concentración de SO₂ aplicada (relación inversamente proporcional), a medida que se aumenta la |SO₂| el nivel de sobrevivencia del hongo disminuye (% G). Obsérvese la Figura 3.

El orden de los tratamientos de mayor a menor efectividad es el siguiente:

$$T_{31} \cong T_{33} \cong T_{32} > T_{23} > T_{22} \cong T_{21} > T_{13} > T_{12} \cong T_{11} \cong T_1$$

Cuadro 10. Estimación de la efectividad del SO_2 IN VITRO. Resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos efectuados y por repetición, expresados en términos de sobrevivencia de B. cinerea a la acción del gas (% de esporas germinadas).

TRATAMIENTOS	S O B R E V I V E N C I A						%G \bar{X} T
	% esporas germinadas (repeticiones)						
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	
T ₀	88*	93	90	94	98	96	93,17
T ₁₋₁	86	87	92	83	80	91	86,50
T ₁₋₂	78	55	75	40	68	77	65,50
T ₁₋₃	31	21	58	62	17	18	34,50
T ₂₋₁	35	6	11	7	7	12	13,0
T ₂₋₂	10	5	12	14	7	12	10,0
T ₂₋₃	9	2	4	7	3	2	4,5
T ₃₋₁	2	0	0	0	0	0	0,33
T ₃₋₂	2	6	2	0	0	3	2,17
T ₃₋₃	0	0	2	0	0	1	0,50

*: 88, indica que de 100 esporas evaluadas, 88 presentaban indicios de germinación (emisión de tubo germinativo).

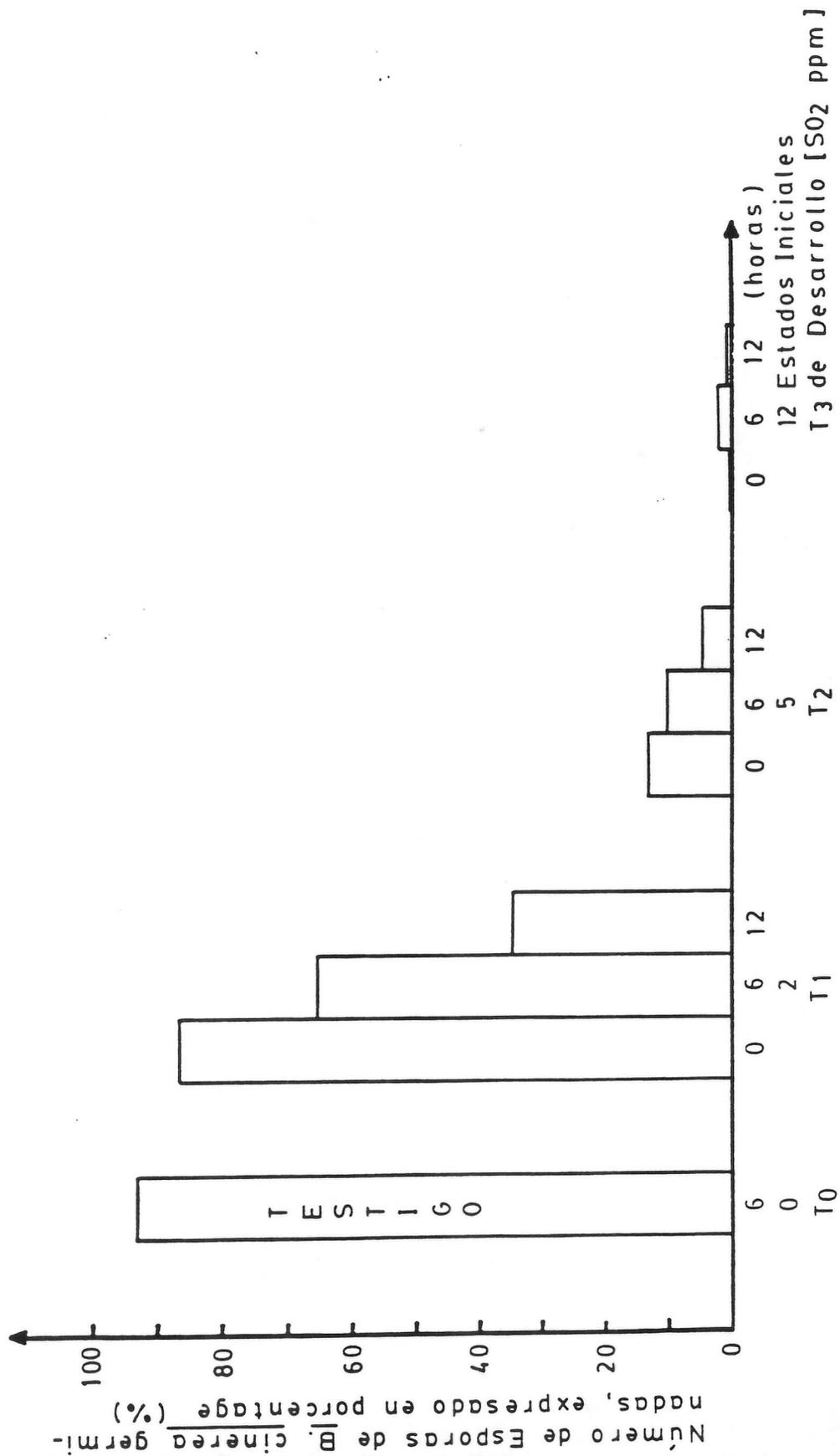


FIGURA 3. Estimación de la efectividad del SO₂ in vitro.

Sobrevivencia in vitro de Botrytis cinerea Pers., al aplicar tres concentraciones de SO₂ (2, 5 y 12 ppm) por 25 min. sobre esporas del hongo en tres distintos estados iniciales de desarrollo (0, 6 y 12 hrs de incubación).

La concentración de SO₂ más efectiva correspondió a la dosis más alta utilizada (12 ppm), alcanzando niveles de control cercanos al 100% (1% G). La dosis intermedia de 5 ppm de SO₂, también resultó ser efectiva, presentando un 90,8% de control, efectividad mayor a la citada por la literatura para esta dosis en análisis IN VITRO (Peiser y Yang, 1985). La concentración más baja utilizada, 2 ppm, resultó ser ineficiente en los tres estados iniciales de desarrollo, obteniéndose un control menor al 50% (68% de esporas germinadas).

ENSAYO 4

" Determinación de residuos de anhídrido sulfuroso en uva de mesa Sultanina según distintas dosis y tiempo de exposición ".

A medida que aumenta el tiempo de exposición de la uva a una presión de anhídrido sulfuroso, desde 14 a 28 días de almacenamiento, aumenta el residuo de anhídrido sulfuroso en ella. Es así como con 1/4, 1/2 y 3/4 de generador por caja se logran residuos de alrededor de 5 ppm; con 1 generador el nivel de residuo para esa fecha alcanza 9,8 ppm. A diferencia de lo anterior, a los 35 días de almacenamiento los niveles de residuo disminuyen para todas las dosis, no sobrepasando las 5,5 ppm (Figura 4). En el análisis estadístico se determinó interacción significativa dosis x almacenamiento al 0,5%.

Existiría, por lo tanto, un período crítico alrededor de los 28 días en que los niveles de residuo serían los más altos, pudiendo sobrepasar los 10 ppm en las dosis altas. A la vez la disminución de residuos a los 35 días indicaría que ya existiría una menor presión de anhídrido sulfuroso originado por el agotamiento del generador.

Al liberar la fruta de la exposición al gas (extrayendo el generador), a las 24 horas los residuos en la mayoría de los casos aumentan ligeramente con respecto a la cantidad detectada al evaluar inmediatamente después de retirada de frío (0 horas) (Figura 4). Cabe hacer notar, sin embargo, que no se detectaron diferencias significativas entre ambas evaluaciones.

En las tres primeras fechas de análisis, 14, 21, 28 días, se detectaron residuos significativamente mayores en la uva tratada con 1 generador, mientras que a los 35 días, fecha en que se manifestó una disminución de residuos en general, los valores menores se registraron usando 1/4 generador (Cuadro 11).

CUADRO 11. Residuos de anhídrido sulfuroso según dosis y tiempo de exposición (ppm).

Cantidad de generador	Períodos de almacenamiento			
	14 días	21 días	28 días	35 días
1/4	2.30 a	2.95 a	4.34 a	3.86 a
1/2	2.84 a	3.54 ab	--*	4.41 ab
3/4	3.77 a	4.95 b	5.64 a	5.37 b
1	6.83 b	7.08 c	9.85 b	4.95 b

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difiere estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$ según la prueba de rango múltiple de Duncan.

Nota: Por no existir diferencias entre evaluaciones (0 y 24 hr), estos datos son su promedio.

* No se realizó evaluación.

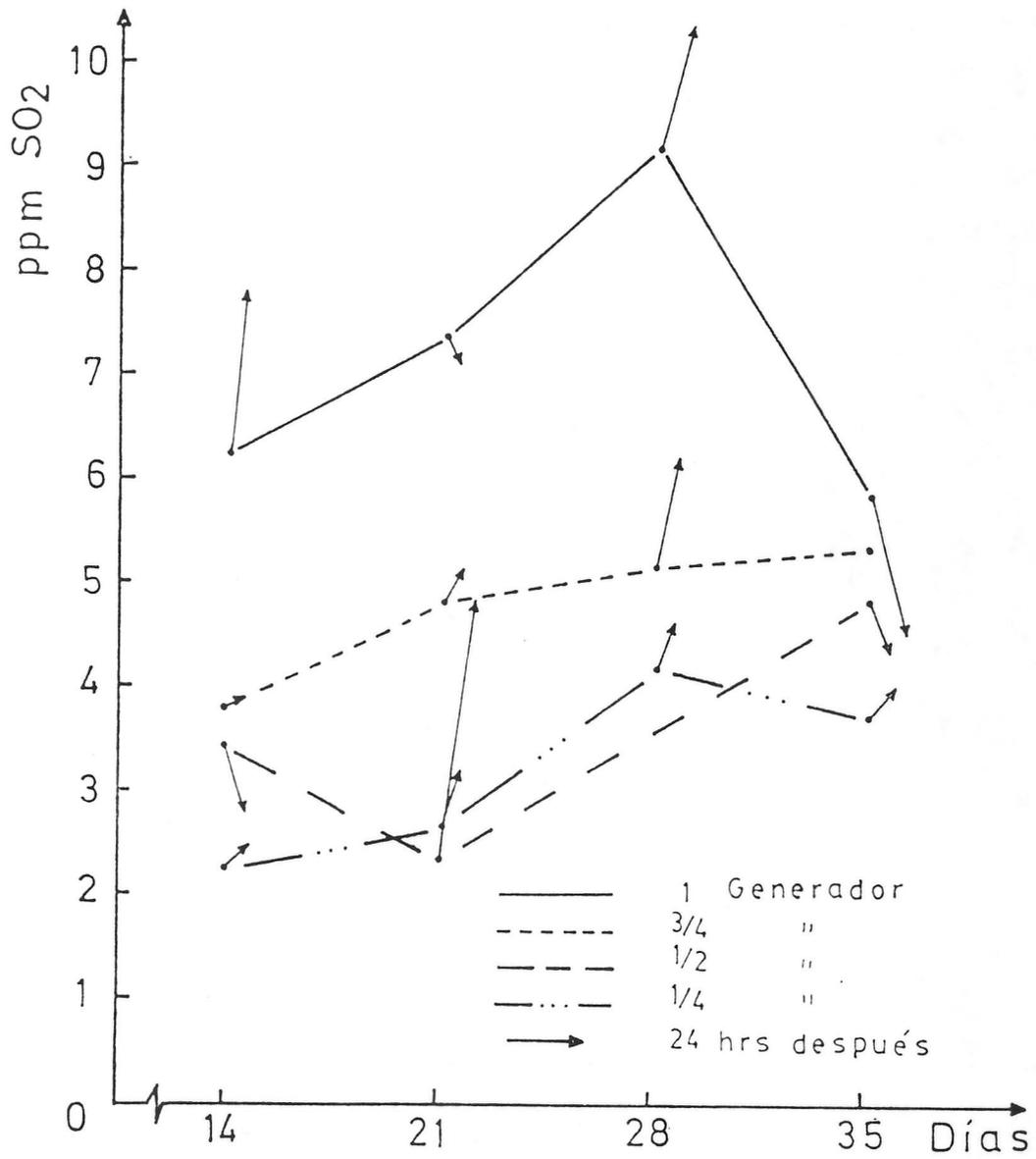


FIGURA 4. Residuos de anhídrido sulfuroso según dosis y tiempo de exposición.

En el tratamiento con 1/2 generador que se evaluó además a los 7 días, se determinó niveles de residuos similares a los encontrados a los 14 días.

Las concentraciones de SO_2 gaseoso detectados en el ambiente interno de las cajas varió escasamente en relación a la cantidad de generador dentro de ellas. La concentración detectada mediante el método de tubos detectores de gases Kitagawa (único-400) fue de 2,2; 3,1 y 4,4 ppm para 1/4, 3/4 y 1 generador por caja, respectivamente al cabo de 14 días.

A los 28 días de conservación de las uvas, la concentración gaseosa dentro de las cajas experimentó un descenso detectándose 0; 1,25 y 1,25 ppm para 1/4, 3/4 y 1 generador, respectivamente.

Al respecto, cabe señalar que estudios realizados en Chile han determinado concentraciones de 2 y 4 ppm a los 20 y 35 días respectivamente (Ruiz, 1984).

Con respecto a los índices de madurez no se observó influencia de los tratamientos sobre el porcentaje de sólidos solubles y acidez titulable, los que oscilaron en general entre rangos de 17,4 - 19,3°B y 0,75 - 0,95%, respectivamente.

En lo referente a respiración, expresada en $\text{mg CO}_2/\text{kg-h}$, se determinaron valores que oscilaron entre 30,5 y 35,0 a los 14 días, sin guardar relación con la cantidad de generador utilizado.

Tres semanas después se determinó la respiración nuevamente, encontrándose valores desde 33 hasta 42 $\text{mg de CO}_2/\text{kg-h}$. En esta

oportunidad la tasa respiratoria tampoco guardó relación con la presión de SO_2 , llamando la atención, al igual que a los 14 días que la uva sometida a 3/4 generador experimentó la mayor tasa respiratoria (Cuadro 12).

CUADRO 12. Tasa respiratoria expresada en $\text{mg CO}_2/\text{kg-h}$ producidos.

Cantidad de generador	Fecha	
	14 días	35 días
1/4	32,41	39,76
1/2	-	33,26
3/4	35,04	42,18
1	30,53	37,34

Estudios realizados por Winkler y Jacob (1925) indicaron que en uva de mesa existió una relación inversa a la tasa respiratoria con la dosis de anhídrido sulfuroso a que habían estado sometidas. Obtuvieron en su ocasión una reducción de la tasa respiratoria hasta $5 \text{ mg CO}_2/\text{kg-h}$.

La tasa respiratoria en uva Labrusca, Ryall y Pentzer (1982) registraron valores de 32 mg CO_2 por el mismo peso, tiempo y temperatura.

En este ensayo no se observó blanqueamiento en ninguno de los tratamientos, así como en ninguna de las fechas de almacenamiento, pero hay que hacer notar que el generador fue retirado inmediatamente al salir las cajas de uva de frío.

En cuanto al daño por hongos (pudriciones) sólo se detectaron dos bayas a los 14 días, no encontrándose a los 21 días.

Al revisar la uva a los 28 días se presentaron nuevamente algunas bayas con pudrición, sin guardar relación con la cantidad de generadores ocupados y finalmente a los 35 días los hongos afectaron varias bayas, pero en este caso, el máximo fue de un 2% en el tratamiento que incluía 1/2 generador, un 0,9% con 3/4 de generador y ninguna pudrición con 1 generador completo.

Como se puede apreciar, los niveles de pudrición de las uvas en este ensayo fueron muy bajos y guardaron cierta relación con el tiempo de almacenamiento y al final también con la dosis de SO_2 a que fueron sometidas.

Como ya se mencionó anteriormente, al liberar la fruta de la exposición al gas los residuos en la mayoría de los casos aumentan ligeramente con respecto a la cantidad detectada inmediatamente después de retirada de frío y extraído el generador (Figura 4).

Este fenómeno se atribuye a que a partir de ese momento las cajas con uva quedaron a temperatura ambiente ($18 - 20^\circ\text{C}$), permitiendo la liberación de anhídrido sulfuroso a partir de los componentes de embalaje. Por este motivo se continuó determinando residuo, para conocer su permanencia a través de un período más prolongado a temperatura ambiente, el que se realizó con uva que había sido sometida a 1/2 generador por caja durante distintos tiempos, 14, 21 y 49 días en almacenaje refrigerado.

Después de finalizado los 14 días de almacenaje en frío (2 horas siguientes) existe una dispersión en los datos obtenidos que os

cila entre las 2,5 y 4,8 ppm para luego mantenerse a un nivel de aproximadamente 3,2 ppm hasta 12 horas, luego comienza una etapa de liberación gradual (disminución de residuos) llegando a las 28 horas a un nivel de concentración de 2,5 ppm. Durante este último período (entre 2 y 28 horas) el margen de dispersión que experimenta el contenido de anhídrido sulfuroso es de 1,5 ppm por sobre y debajo del promedio (Figura 5).

Este mismo seguimiento efectuado después de 21 días de almacenaje en frío a la misma presión de anhídrido sulfuroso, determinó una dispersión mayor y un nivel superior de residuo cercano a las 5 ppm en promedio. Cabe destacar que a medida que transcurrían las horas los residuos detectados aumentaban, a pesar del retiro de los generadores, hasta las 24 horas para descender lentamente hasta las 48 horas, momento en que se realizó la última determinación detectándose 3,5 ppm (Figura 6).

En el seguimiento efectuado luego de los 49 días de almacenamiento, los niveles de residuos detectados bajaron bruscamente de 6 ppm a 4,5 ppm en las primeras 5 horas, observándose una mínima dispersión. De ahí en adelante se mantuvo en este rango prácticamente por 260 horas, momento en que se realizó la última medición en este caso (Figura 7).

En resumen, la disipación del anhídrido sulfuroso al medio ambiente o su oxidación a través del tiempo se observa en la Figura 8, que para tiempos de 14 ó 21 días de exposición al gas se registraron en las bayas residuos tan bajos como de 2 ppm. Luego existe un pequeño incremento, probablemente por el aumento de temperatura al sacar la fruta del frío y finalmente se mantiene la cantidad original. Con 49 días de exposición al gas los residuos son inicialmente más altos, pero siempre a un nivel inferior a 7 ppm, lue-

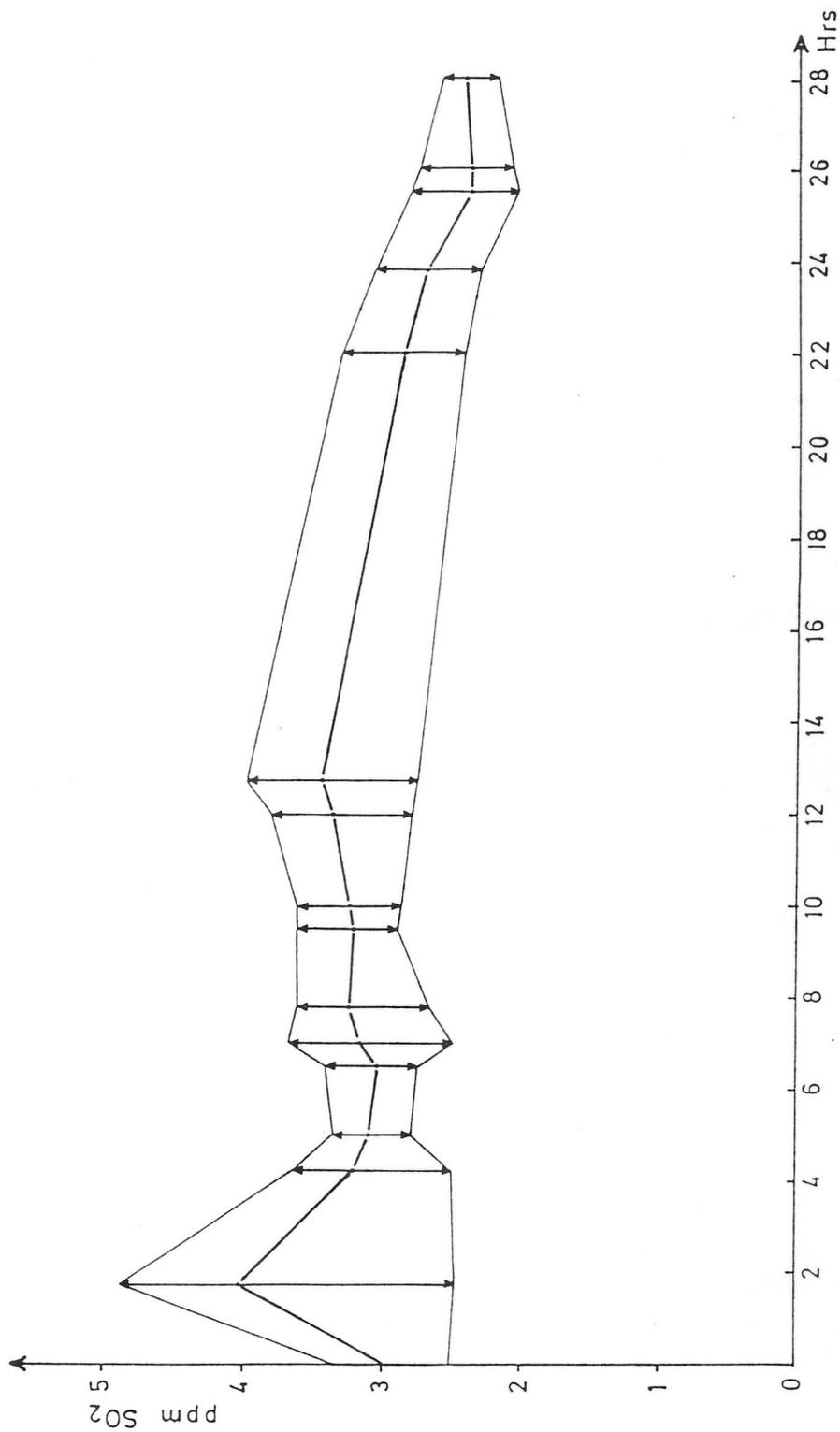


FIGURA 5. Permanencia de residuos de anhídrido sulfuroso después de 14 días de almacenamiento en frío con medio generador por caja.

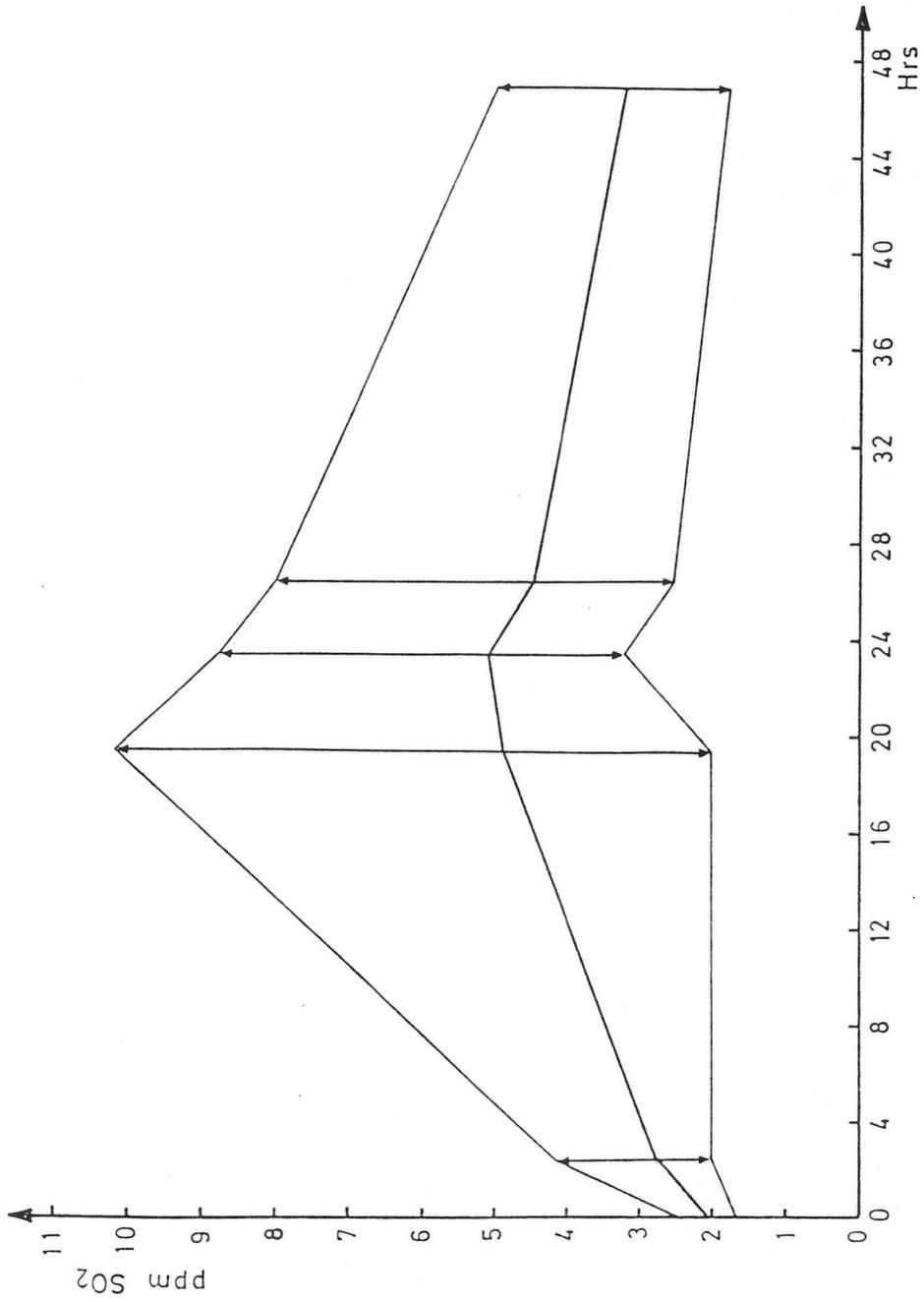


FIGURA 6. Permanencia de residuos de anhídrido sulfuroso después de 21 días de almacenamiento en frío con medio generador por caja.

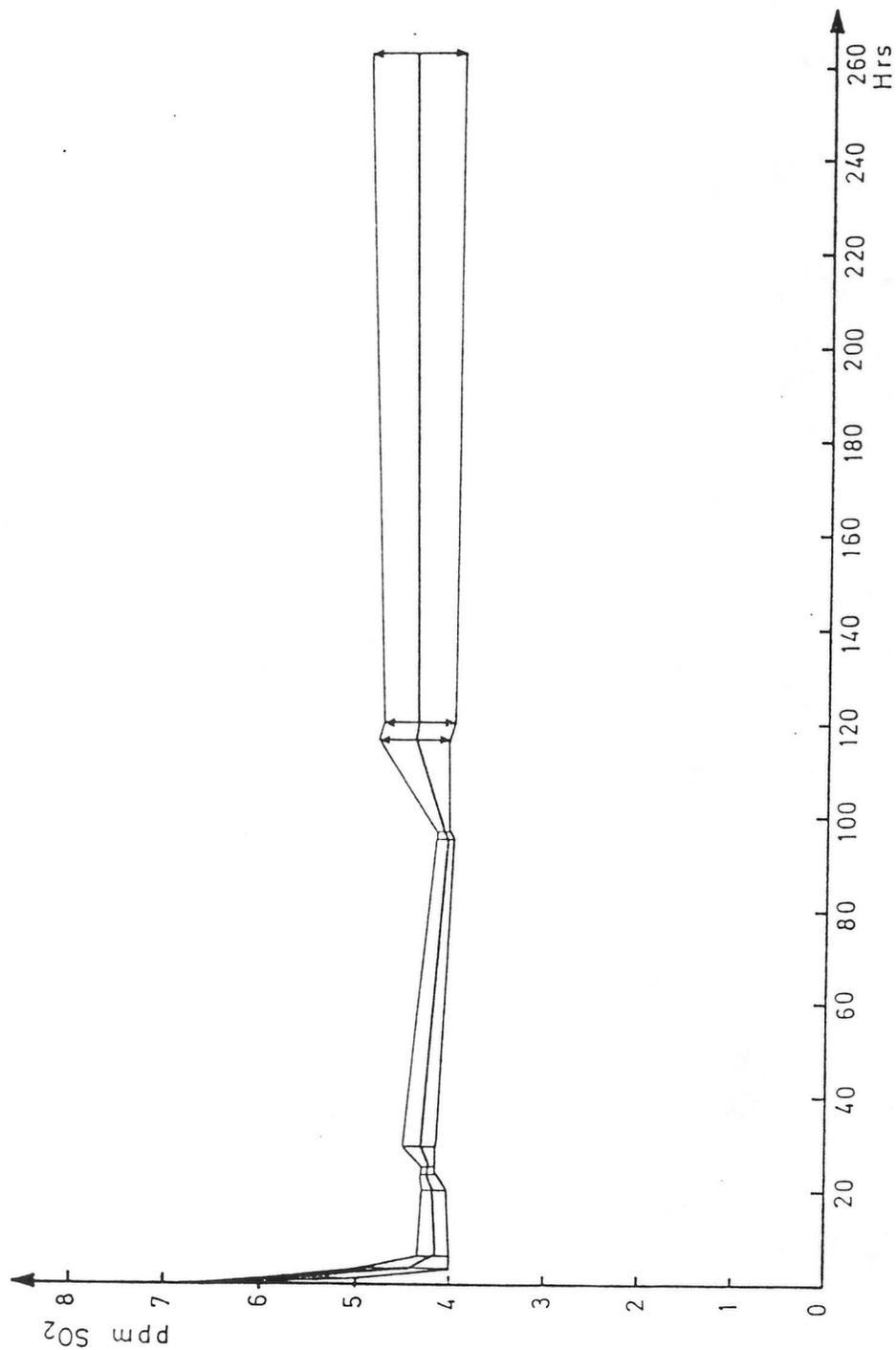


FIGURA 7. Permanencia de residuos de anhídrido sulfuroso después de 49 días de almacenamiento en frío con medio generador por caja.

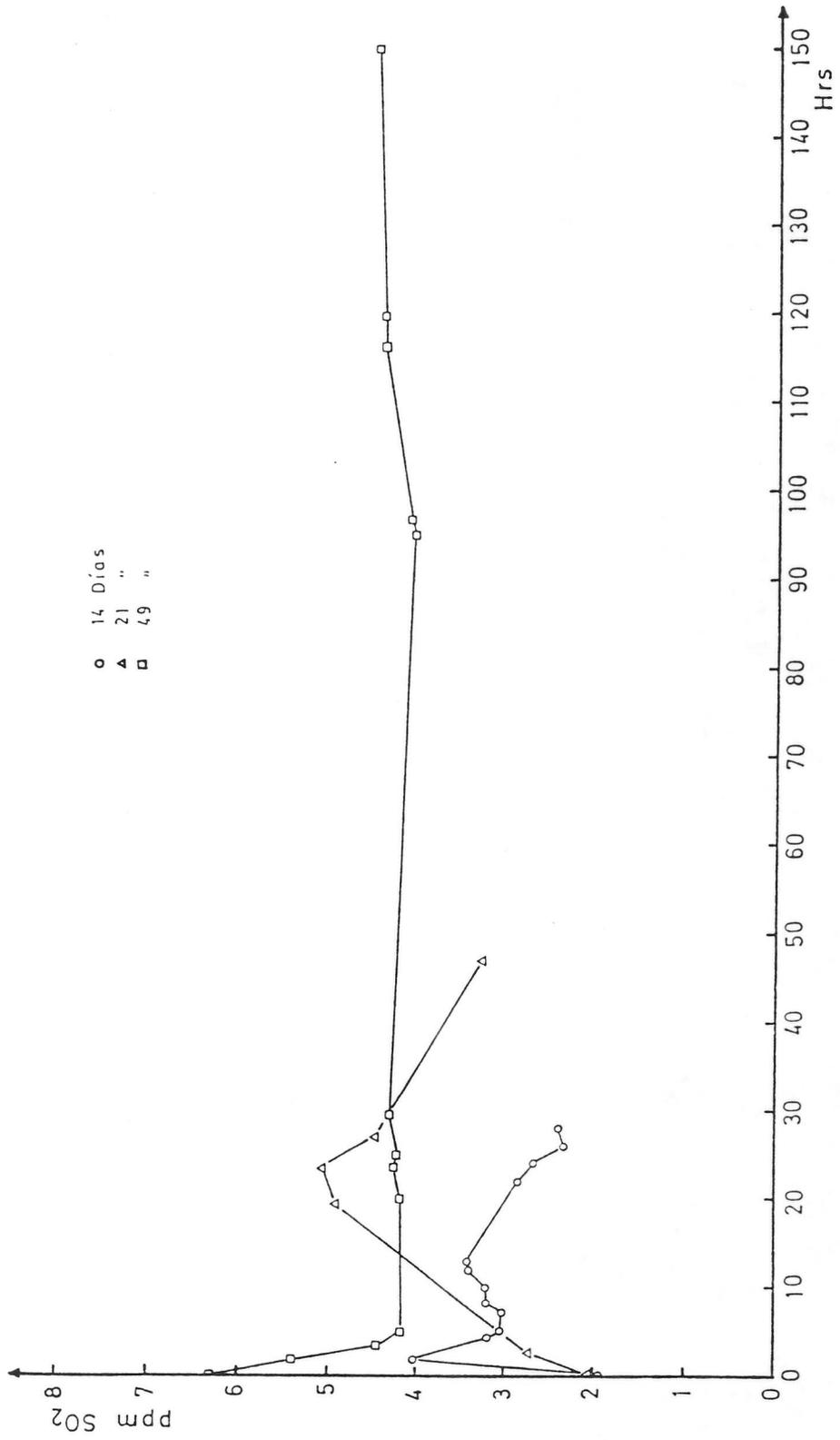


FIGURA 8. Permanencia de residuos de anhídrido sulfuroso después de almacenamiento en frío con medio generador por caja.

go baja a un nivel de 4 ppm para mantenerse a esa concentración por más de 150 horas.

La disipación del anhídrido sulfuroso es más rápida cuando se retira la uva del envase y se dejan los racimos libres, como es el caso de investigaciones efectuadas en USA 1/. En esos casos los residuos se reducen a valores inferiores de 1 ppm en 48 horas.

En el caso de este estudio, se dejaron los racimos dentro de la caja, incluso con el polietileno, a fin de simular la situación de exposición y venta en los mercados de destino.

Con respecto a los escobajos, se determinó que los residuos obtenidos inmediatamente después de sacarlos de la caja de uva donde estuvieron en presencia del gas (SO_2), presentan valores más altos que las bayas, 20 a 50 ppm en vez de 2-5 ppm. Al igual que en las bayas, este valor se incrementa a las pocas horas, bajando posteriormente y volviendo a subir después de 20 a 25 horas.

Estos antecedentes son muy útiles para considerar que si en alguna oportunidad se toma todo el racimo para analizar los residuos, el escobajo proporcionará aproximadamente 10 veces la concentración de las bayas.

1/ Morse Laboratories Inc., Sacramento.

ENSAYO 5

" Determinación de residuo de anhídrido sulfuroso según el porcentaje de azúcar en bayas del cv. Sultanina ".

Respecto a la relación entre los sólidos solubles y el residuo de SO₂ estudiada en frascos, tanto a los 14 como a los 28 días, se observó que no habían diferencias significativas a medida que aumentaba el porcentaje de azúcar en la uva (Cuadro 13). Es decir, a las concentraciones de SO₂ con que se trabajó no hubo aumento ni disminución en las ppm de anhídrido sulfuroso, a diferencia de lo expresado por Winkler y Jacob (1925) que encontraron que a medida que aumentaban los sólidos solubles, o la madurez de la uva, disminuían las ppm de SO₂ absorbidas.

CUADRO 13. Residuos de SO₂ según sólidos solubles en dos períodos de almacenamiento (ppm).

0 Brix	14 días	28 días
14,5	2,12 ab	4,18 b
15,5	2,49 ab	4,05 b
16,5	2,96 a	3,56 b
17,5	2,17 ab	3,93 b
18,5	1,80 b	5,23 a
19,5	2,30 ab	3,34 b

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$, según la prueba de rango múltiple de Duncan.

En el caso de experimentos realizados en cajas de madera (Cuadro 14), hubo diferencias significativas después de 14 días de almacenamiento a las 0 horas y después de 18 días a las 24 horas, mostrando una relación opuesta a lo expresado por Winkler y Jacob (1925), en la situación de los 14 días, y sólo en el caso de los 28 días a las 24 horas hubo una relación acorde a esos autores.

Estas diferencias encontradas con los citados autores se pueden atribuir a las altas dosis de anhídrido sulfuroso con que ellos trabajaron, detectándose residuos de 43 ppm en bayas maduras (27°B) y 262 ppm en bayas inmaduras (13°B) de la variedad Muscat, es decir, que esta absorción diferencial de anhídrido sulfuroso según el contenido de azúcar no se produciría con las dosis utilizadas en esta investigación.

CUADRO 14. Residuos de SO_2 según sólidos solubles en dos períodos de almacenamiento (ppm).

°Brix	14 días		28 días	
	0 hora	24 horas	0 hora	24 horas
14,5	1,77 bc	1,79 b	4,19 ab	5,84 a
15,5	1,51 c	1,69 b	4,21 ab	4,10 b
16,5	1,35 c	5,46 a	3,84 b	4,31 b
17,5	1,35 c	5,73 a	3,94 b	4,43 b
18,5	2,97 ab	2,93 b	4,65 ab	5,05 ab
19,5	3,54 a	3,21 b	5,06 a	4,44 b

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$, según la prueba de rango múltiple de Duncan.

ENSAYO 6

"Determinación de residuo de anhídrido sulfuroso según temperatura de aplicación del gas y de conservación de las bayas".

Con respecto al efecto de la temperatura sobre el nivel de residuo, se puede señalar que es más importante la temperatura de aplicación de SO_2 que la temperatura posterior de guarda.

Esto se verificó en esta investigación, ya que en tres oportunidades se realizó la aplicación de anhídrido sulfuroso a las uvas a la temperatura ambiente (18°C), para luego almacenarla a distintas temperaturas. El análisis estadístico no arrojó diferencias significativas en los primeros casos, ya que el nivel de residuo fue muy similar. En el tercer caso hay una marcada tendencia a mayor absorción a la menor temperatura, pero esto no fue concluyente debido a la gran dispersión que presentaron los datos.

Diferentes fueron los resultados cuando la aplicación se realizó en otras dos oportunidades sobre uvas con temperatura de pulpa a 0°C , 5°C y 20°C y almacenadas a esas mismas temperaturas.

Aun cuando no hubo diferencia estadística, al realizarse la aplicación en frascos sí hubo una clara tendencia a aumentar el nivel de residuo a mayor temperatura de aplicación.

En la quinta oportunidad se hizo la aplicación sobre uva en caja de madera y aquí sí se obtuvieron diferencias significativas entre las dos temperaturas menores, respecto a la más alta (Cuadro 15).

CUADRO 15. Niveles de residuo de SO₂ (ppm), con aplicación a temperatura ambiente (18°C) y a la misma temperatura de guarda.

Temp.	Aplicación a 18°C			Aplicación a T° guarda		
	Fecha	12.03	16.03	27.03	15.04	5.05
0°C		3,2	2,8	21,9	5,1	4,1 a [#]
5°C		3,9	3,2	17,0	8,8	4,6 a
10°C		-	-	15,6	-	-
20°C		3,2	2,8	14,3	10,8	5,7 b

* Duncan \leq 0,05.

ENSAYO 7

" Determinación de residuo de anhídrido sulfuroso en distintas variedades de uva de mesa ".

La madurez que presentaron las uvas de las variedades en estudio en relación a los índices sólidos solubles y acidez titulable, se presentan en el Cuadro 16.

CUADRO 16. Madurez de las cinco variedades de uva de mesa en relación a los índices sólidos solubles y acidez titulable.

		Flame Seedless	Ribier	Black Seedless	Sultanina	Red Seedless
Sólidos Solubles (°Brix)	promedio	19,8	15,6	19,0	16,3	16,1
	rango	18,4-21,1	15,2-16,2	17,7-19,7	14,8-18	14,7-17,9
Acidez titulable (%)	promedio	0,47	0,65	0,61	0,54	0,44
	rango	0,42-0,52	0,63-0,70	0,57-0,68	0,35-0,63	0,38-0,55

Los residuos determinados en la variedad Flame Seedlees indican que esta variedad es capaz de retener una cantidad ligeramente superior a aquellas obtenidas en la variedad Sultanina.

Al cabo de 24 horas de retirada la fruta de las cajas, el contenido de SO₂ registrado es mayor.

Con respecto al número de días que la fruta estuvo sometida al gas, pareciera no influir ya que como se aprecia en el Cuadro 17 no habría diferencia estadística al sacar la fruta de almacenaje. Sin embargo, a las 24 horas también aumentan ligeramente los residuos, siendo en este caso el mayor aumento con la fruta que sólo se expuso 14 días al gas, dando incluso diferencias estadísticas significativas con respecto a 21 y 28 días. Cabe señalar que la dispersión en este caso fue bastante alta.

CUADRO 17. Residuos de anhídrido sulfuroso en Flame Seedless según tiempo de exposición (ppm).

	0 horas	24 horas
14 días	6,45 a	15,3 a
21 días	4,07 a	5,3 b
28 días	4,72 a	3,5 b

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$, según la prueba múltiples de Duncan.

La variedad Ribier presentó residuos más bajos que las demás variedades aún cuando no es diferente estadísticamente.

La disipación al SO_2 de la fruta sometida al gas por 28 días fue mayor a las 24 horas que en las fechas anteriores. En el Cuadro 18 se aprecia la diferencia significativa que se obtuvo con respecto a dichas fechas.

CUADRO 18. Residuos de anhídrido sulfuroso en Ribier según tiempo de exposición (ppm).

	0 horas	24 horas
14 días	2,90 a	3,22 b
21 días	3,63 a	3,95 a
28 días	3,77 a	1,50 c

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$, según la prueba de rango múltiple de Duncan.

Los residuos determinados para la variedad Black Seedless indican que pasados los 21 días no aumenta el contenido de SO_2 en las bayas y se podría considerar saturadas ya que a los 28 días los residuos son estadísticamente menores que a los 14 y 21 días (Cuadro 19). La determinación a las 24 horas es semejante para las 3 fechas, lo que podría indicar que no habrían pérdidas de SO_2 una vez que la fruta está fuera del ambiente gaseoso.

CUADRO 19. Residuos de anhídrido sulfuroso en Black Seedless según tiempo de exposición (ppm).

	0 horas	24 horas
14 días	4,77 ab	4,51 a
21 días	5,93 a	3,99 a
28 días	3,81 b	4,06 a

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$ según la prueba de rango múltiple de Duncan.

La variedad Sultanina arrojó valores bastante semejantes para las distintas fechas y no variaron al determinar los residuos a las 24 horas (Cuadro 20).

CUADRO 20. Residuos de anhídrido sulfuroso en Sultanina según tiempo de exposición (ppm).

	0 horas	24 horas
14 días	3,92 ab	4,24 a
21 días	3,53 b	3,59 b
28 días	4,24 a	4,03 ab

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$ según la prueba de rango múltiple de Duncan.

La variedad Red Seedless presentó valores más bien altos y ma yores con mayor tiempo a la exposición al gas, pero no resultando diferente en las tres fechas por la gran dispersión de los valores obtenidos. A las 24 horas las cifras se mantenían altas y tampoco se diferenciaron estadísticamente (Cuadro 21).

CUADRO 21. Residuos de anhídrido sulfuroso en Red Seedles según tiempo de exposición (ppm).

	0 horas	24 horas
14 días	5,71 a	6,51 a
21 días	3,70 a	5,94 a
24 días	7,89 a	7,72 a

Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente para la probabilidad $\leq 0,05$ según la prueba de rango múltiple de Duncan.

Comparando todas las variedades entre sí, se aprecia en el Cua dro 22 que a los 14 días la variedad Flame Seedless es la que presen ta una diferencia significativa con respecto a las demás. A los 21 días lo es la variedad Black Seedless y a los 28 días la variedad Red Seedless. (En cada caso presentaron los valores más altos).

Estos antecedentes nos permiten suponer que la velocidad o ca pacidad de absorción es distinta para las diferentes variedades, pe ro no la cantidad total que cada una pueda retener.

CUADRO 22. Residuos de anhídrido sulfuroso en las cinco variedades de uva según el tiempo de exposición (ppm).

		Flame Seedless	Ribier	Black Seedless	Sultanina	Red Seedless
14 días	0 h	6,45 a	2,90 b	4,77 ab	3,82 ab	5,71 ab
	24 h	15,3 a	1,50 b	4,51 b	4,24 b	6,51 b
21 días	0 h	4,07 b	3,63 b	5,93 a	3,53 b	3,70 b
	24 h	5,30 ab	3,22 b	3,99 ab	3,59 b	5,94 a
28 días	0 h	4,78 ab	3,77 b	3,81 b	4,24 b	7,89 a
	24 h	3,54 b	3,95 b	4,10 b	4,03 b	7,72 a

Promedios en la misma línea seguidos de la misma letra no difieren estadísticamente, para la probabilidad $\leq 0,05$ según la prueba de rango múltiple de Duncan.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación permiten concluir que:

1. A mayor porcentaje de infección en plena flor, mayor será el porcentaje de pudrición en postcosecha. La infección de plena flor se manifiesta en la cosecha y en el período de postcosecha y se conoce como infección endógena. Los generadores de SO_2 permiten controlar la botritis exógena o superficial retardando solamente la infección endógena. Con los resultados y la ecuación de regresión obtenida en este estudio se puede pronosticar el nivel de infección en postcosecha.

De acuerdo a estos resultados, el control o prevención de la infección en plena flor es fundamental para obtener una uva sana en la cosecha y por consecuencia con bajo nivel de infección endógena.

2. Las dosis de SO_2 utilizadas en las gasificaciones de preembalaje (0,25 y 0,5%) resultan ser efectivas en el control de pudriciones de B. cinerea en postcosecha, no detectándose diferencias significativas entre éstas con los diferentes niveles de infección (dosis de inóculo). Por lo tanto, utilizar dosis de SO_2 más altas a 0,25% (0,5%) en el período de preembalaje, no asegurará un control más eficiente de las pudriciones, dependiendo éste exclusivamente del nivel de infección endógena presente en la fruta.

A medida que transcurre el tiempo de almacenaje, la incidencia de la temperatura en la condición fitosanitaria de la uva adquiere mayor relevancia. Es así como, el nivel de in-

fección y las dosis de los tratamientos de SO_2 no muestran diferencias entre sí cuando la uva se almacena a 5°C .

Es por esto último que la eficiencia de un tratamiento de SO_2 en postcosecha estará directamente relacionado con la temperatura de almacenaje, y ésta debería ser durante todo el período de transporte y almacenaje igual a 0°C .

Así mismo, es importante señalar que gasificaciones de pre-embalaje con las dosis utilizadas en este estudio (0,25% y 0,5% de SO_2) no muestran niveles residuales superiores a 2,1 ppm del gas en la fruta.

3. Cuando se utilizan concentraciones bajas de SO_2 (2 y 5 ppm, gasificaciones IN VITRO), la efectividad del tratamiento depende del estado de desarrollo en que se encuentre la esp o ra, siendo más sensibles a la acción del gas las con mayor tiempo de incubación. A concentraciones más altas de gas (12 ppm), el factor de desarrollo de la esp o ra tiene menor importancia debido a que la sensibilidad de la esp o ra al gas es igual tanto a las 0 como a las 6 y 12 horas de incubación.

Por lo tanto, bajo las condiciones de este ensayo la dosis de 12 ppm es la más efectiva para controlar Botritis en diferentes estados de desarrollo.

4. La cantidad de residuo de SO_2 encontrado en las bayas está en relación directa, aunque no proporcional, con la cantidad de generadores de SO_2 utilizados.
5. A mayor tiempo de exposición al gas de SO_2 del generador aumentan los residuos en la fruta alcanzando un máximo en este estudio a los 28 días. Con posterioridad a 35 días, los residuos detectables para todas las dosis son menores.

6. Debe considerarse el momento de realizar los análisis de residuo. Se ha observado que, después de retirar la fruta del frío y retirar el generador de SO_2 , hay un aumento en la cantidad de residuos detectables, y al mismo tiempo, se observa una dispersión de valores, especialmente al cabo de 21 días, con niveles cercanos a 10 ppm.
7. Los residuos detectados en los escobajos son diez veces mayores que los de las bayas, lo que debe ser considerado ante la eventualidad de un análisis en conjunto de los racimos.
8. La mayor o menor absorción de SO_2 por parte de las bayas está en función de la temperatura en que se encuentra la fruta al momento de la gasificación o exposición al gas. El descenso de la temperatura una vez gasificada a una cierta dosis, no influye en la cantidad de residuo detectable.
9. Las distintas variedades de uva de mesa retienen el anhídrido sulfuroso en cantidades ligeramente diferentes, debido a distintas velocidades de absorción y a que la disipación es fluctuante una vez liberados de la acción del gas.
10. Del estudio de los azúcares se desprende que dentro del rango de madurez, expresado en sólidos solubles, con que se exporta la uva de mesa los residuos que se pueden esperar no varían fundamentalmente.
11. En conclusión, se puede establecer que, con un buen manejo del huerto que permita un bajo nivel de Botrytis endógena, cosecha con madurez adecuada, uso de temperaturas bajas y sostenidas en postcosecha y uso de 1/2 generador por caja de 5 kg de uva, se puede cumplir con la norma de niveles de residuo de SO_2 inferiores a 10 ppm y llegar a los mercados en condiciones sanitarias adecuadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. CANT, R.R., NELSON, K.E. 1957. Factors affecting the concentration of sulphur dioxide in fumigation atmosphere for table grapes. Am. Soc. Hort. Sci. 69: 240-249.
2. HARVEY, J.M. 1955. A method of Forecasting Decay in California storage grapes. Phyttopathology, 65: 229-232.
3. NELSON, K.E. & G.H. BEKER. 1963. Studies on the sulphur dioxide fumigation of table grapes. Amer. J. Enol. Vitic. 14: 13-22.
4. RUIZ, P. 1984. Diferentes métodos de aplicación de SO₂ en post cosecha para la conservación de uva de mesa (Vitis vinifera L.) cv. Sultanina. Tesis Ing. Agr., Fac. de Cs. Agr. y For. Univ. de Chile. 80 p.
5. RYALL, L. y PENTZER, W. 1982. Handlings transportation and storage of fruits and vegetables. Second Edition, Vol. 2, p. 610.
6. WINKLER, A.J. & JACOB, H.E. 1925. Sulphur dioxide in marketing of grapes. Hilgardia 1(6): 107-131.
7. WINKLER, A.J. 1974. General Viticulture. 710 p.

ANEXO 1

Ensayo 2. Resultados gasificación de preembalaje.

La Prueba de Rango Múltiple de Duncan al 5% y al 1%, para los factores se resumen a continuación:

Media *					
	N	Eval. 1	Eval. 2	Eval. 3	Eval. 4
Factor gasificación					
0,50	6	0,0000 a	0,2667 a	0,9000 a	2,1667 a
0,25	6	0,0000 a	0,2333 a	0,6000 a	1,6000 a
0,0	10	0,7125 b	1,5375 b	2,2500 b	3,2125 b
Media **					
	N	Eval. 1	Eval. 2	Eval. 3	Eval. 4
Factor temperatura					
0°C	14	0,0571 a	0,0857 a	0,4571 a	1,8429 a
5°C	14	0,7571 b	1,8857 b	2,7571 b	3,4429 b

* Calculada sobre las dos temperaturas.

** Calculada sobre los tres niveles de gasificación.

ANEXO 2

Ensayo 2

La Prueba de Rango Múltiple de Duncan para la combinación de los niveles de los factores, por evaluación, se resume así:

Evaluación	Temp.	Gasif.	Trat.	N	Media	$\alpha=0,05$	$\alpha=0,01$
1	5°C	0,50	T9	3	0,000	a	
	5°C	0,25	T8	3	0,000	a	
	0°C	0,50	T18	3	0,000	a	
	0°C	0,25	T17	3	0,000	a	
	0°C	0	T10	8	0,100	a	
	5°C	0	T1	8	1,3250	b	
2	0°C	0,50	T18	3	0,000	a	
	0°C	0,25	T17	3	0,000	a	
	0°C	0	T10	8	0,150	a	
	5°C	0,25	T8	3	0,4667	a	
	5°C	0,50	T9	3	0,5333	a	
	5°C	0	T1	8	2,9250	b	
3	0°C	0,50	T18	3	0,1333	a	a
	0°C	0,25	T17	3	0,2667	a	a
	0°C	0	T10	8	0,6500	a	ab
	5°C	0,25	T8	3	0,9333	ab	ab
	5°C	0,50	T9	3	1,6667	b	b
	5°C	0	T1	8	3,8500	c	c
4	0°C	0,25	T17	3	0,8667	a	a
	0°C	0,50	T18	3	1,2667	a	ab
	5°C	0,25	T8	3	2,3333	b	bc
	0°C	0	T10	8	2,4250	b	bc
	5°C	0,50	T9	3	3,0667	b	cd
	5°C	0	T1	8	4,0000	c	d

ANEXO 3

METODOS FISICO-QUIMICOS

1. Método de Monier-Williams Modificado: Este método determina SO₂ total (Anexo 5).

Procedimiento: se utilizó el aparato de destilación que se describe en la Figura 3-1.

A los matraces a y b se agregan 400 ml de Pirogalol y 400 ml de Agua Destilada, respectivamente.

Se agregan 15 ml del reactivo H₂O₂ al 3% al matraz receptor f y 5 ml del reactivo H₂O₂ al 3% al tubo de Peligot (g).

Se conecta el matraz receptor al borde superior del condensador d, estando seguros que el tubo de descarga se extiende bajo la superficie del H₂O₂ en el matraz de recepción.

Se limpia el aparato antes de cada determinación, por aproximadamente 15 minutos con un flujo de Nitrógeno (libre de Oxígeno) ajustando el gas de manera que haya un flujo constante a través del tubo de Peligot.

Remover la tapa del embudo de decantación e (colocado en una de las bocas del matraz principal c), agregar 50 g de muestra y ta par inmediatamente.

Agregar 300 ml de agua destilada recientemente hervida y todavía caliente que contenga 10 ml de HCl concentrado, a través del

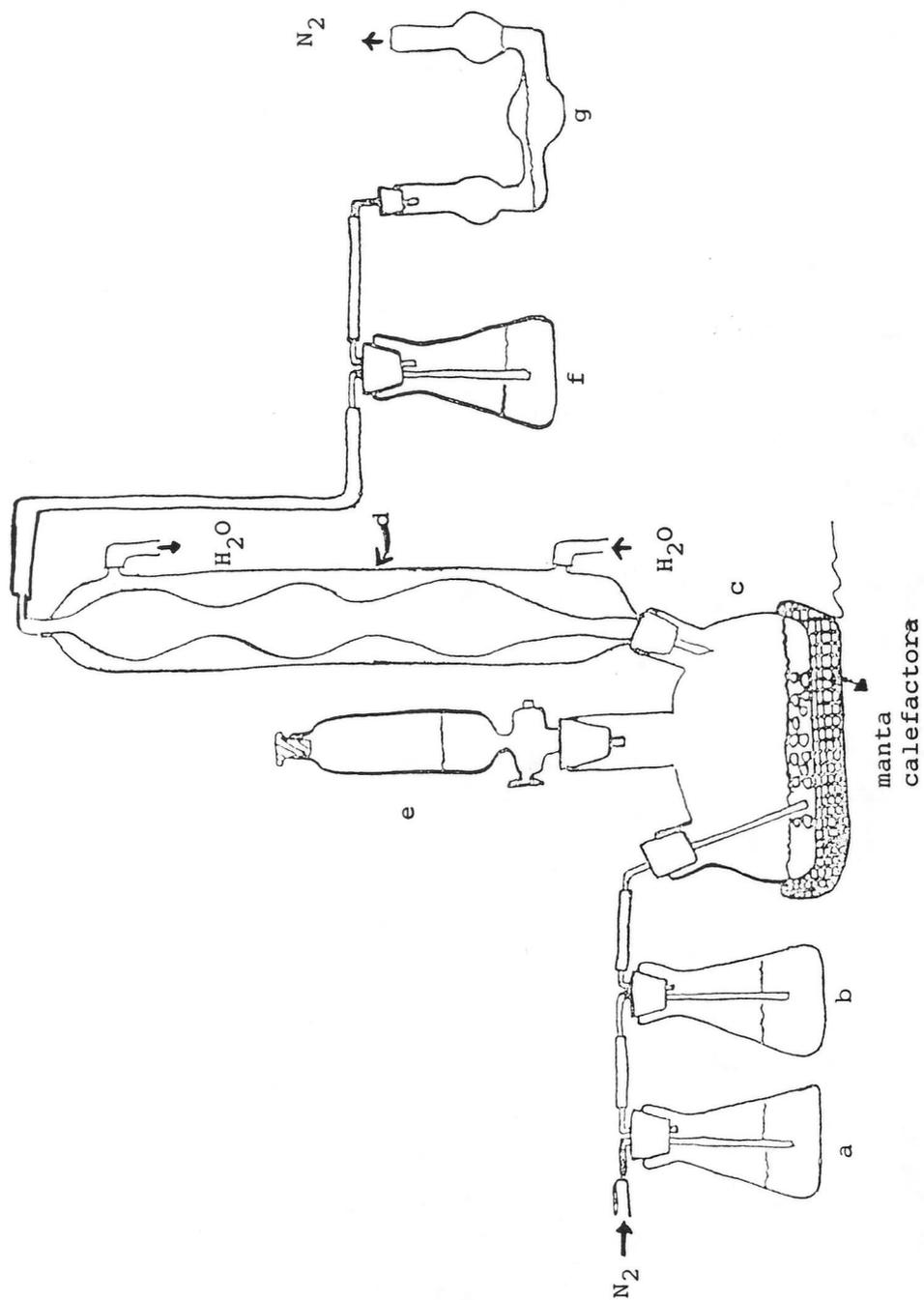


FIGURA 3.1 Sistema de destilación utilizado en Método Monier-Williams Modificado.

embudo de decantación. La adición debe ser hecha constantemente y una pequeña porción debe permanecer en el embudo de decantación para evitar pérdidas de anhídrido sulfuroso a través de una presión de vuelta.

Calentar a reflujo por 105 minutos en una corriente de Nitrógeno (200 ml/min) y una vez transcurrido ese tiempo transferir los contenidos del matraz a recepción y del tubo de Peligot a un vaso de precipitados de 250 ml con un lavado adecuado. La destilación se hizo con goteo de 85 gotas/min.

Diluir a aproximadamente 100 ml y titular con NaOH 0,1 N o 0,01 N hasta pH = 6. Escoger la Normalidad sobre la base del contenido sospechado de SO₂ o el pH inicial (para pH 1,9 usar NaOH 0,10 N y para pH 2,5 usar NaOH 0,01 N).

La relación utilizada es la siguiente:

1 ml NaOH 0,1 N corresponde a 3,2 mg SO₂

2. Método volumétrico Yodo-Tiosulfato

Este método se utilizó para analizar el anhídrido sulfuroso que existía en el ambiente de los frascos, según el esquema que se presenta en la Figura 3-2.

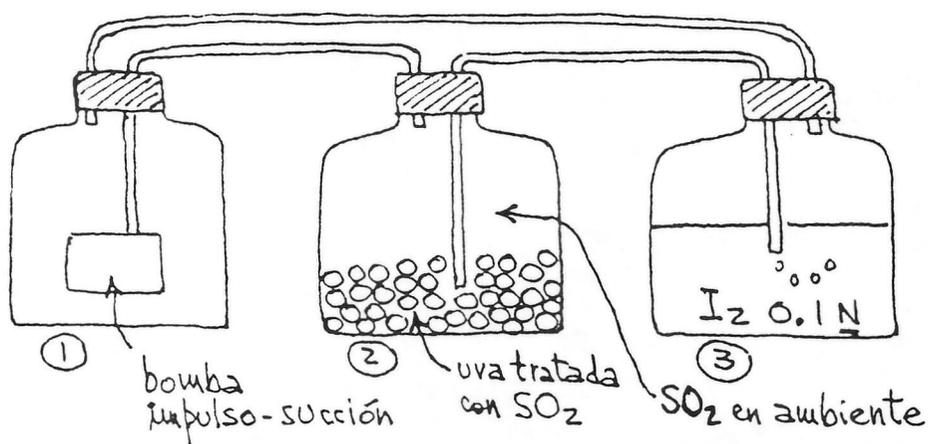


FIGURA 3-2.

En el frasco 3 se colocó un exceso conocido de I_2 0,1 N, el cual reacciona con el SO_2 proveniente del ambiente del frasco 2 de acuerdo con la reacción:



Como el I_2 está en exceso quedará un remanente que se hace reaccionar con $Na_2S_2O_3$ 0,1 N para saber por diferencia la cantidad de I_2 que reaccionó con el SO_2 y de esa forma calcular también el SO_2 presente en el ambiente del frasco 2.



La relación utilizada:

1 ml $Na_2S_2O_3$ 0,1 N corresponde a 3,2 mg SO_2

3. Método densimétrico de Nelson et al.

Este método se utilizó para determinar los Sólidos Solubles de uvas sin destruir las bayas.

El método consiste en sacar muestras de bayas cortadas del racimo y puestas en solución de Sacarosa de 19,5°Brix a una misma temperatura. Aquellas bayas que se hunden son descartadas por sobremaduras y aquellas que flotan son transferidas a una solución de 18,5°Brix.

En esta solución de 18,5°Brix las bayas que se hunden se designan como de 19°Brix; aquellas que flotan son transferidas a la solución próxima más baja de 17,5°Brix donde la fracción sumergida es recobrada como fruta de 18°Brix. De esta forma se obtienen distintos niveles de madurez. Estas concentraciones son ajustadas permanentemente para mantener los grados Brix dentro de un 0,3% del nivel establecido como máximo error.

En esta investigación se comenzó con la concentración más baja para evitar que la fruta absorbiera sacarosa en mayor concentración de la que tiene, ya sea por aberturas naturales o artificiales.

Se verificó con refractómetro la concentración de sólidos solubles de la solución y se limpiaron las bayas con papel absorbente.

4. Determinación de Sólidos Solubles

Esta determinación se realizó con el jugo proveniente de las bayas utilizando un reafractómetro manual, de temperatura compensada marca A.O. Los resultados se expresaron en °Brix.

5. Determinación de Acidez

Esta determinación se realizó con 10 ml de jugo proveniente de las bayas y titulando con NaOH 0,1 N hasta pH = 8,2 usando un pHmetro marca Hanna. Los resultados se expresaron como % p/v de Acido Tartárico.

6. Determinación de tasa respiratoria

Se efectuó midiendo la evolución del anhídrido carbónico (CO₂), utilizando para ello el método infrarrojo de determinación de CO₂ (analizador URAS).

ANEXO 4

Sección A

En la primera evaluación, la prueba de Rango Múltiple de Duncan para los tratamientos (combinación de los niveles de los factores más tratamiento 19 y 20) dió el resultado que se muestra:

Tratamiento	N	Media	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
17	3	0,000	a	a
9	3	0,000	a	a
18	3	0,000	a	a
8	3	0,000	a	a
10	8	0,100	a	a
14	8	0,725	b	b
4	8	0,950	bc	b
15	8	1,175	bc	b
16	8	1,175	bc	b
5	8	1,300	c	b
1	8	1,325	c	b
13	8	1,400	c	b
19	5	2,200	d	c
7	8	2,275	d	cd
12	8	2,275	d	cd
11	8	2,375	de	cd
6	8	2,425	def	cd
20	5	2,560	def	cd
2	8	2,875	ef	cd
3	8	2,925	f	d

Sección B

En esta segunda evaluación, la Prueba de Rango Múltiple de Duncan para los tratamientos (combinación de los niveles de los factores más tratamiento 19 y 20) dió el resultado que se muestra:

Tratamiento	N	Media	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
17	3	0,0000	a	a
18	3	0,0000	a	a
10	8	0,1500	a	a
8	3	0,4667	a	a
9	3	0,5333	a	a
14	8	1,3500	b	b
16	8	1,6500	b c	b c
15	8	2,0000	c d	b c d
4	8	2,0000	c d	b c d
13	8	2,1000	c d e	b c d e
11	8	2,2250	c d e	c d e
5	8	2,3500	d e f	c d e
12	8	2,5250	d e f	d e f
19	5	2,720	e f g	d e f
20	5	2,880	f g	e f
1	8	2,925	f g	e f
7	8	3,250	g	f g
6	8	3,350	g	f g
3	8	3,950	h	g
2	8	3,975	h	g

Sección C

Para la 3a. fecha de evaluaciones , la Prueba de Rango Múltiple de Duncan para los tratamientos (combinación de los niveles de los factores más tratamientos 19 y 20) dió el resultado que se muestra:

Tratamiento	N	Media	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
18	3	0,1333	a	a
17	3	0,2667	a b	a
10	8	0,6500	a b c	a b
8	3	0,9333	b c d	a b c
14	8	1,3750	c d e	b c d
16	8	1,6000	d e	b c d e
9	3	1,6667	d e	c d e
13	8	1,9500	e f	d e f
4	8	2,0750	e f g	d e f g
15	8	2,4750	f g h	e f g h
20	5	2,480	f g h	e f g h
5	8	2,825	g h i	f g h i
19	5	2,920	h i	f g h i j
12	8	3,075	h i j	g h i j k
11	8	3,225	h i j k	h i j k
6	8	3,500	i j k	h i j k
7	8	3,575	i j k	i j k
1	8	3,850	j k	i j k
2	8	3,950	k	j k
3	8	3,975	k	k

Sección D

En la 4a. y última fecha de evaluación, la Prueba de Rango Múltiple de Duncan para los tratamientos (combinación de los niveles de los factores más tratamientos 19 y 20) dió el resultado que se muestra:

Tratamiento	N	Media	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
17	3	0,8667	a	a
18	3	1,2667	a	a
16	8	2,2250	b	b
8	3	2,3333	b	b
10	8	2,4250	b c	b
14	8	2,4500	b c	b
13	8	2,5000	b c	b
15	8	2,7000	b c	b c
19	5	2,8400	b c d	b c d
20	5	3,0000	c d e	b c d
12	8	3,0250	c d e	b c d
9	3	3,0667	c d e f	b c d
11	8	3,3750	d e f g	c d e
5	8	3,5000	e f g	c d e
4	8	3,6500	f g	d e
7	8	3,8750	g	e
6	8	3,9500	g	e
3	8	4,0000	g	e
2	8	4,0000	g	e
1	8	4,0000	g	e

ANEXO 5

Características físico-químicas del Azufre, Anhídrido Sulfuroso, Anhídrido Sulfuroso Libre, Anhídrido Sulfuroso Combinado y Anhídrido Sulfuroso Total

- Azufre (S): Es un elemento no-metálico de $\overline{PA} = 32,064 \pm 0,003$ y $Z = 16$, conocido de tiempos muy antiguos y que se encuentra en la Naturaleza al estado libre y en combinación (principalmente como sulfuros y sulfatos). Constituye el 0,05% de la corteza terrestre.

La forma ortorrómbica (α -azufre), son cristales de color ámbar, es considerada la forma estable a temperatura ordinaria; tiene $d = 2,06$ y cuando es calentada a $94,5^{\circ}\text{C}$ llega a ser opaca debido a la formación de azufre monoclinico.

La forma monoclinica (β -azufre) son cristales como agujas de color amarillo débil, opacos y estable entre $94,5^{\circ}\text{C}$ y 120°C . Su densidad es 1,96 y su Punto de Fusión es $115,21^{\circ}\text{C}$.

La segunda forma monoclinica (γ -azufre) tiene un punto de fusión de $106,8^{\circ}\text{C}$.

El azufre es insoluble en agua, escasamente soluble en alcohol etílico y en éter. Es soluble en Sulfuro de Carbono (1 g/2 ml); también en benceno (2,4% a 30°C), en tolueno y otros solventes.

Se quema en el aire sobre 261°C y produce SO_2 . Se combi-

na fácilmente con el Hidrógeno. Se combina en frío con F, Cl y Br. También con Li, Na, K, Cu, Hg y Ag. Se combina con C a altas temperaturas y reacciona con Si, P, As, Sb y Bi en sus Puntos de Fusión.

Se combina con casi todos los metales. Con Mg, Zn y Cd muy lentamente en frío y más rápidamente en calor.

No reacciona con I, N, Te, Au, Pt e Ir.

Usos

Se usa para fabricar H_2SO_4 , CS_2 , Sulfitos, insecticidas, plásticos, cementos (vidrio-metal), vulcanización del caucho, síntesis de colorantes, fabricación de pólvora, fósforos, blanqueador de pulpa de madera, lana, seda, etc. En Medicina Veterinaria se usa externamente como antiséptico y parasitocida y en uso interno como laxante y coccidiostato.

Precaución

Puede causar irritación de la piel y de membranas mucosas.

- Anhídrido Sulfuroso (SO_2): Es un compuesto de $\overline{PM} = 64,07$ que se presenta como gas incoloro y no-inflamable. Tiene un olor sofocante y picante intenso. Se condensa a $-10^\circ C$ y presión ordinaria a un líquido incoloro de $d = 1,5$. Se solidifica a $-72^\circ C$ y tiene un Punto de Ebullición de $-10^\circ C$.

Si se mezcla con Oxígeno y es pasado sobre Pt calentado al rojo, se convierte en SO_3 .

Con H_2O reacciona formando ácido sulfuroso (H_2SO_3). Decolora colores vegetales y es soluble: 17,7% a $0^\circ C$ en H_2O , 25% en Alcohol, 32% en Metanol y también es soluble en Cloroformo y Eter.

Se vende comprimido en cilindros metálicos.

Usos

Se usa para preservar frutas, vegetales, etc. Es desinfectante en cervecerías y fábricas de alimentos. Es blanqueador de fibras textiles, gelatina, azúcar de remolacha y cola.

Precaución

Es intensamente irritante a los ojos y tracto respiratorio. En personas con asma alérgica puede causar problemas serios.

- Anhídrido Sulfuroso Libre, Anhídrido Sulfuroso Combinado y Anhídrido Sulfuroso Total

El anhídrido sulfuroso puede estar presente en los alimentos fundamentalmente en dos formas: como anhídrido sulfuroso libre y como anhídrido sulfuroso combinado. La suma de estas formas de SO_2 es lo que se conoce como Anhídrido Sulfuroso Total: SO_2 Total = SO_2 Libre + SO_2 Combinado.

- Anhídrido Sulfuroso Libre: Cuando se encuentra como gas es la forma activa que tiene poder antiséptico y ataca a los hongos. Tiene un olor característico y picante. Generalmente se determina por titulación directa con yodo en exceso que se retrotitula con Tiosulfato de Sodio.

- . Anhídrido Sulfuroso Combinado: El anhídrido sulfuroso se combina con un gran número de sustancias que podemos resumir en dos grupos: aquellas que forman combinaciones inestables o reversibles las cuales pueden ser glucosa, arabinosa, ácidos urónicos, polisacáridos, polifenoles, ácido dicetoglucónico, ácido α -cetoglutárico, ácido pirúvico, cetofructosa, etc. y aquellas sustancias que forman combinaciones estables (pequeñas constantes de equilibrio) como los aldehidos (acetaldehido por ejemplo).

Generalmente se calcula su contenido por diferencia entre el SO_2 Total y el SO_2 Libre.

- . Anhídrido Sulfuroso Total: Como ya se explicó previamente, corresponde a la suma del SO_2 Libre y el SO_2 Combinado.

Se determina mediante el Método de Monier-Williams Modificado ya descrito en el trabajo. Es un método, que sin ser perfecto, reproducible, libre de la mayoría de las interferencias y digno de confianza.

La Ley norteamericana se refiere a este SO_2 Total cuando se expresan los diversos valores como ppm de SO_2 en los distintos alimentos y son medidos con el mismo método Monier-Williams.

ANEXO 6

Usos y aplicaciones agroindustriales del anhídrido sulfuroso1. Aspectos generales

El anhídrido sulfuroso y otros compuestos que liberan SO_2 bajo las condiciones de uso son aditivos alimentarios. El anhídrido sulfuroso tiene una larga historia como ingrediente de alimentos. Los griegos escribieron acerca de su uso en fumigación de casas. Los egipcios y romanos lo usaban para la sanitización de vasijas de vino (Roberts y Mc Weeny, 1972). Su uso como preservante de alimentos da ta al menos de 1664 cuando la sidra se agregaba a recipientes que to davía contenían SO_2 (Evelyn 1664).

El uso de otros agentes liberadores de SO_2 como aditivos de ali mentos apareció mucho más tarde. Es así como en USA se usó Bisulfi- to de Sodio en 1921, Sulfito de Sodio en 1930, Metabisulfito de Sodio y Metabisulfito de Potasio en 1939.

En los últimos años se ha observado una creciente utilización de estos aditivos en alimentos. El Cuadro 5.1 contiene información sobre la producción de agentes que generan SO_2 que se usan en alimen tos en USA.

En el cuadro se observa que el Bisulfito de Sodio y el Anhídri- do Sulfuroso, usado como tal, representan los productos que se usan en mayores cantidades en alimentos. Por otra parte, es necesario ha cer presente que todos los productos distintos al SO_2 que se presen- tan en dicho cuadro, también producen en ambiente húmedo o en solu-

ción acuosa el anhídrido sulfuroso.

CUADRO 5.1 Agentes generadores de SO₂ para uso en alimentos (USA, 1976).

	Cantidad producida (kg)
- Bisulfito de Sodio	2.222.640
- Anhídrido Sulfuroso	997.920
- Metabisulfito de Potasio	99.792
- Metabisulfito de Sodio	41.731
- Sulfito de Sodio	6.804

2. Usos de agentes generadores de SO₂

Los agentes generadores de SO₂ son usados para muchos e importantes propósitos. Los principales son los siguientes:

- Inhibición del pardeamiento no-enzimático
- Inhibición de reacciones enzimáticas
- Inhibición y control de microorganismos
- Usos como agentes autooxidantes y reductores
- Usos como agentes decolorantes
- Usos secundarios

2.1 Inhibición del pardeamiento no-enzimático

El pardeamiento no enzimático es un término usado para describir una familia de diversas reacciones que comúnmente envuelven la

formación de intermediarios carbonílicos y pigmentos pardos de estructura polimérica. Los ejemplos incluyen las reacciones entre aminoácidos y azúcares reductores y la caramelización de los azúcares. La química de las reacciones envueltas es compleja y no está completamente identificada.

La industria alimentaria recurre a ciertas medidas para prevenir el pardeamiento: a) considerando que la reacción se produce entre 0° y 90°C, una refrigeración retarda la reacción, b) considerando que el pH óptimo es entre 7 y 10 conviene bajar el pH, c) considerando que la humedad es óptima entre 2 y 10% también conviene disminuir la humedad relativa, d) es conveniente reemplazar la glucosa por sacarosa (evitando a la vez su inversión), e) se debe evitar la presencia de Cu, Fe y fosfatos que catalizan la reacción, f) se debe usar SO₂ u otros agentes generadores de SO₂ que inhiben casi totalmente el pardeamiento no-enzimático.

Ellos han sido usados con este propósito para controlar la decoloración de vinos, de frutas secas, vegetales deshidratados, papas deshidratadas, coco, pectinas, algunas variedades de vinagre y jugo de uva blanco. También han sido usados para controlar los procesos de caramelización comercial y en la formación de color en la producción de azúcar de betarraga.

2.2 Inhibición de reacciones enzimáticas

Los agentes generadores de SO₂ pueden actuar como inhibidores de numerosas reacciones enzimáticas incluyendo la polifenol-oxidasa, la ascorbato-oxidasa, la lipoxigenasa, la peroxidasa y las enzimas tiamina-dependientes.

La inhibición de la polifenol oxidasa es útil en el control del pardeamiento enzimático. La polifenol oxidasa cataliza la oxidación de mono y orto-difenoles a quinonas. Las quinonas pueden ciclarse, sufrir una oxidación posterior y condensarse para formar pigmentos de color pardo semejantes a los señalados en el pardeamiento no-enzimático.

También en este tipo de inhibición los mecanismos de acción no son muy conocidos pero probablemente envuelven varios diferentes tipos de acción.

La inhibición del pardeamiento enzimático es la razón fundamental para usar agentes generadores de SO_2 en verduras y frutas como ensaladas de frutas, lechuga y paltas.

También se ha usado SO_2 en papas prepeeladas, papas en torrejadas, manzanas cortadas en torrejadas y otras frutas que se proporcionan a la industria pastelera. También en el caso de hongos frescos, uvas de mesa, zapallos, coliflores, tomates y productos con pimentones rojos y verdes.

Los agentes generadores de SO_2 pueden también prevenir malos sabores (debido a la inhibición de la enzima lipoxigenasa) en arvejas almacenadas y deshidratadas, un uso interesante de estos agentes es el control en la formación de manchas negras en los camarones y otros productos marinos.

Finalmente, la fermentación anaeróbica puede ser inhibida por el uso de SO_2 en los jugos de uva, lo cual es esencial en la producción de vinos.

2.3 Inhibición y control de microorganismos

El SO_2 y otros agentes que lo generan juegan roles importantes en la inhibición de bacterias en varios procesos alimentarios. En el proceso de vinificación son empleados para prevenir fermentaciones bacterianas indeseables de la uva.

También es fundamental su aplicación en uvas de mesa para prevenir crecimientos bacterianos y de hongos, como la Botrytis cinerea (Nelson, 1983), en prevención de formación de hongos en mermeladas y en la prevención de deterioros de post-cosecha de frutas usadas para la producción de jugos (Morris et al., 1979).

Los agentes generadores de SO_2 son agentes antimicrobianos selectivos con efectos más inhibitorios sobre las bacterias del grupo ácido acético, las del ácido láctico y sobre los hongos que las levaduras.

Los productos de combinación del SO_2 no tienen acción antimicrobiana. Por lo tanto, se requiere más SO_2 para preservar un jarabe de glucosa que uno de sacarosa (pues el SO_2 se combina con la glucosa pero no con la sacarosa).

También considerable cantidad de SO_2 debe ser agregada al vino a causa de la combinación del SO_2 con los productos de la fermentación como el acetaldehído.

2.4 Usos como agentes antioxidantes y reductores

Los efectos antioxidantes de los agentes generadores de SO_2 son parcialmente responsables por su efecto preservante del ácido ascórbico y su inhibición del pardeamiento enzimático y no-enzimático.

El SO_2 previene la oxidación de aceites esenciales y carotenoides, los cuales generarían malos sabores (Baloch et al., 1977) y también inhibe cambios oxidativos en la cerveza, los cuales se considerarían indeseables en el desarrollo de su sabor (Roberts y Mc Weeny, 1972).

Los agentes generadores de SO_2 son ampliamente usados como "acondicionadores de masa" en la industria pastelera para galletas, masas de pizza congeladas, pasteles y otros productos. En estos productos dichos agentes actúan rompiendo los enlaces disulfuros en la "fracción gluten" de la masa.

El SO_2 también ha sido usado para mejorar la extracción de pectinas desde varias fuentes debido a su capacidad para depolimerizar las pectinas (Roberts y Mc Weeny, 1972).

2.5 Usos como agentes decolorantes

La principal aplicación de las propiedades decolorantes del SO_2 es la decoloración de cerezas para la producción de "cerezas marraschino" y frutas confitadas (Joslyn y Braverman, 1954).

Los agentes generadores de SO_2 también decoloran las pectinas y almidones de alimentos.

La uniformidad y translucidez de color en los frutos cítricos son mejorados al almacenarse en salmueras de agentes generadores de SO_2 (Cruess y Glickson, 1932).

2.6 Usos secundarios

Hay muchos de ellos. Entre los más conocidos está el mejoramiento en la extracción de almidón de maíz (Schroeter, 1966), el control de un exceso de alcalinidad y el mejoramiento en las propiedades de ebullición del jugo de azúcar de remolacha (Mc Ginnis, 1982).

También se ha mencionado la prevención en la decoloración rosada observada en ciertas variedades de peras enlatadas (Chandler y Clegg, 1970).

3. Resumen de aplicaciones y consumos de agentes generadores de SO₂ en diversos alimentos

En los puntos anteriores se observa que el SO₂ y los agentes generadores de SO₂ se utilizan para una gran variedad de productos por muchas razones.

La Federación de Sociedades Americanas para la Biología Experimental (FASEB) hizo un resumen sobre aplicaciones y niveles de consumo de los agentes generadores de SO₂ (Life Sciences Research Office, 1985) que aparecen en el Cuadro 5.2.

Pueden variar algunos niveles relacionados con la información proporcionada en este cuadro después de 1985. También los usos y niveles residuales pueden no representar toda la industria. Otra de las deficiencias en la información actual es la falta de análisis de alimentos sulfatados en el momento de consumo. El almacenaje, el procesamiento y la preparación de los alimentos pueden afectar los niveles residuales de SO₂. Por lo tanto, mayores investigaciones serán necesarias para determinar con mayor exactitud la exposición real de los consumidores al SO₂ y otros agentes que los generen.

CUADRO 5.2 Consumo estimado de sulfito de varios alimentos.

Categoría	Subcategoría	Nivel estimado en productos consumidos (ppm SO ₂)	Consumo de alimentos (g/cápita/día)	Consumo de sulfitos (mg/cápita/día)
Harinas horneadas y mezclas	Galletas	5	6,20	0,031
	Base de pizza	5	1,30	0,007
Bebidas no alcohólicas	Cola	4	-	-
	Ginger Ale	1	-	-
Bebidas alcohólicas	Cerveza	10	38,00	0,380
	Vinos	150	5,4 - 24,5	0,810 - 3,680
Té	Té instantáneo	5-6	24,00	0,140
Condimentos	Aceitunas	2	0,70	0,002
	Pickles	30	0,25	0,008
Fruta fresca	Vinagre vino	75	0,24	0,018
	Ensalada frutas	5	42,60	0,213
Fruta seca *	Uvas	1,5	3,90	-
	Total	1.200	0,49	0,590
Jugo frutas	Concentrado manzanas	5	42,60	0,243
	Uvas blancos	85	0,30	0,025
Gelatinas	Limón congelados	800	0,12	0,096
	Limón sin congelar	160	0,04	0,016
Salsas	Cerezas marrasquino	50	0,30	0,015
	Total	5	6,60	0,033
Hortalizas frescas	Sabores mezclados	4	-	-
	Tomates	75	3,00	0,225
Hortalizas enlatadas	Lechuga en restaurant	950	-	-
	Total	16	39,10	0,630
Hortalizas deshidratadas	Cebollas en escabeche	30	-	-
	Chucrut	12	1,10	-
Hortalizas congeladas	Papas	75	3,20	0,240
	Papas	20	1,70	0,034

* Incluye manzanas, duraznos, damascos, pasas rubias, cerezas, higos, peras.
 Fuente: The Reexamination of the GRAS Status of Sulfiting Agents. January 1985.
 Life Sciences Research Office (Federation of American Societies for Experimental Biology).

Bibliografía Anexo 6.

- ROBERTS, A.C. y Mc WEENY, D.J. 1972. The uses of sulphur dioxide in the food industry - a review. *J. Food Technol.* 7, 221-238.
- EVELYN, J. 1664. Suplemento de "Aphorisms concerning cider". p.24 Martin & Allestry, London.
- NELSON, K.E. 1983. Effects of in-package sulfur dioxide generators, package liners, and temperature on decay and disiccation of table grapes. *Am. J. Enol.Vitic.* 34, 10-16.
- MORRIS, J.R., CAWTHON, D.L. and Fleming, J.W. 1979. Effects of temperature and SO₂ addition on quality and postharvest behavior of mechanically harvested juice grapes in Arkansas. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 104, 166-169.
- BALOGH, A.K., BUCKLE, K.A. and EDWARDS, R.A. 1977. Stability of -carotene in model systems containing sulphite. *J. Food. Technol.* 12, 309-316.
- JOSLYN, M.A. and BRAVERMAN, J.B.S. 1954. The chemistry and technology of the pretreatment and preservation of fruit and vegetable products with sulfur dioxide and sulfites. *Adv. Food Res.* 5, 97-160.
- CRUESS, W.V. and GLICKSON, D. 1932. Observations on brining and candying of citron. *Fruit Prod. J.* 12, 17-18, 25.
- SCHROETER, L.C. 1966. Sulfur Dioxide - Applications in Foods, Beverages, and Pharmaceuticals. Pergamon, Oxford.

Mc GINNIS, R.A. 1982. Beet-Sugar Technology. p. 265. Beet Sugar Development Foundation, Fort Collins, Colorado.

CHANDLER, B.V. and CLEGG, K.M. 1970. Pink discoloration in canned pears. III Inhibition by chemical additives. J.Sci. Food Agric. 21, 323-328.



Recibido 28/09/88

FIA
