

Diseño estadístico para evaluar el efecto inhibitor del CO₂ sobre la tasa de respiración de frutas y hortalizas

Juan C. De la Vega-Quintero^a, Ignacio Angos^b, Mairett Y. Rodríguez-Balza^c, Wilfre S. Machado T.^d

^aFacultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Universidad Técnica del Norte. GIDIBAN- Grupo de

^bInvestigación en Desarrollo e Innovación Bioalimentaria y Nutracéutica, Universidad Técnica de Ambato

^cCentro de Investigación Científica y Tecnológica (CUICYT), Universidad Técnica del Norte

^dPontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra – Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Ibarra – Ecuador.
jcdelavega@utn.edu.ec, ia.angos@uta.edu.ec, mayrodba@gmail.com, wilfre.machado@gmail.com

Resumen—Se desarrolló la ruta metodológica para estudios que evalúan el efecto inhibitor del CO₂ sobre la tasa de respiración de frutas y hortalizas. Para ello se empleó el diagrama de flujo de la ANSI, describiendo detalladamente cada paso, estableciendo una guía específica para los investigadores interesados en realizar estudios en esta área de investigación con un diseño estadístico claro, confiable y preciso.

Palabras Claves—Efecto inhibitor, diseño estadístico, tasa de respiración.

Abstract—The methodological route was developed for studies that evaluate the inhibitory effect of CO₂ on the respiration rate of fruits and vegetables. For this purpose, the ANSI flow diagram was used, describing each step in detail, establishing a detailed guide for researchers interested in performing studies in this area of research with a clear, reliable and accurate statistical design.

Keywords—Inhibitory effect, statistical design, respiration rate.

I. INTRODUCCIÓN

Las frutas y hortalizas poseen procesos fisiológicos y bioquímicos que continúan luego de su cosecha. Estos procesos están estrechamente ligados con su senescencia luego de ser cosechados, afectando características como el color, la textura, el olor, el sabor, su composición entre otras. El enfoque de los ingenieros asociados a los alimentos siempre ha sido el incrementar el tiempo en el que esta acción de senescencia ocurre. Para ello se han desarrollado numerosos métodos de conservación que van desde procesos convencionales como reducción de temperatura o adición de sal al alimento, hasta procesos complejos como irradiación, o atmósferas controladas [1].

Uno de los procesos fisiológicos que están relacionados con la degradación de la fruta u hortaliza es la tasa de respiración, esta se define como la cantidad de gas que es capaz de producir (CO₂) o consumir (O₂) una determinada cantidad de fruta durante un intervalo de tiempo. Las frutas respiran ya que los procesos enzimáticos que ocurren luego de la cosecha, generan dióxido de carbono a partir de la reacción entre compuestos presentes en la fruta y oxígeno. Pero se conoce que altas tasas de respiración reducen su tiempo de vida útil, es así que se han desarrollado alternativas que puedan minimizar la tasa de respiración; entre las más relevantes está el empleo de atmósferas controladas, cuyo principio es reducir la concentración del

oxígeno y aumentar la concentración de CO₂ que compone la atmósfera en la cual está almacenada la fruta [2]. Este último compuesto en muchos casos también genera un efecto inhibitor en el aumento de la tasa de respiración de productos vegetales sometidos a procesado [3], [4] y [5].

En principio, la reducción del O₂ disminuiría la tasa de respiración de la fruta dado el hecho que no existe oxígeno suficiente, sin embargo, reducir la concentración de O₂ a valores cercanos a cero también es contraproducente, ya que en estas condiciones se generan procesos anaeróbicos en la fruta que inducen a la aceleración de su deterioro. Por lo que es necesario no sólo evaluar la concentración de oxígeno sino también la concentración de dióxido de carbono presente en la atmósfera de almacenamiento para limitar la tasa de respiración de la fruta. Pero no todas las frutas poseen el mismo comportamiento y por ende su tasa de respiración es distinta a diferentes condiciones [2], así como su posible comportamiento ante concentraciones bajas de oxígeno y concentraciones altas de dióxido de carbono. La forma de conocer si el dióxido de carbono efectivamente posee un efecto inhibitor en la tasa de respiración del alimento es descartando su presencia en la atmósfera de almacenamiento para poder observar si reduce o no la tasa de respiración a lo largo del tiempo.

Este tipo de estudios es de gran relevancia en el campo de la conservación de alimentos, para lo cual se requiere una ruta metodológica clara y procedimientos de experimentación adecuados que permitan a investigadores del área alcanzar los resultados esperados de manera más eficiente y confiable. Es por ello que en este artículo se desarrolla el esquema metodológico para evaluar el efecto inhibitor del CO₂ sobre la tasa de respiración de frutas y hortalizas. Generalmente en la metodología de este tipo de investigaciones se enfatiza el procedimiento experimental, subestimando u obviando las herramientas estadísticas apropiadas. En la literatura internacional, son cada vez más frecuentes los estudios sobre el adecuado uso de las herramientas estadísticas que permitan realizar investigaciones con mayor eficacia, tanto en el análisis de resultados como en la transferencia de los mismos [6], [7], [8], [9] y [10]. En la siguiente sección se ofrecen detalles de la metodología propuesta.

II. MÉTODO

Autores como Grimes y Schulz [11], Correa y Núñez

[12], Dawson y Trapp [13] y Dawson [14] han empleado flujogramas, algoritmos o diagramas para decidir sobre la prueba estadística más apropiada.

En este artículo, se propone la descripción de la ruta metodológica de investigación para coadyuvar de manera efectiva al logro del objetivo planteado, empleando el diagrama de flujo estándar de la ANSI, con énfasis en: el diseño de investigación, diseño estadístico, alcance, variable respuesta y criterios de decisión sobre las pruebas estadísticas apropiadas para el análisis de datos.

III. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la Fig. 1 se puede apreciar el diagrama de flujo del diseño estadístico para evaluar el efecto inhibitor del CO₂ sobre la tasa de respiración de frutas y hortalizas. La descripción de cada uno de los pasos del diagrama, se muestra en la Tabla I.

TABLA I

DESCRIPCIÓN DE LOS PASOS DEL DIAGRAMA DE FLUJO PARA EVALUAR EL EFECTO INHIBIDOR DEL CO₂ SOBRE LA TASA DE RESPIRACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS

Paso	Descripción
1. Definir el objetivo de investigación	Es un enunciado que expresa lo que se desea indagar y conocer para responder a un problema planteado [20]. Para el caso de estudio el objetivo de investigación planteado es evaluar el efecto inhibitor del CO ₂ sobre la tasa de respiración de frutas y hortalizas. La hipótesis de trabajo, es una afirmación que efectúa el investigador en la que expresa su posición u opinión sobre los posibles resultados de la investigación o potenciales soluciones al problema de investigación, con base en su conocimiento, experiencia e investigaciones previas. La Hipótesis de trabajo planteada para el caso de estudio es si el CO ₂ genera un efecto inhibitor sobre la tasa de respiración de las frutas y hortalizas.
2. Plantear la hipótesis de trabajo	En general se confunde la hipótesis de trabajo con la hipótesis estadística; esta última se refiere a las afirmaciones sobre uno o más parámetros de una o más poblaciones de interés (paramétrica), o a alguna forma funcional no conocida de la distribución de interés a partir de la cual se obtiene una muestra (no paramétrica). La esencia de probar una hipótesis estadística es el decidir si la afirmación se apoya en la evidencia experimental obtenida mediante una muestra aleatoria. En la hipótesis estadística es en la que se debe definir una hipótesis nula H ₀ (hipótesis de "no efecto", negación del aspecto que se desea probar) y una hipótesis alternativa H ₁ , que refleje el valor posible o intervalo de valores si H ₀ es falsa [22] y [21].
3. ¿El investigador modifica condiciones para generar una respuesta?	Permite identificar si el diseño de investigación es de tipo experimental o no experimental.
4. Diseño de investigación no experimental	Cuando la recolección de datos es directamente donde ocurren los hechos, sin manipular o controlar alguna variable, el experimentador no altera las condiciones. No es el caso del presente estudio. El investigador manipula variables, por lo que modifica condiciones durante el experimento.
5. Diseño de investigación experimental	Diseño plausible para el logro del objetivo de la presente investigación, pues se evalúa el efecto de la presencia del CO ₂ .
6. ¿Hay aleatorización?	Se refiere a si es posible efectuar la asignación de los tratamientos a las unidades experimentales por medio de un procedimiento aleatorio.
7. Diseño estadístico: pre experimental o experimental	Se ejerce poco o ningún control de las condiciones en las que se lleva a cabo el estudio. No es posible conformar unidades experimentales similares, ni realizar aleatorización.

8. Diseño estadístico: experimento puro

9. Alcance explicativo o causal

10. Ensayo en blanco para definir la unidad experimental

11. Condiciones de experimentación

12. ¿Se requiere el control de factores no pertinentes?

13. Dos o más factores no pertinentes

Es posible conformar unidades experimentales relativamente similares para garantizar que las diferencias entre tratamientos se deban al efecto de los mismos y no a algún otro factor atribuible a la heterogeneidad entre unidades experimentales (principio fundamental de la experimentación).

Esta investigación se llevará a cabo en condiciones de laboratorio, en las cuales es posible minimizar el efecto de factores perturbadores y por tanto es posible constituir unidades experimentales con bajos niveles de heterogeneidad. De allí que el diseño estadístico seleccionado es el Diseño Experimental.

Según Arias [20], las investigaciones de tipo explicativo permiten relacionar los hechos de un experimento mediante la correspondencia causa efecto a través de la prueba de la hipótesis. Los resultados y conclusiones de este tipo de alcance constituyen el nivel más profundo de conocimientos.

Para este trabajo de investigación, el diseño de investigación experimental seleccionado (3), permite un alcance explicativo, ya que se pretende revelar el efecto que genera la acumulación de CO₂ en el ambiente de almacenamiento de las frutas y hortalizas.

La unidad experimental es la entidad física independiente que es expuesta al tratamiento [18]. Las unidades experimentales heterogéneas producen valores grandes en la varianza del error experimental. El tamaño adecuado, reduce significativamente el impacto de fuentes de variación no deseables [19]. Como se carece de la información previa sobre el tamaño de unidad experimental para investigaciones como la que se pretende realizar, se debe desarrollar un ensayo en blanco con diferentes masas de la fruta de estudio, siempre y cuando puedan ser contenidas en el espacio del envase que se utilizará para garantizar la hermeticidad. Se aconseja emplear envases de vidrio ya que evitan que la atmósfera se contamine con los gases externos y genera inocuidad durante el período de estudio. Debe asegurarse que exista espacio libre suficiente para realizar las tomas de muestras gaseosas, ya que, si se satura el envase con la fruta, el experimento no generará los resultados esperados.

Las condiciones de experimentación determinarán en el siguiente paso la identificación de factores perturbadores y la necesidad o no de efectuar control de los mismos.

En función de cumplir con el objetivo de estudio, se utilizará fruta u hortaliza con similar índice de madurez, ubicándola en un sistema cerrado e impermeable, con posibilidad de muestreo de la atmósfera interna sin afectar la impermeabilidad. La temperatura debe mantenerse estable; además, se requiere establecer un método que asegure la absorción selectiva del CO₂, lo cual se alcanza por medio de envases impermeables con la presencia de un absorbedor o reactivo (por ejemplo, KOH).

Con base en la experiencia en el área de investigación, se debe tener conocimiento y verificar la presencia o no de posibles factores perturbadores bajo las condiciones de experimentación. Estos factores son aquellos que pudiesen incidir en los resultados. Suelen clasificarse en factores controlables (los niveles pueden ser ajustados por el investigador), no controlables o de ruido (si se pueden medir, se puede emplear el análisis de covarianza para compensar este efecto o tratar de fijar el factor para el experimento) [19].

En función del número de factores a controlar puede ser: diseño en bloques al azar (d.b.a.), diseño cuadrado latino (d.c.l.), diseño greco latino (d.g.l.) u otro.

14. Un factor no pertinente	Con base en las condiciones de experimentación, no se identifican factores no pertinentes a controlar. Por esta razón se seleccionó un diseño completamente aleatorizado (d.c.a.), es el más sencillo de los diseños de experimentos, en el cual los tratamientos se asignan al azar a las unidades experimentales; cada unidad experimental tiene la misma posibilidad de recibir cualquier tratamiento [18].
15. ¿Hay más de un factor pertinente ?	Se define la cantidad de factores de interés a evaluar en el experimento. Factores pertinentes, también conocido como factores potenciales del diseño, son aquellos que el investigador pueda hacer variar en el experimento y de cuyo efecto se tiene interés en la investigación [19].
16. Dos o más factores pertinentes	Diseño de tratamientos factoriales. Un factor es un grupo específico de tratamientos. Las diversas categorías de un factor se denomina niveles del factor [18].
17. Un factor pertinente	Experimento de factor único. En el caso de estudio, el CO ₂ es el factor cuyo efecto se desea evaluar. Para ello, se emplearán dos tratamientos, uno con el reactivo o absorbedor y el segundo en ausencia de este.
18. Variable respuesta	Tasa de respiración en ml.kg-1.h-1. Esta variable es cuantitativa, medida en escala de proporción. Calculada a partir de las concentraciones de CO ₂ y O ₂ , en la atmósfera de la unidad experimental a través de la ecuación indicada por Angós, Fernández y Vírseda [3]. El equipo a emplear para analizar estos gases es el MAPY 4.0 LE SP O ₂ /CO ₂ Zr con ± 0.5% de precisión, también se puede utilizar equipos tipo MAP (Modified Atmosphere packaging) [15], [16] y [17].
19. ¿Se cumplen los supuestos del análisis de varianza?	Se aplican las pruebas correspondientes para verificar el cumplimiento de los supuestos del análisis de varianza: independencia, normalidad, homogeneidad de la varianza de los errores y aditividad de los efectos del modelo. Si no se cumplen los supuestos del análisis de varianza aún con la aplicación de transformación de los datos, se aplica la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis. Esta técnica prueba la hipótesis nula de que las k muestras provienen de la misma población o de poblaciones idénticas con la misma mediana [21]. Si se evidencian diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, se debe emplear una prueba no paramétrica de comparaciones múltiples, que permite determinar a cuál grupo asignar las diferencias detectadas por la prueba de Kruskal y Wallis. Si se cumplen los supuestos del análisis de varianza, se aplica esta prueba y un procedimiento complementario de comparación de medias si es necesario.
20. Kruskal-Wallis	El análisis de varianza es un procedimiento estadístico, que consiste en la separación de varianzas de un conjunto de observaciones explicadas por un modelo subyacente, con el objetivo de hacer estimación y pruebas de hipótesis.
21. Análisis de la varianza	Con base en 20 ó 21, se realiza la discusión de resultados considerando el estado del arte, verificando el cumplimiento o no de la hipótesis de trabajo, emitiendo las conclusiones correspondientes.
22. Interpretación de resultados y conclusiones	

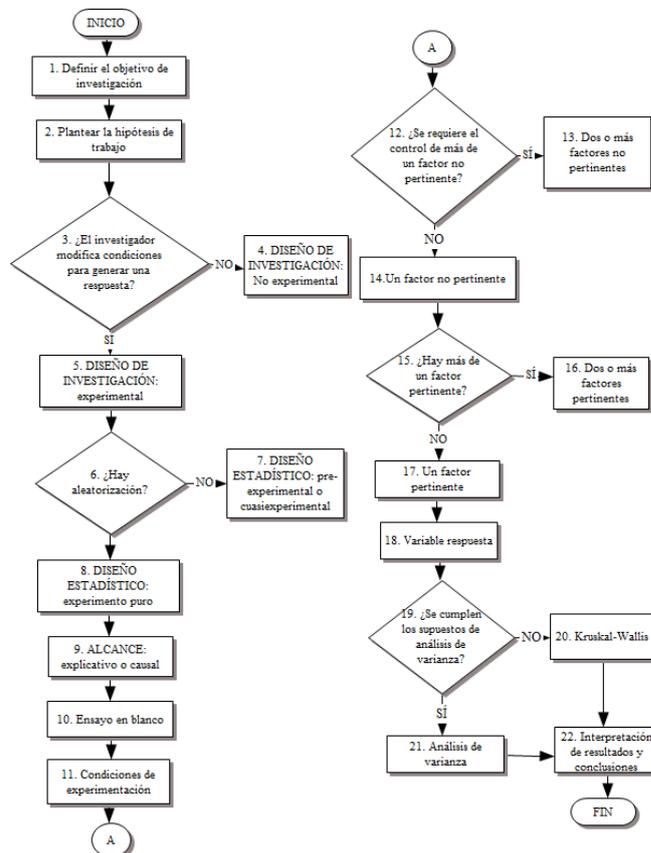


Fig. 1. Diagrama de flujo para evaluar el efecto inhibitor del CO₂ sobre la tasa de respiración de frutas y hortalizas.

IV. CONCLUSIONES

El esquema metodológico desarrollado en el presente artículos puede guiar a los investigadores del área y facilitar la toma de decisiones especialmente en el diseño estadístico.

El mayor énfasis del esquema planteado es para investigaciones con experimentos puros, cuyo alcance es explicativo.

REFERENCIAS

- [1] N. Pinto, M. Cañarejo y J. De la Vega, "Utilización del método de conservación bajo Atmósferas Controladas en Frutas y Hortalizas", *Agroindustrial Science*, vol. 6, pp. 231-238, 2016.
- [2] J. De la Vega, N. Pinto y M. Cañarejo, "Avances en tecnología de Atmósferas Controladas y sus Aplicaciones en la Industria. Una Revisión". *Información Tecnológica*, vol. 28, no. 3, pp. 75-86, 2017.
- [3] I. A. Angós, T. Fernández, y P. Vírseda, Efecto de diversas atmósferas modificadas en la tasa respiratoria de patata mínimamente procesada (cv. Monalisa) en condiciones de refrigeración. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, vol. 209, pp. 70-75, 2006.
- [4] I. Angós, P. Vírseda y T. Fernández, "Control of respiration and color modification on minimally processed potatoes by means of low and high O₂/CO₂ atmospheres". *Postharvest Biology and Technology*, vol 48, pp. 422-430, 2008.
- [5] Angós, I. A., Leránoz, P., Fernández, T. y Vírseda, P. Efecto del CO₂ en la respiración y propiedades físicas de patatas mínimamente procesadas, conservadas en atmósferas con baja concentración de oxígeno. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, vol. 216, pp. 62-68, 2006
- [6] M. Rodríguez, W. Machado e I. Paredes, "Diseño de muestreo con fines de investigación en educación: una experiencia de formación en posgrado". En I Congreso Latinoamericano de Investigación y Postgrado, Universidad Nacional de Educación, Lima, Perú. Agosto 2017.
- [7] W. Machado y M. Rodríguez, "Criterios para la selección y aplicación de herramientas estadísticas en la investigación educativa". En I Congreso Latinoamericano de Investigación y Postgrado, Universidad Nacional de Educación, Lima, Perú. Agosto 2017.

- [8] J. Gil. "La estadística en la investigación educativa". *Revista de Investigación Educativa*, vol. 21, no. 1, pp. 231-248, 2003. [En línea]. Disponible en: <http://revistas.um.es/rie/article/viewFile/99191/94791> [Accedido: 18-abr-2018]
- [9] P. Arteaga, C. Batanero, J.M. Contreras, y G. Cañadas, "Evaluación de errores en la construcción de gráficos. Estadísticos elementales por futuros profesores". *Revista Latinoamericana de Investigación en Matemática Educativa*, vol. 19, no. 1, pp.15- 40, 2016. [En línea]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-24362016000100015. [Accedido: 19-abr-2018]. DOI: 10.12802/relime.13.
- [10] D. A. Díaz, C. G. Aguayo y C. I. Cortés, Enseñanza de la estadística mediante proyectos y su relación con teorías de aprendizaje. *Revista Premisa*, vol. 16, no. 62, pp. 16 – 23, 2014. [En línea]. Disponible en: <http://funes.uniandes.edu.co/6154/> [Accedido: 15-abr-2018]
- [11] D. Grimes y K. Schulz, "An overview of clinical research: the lay of the land". *The Lancet*, vol. 359, pp. 57-61, 2002.
- [12] G. Correa y L. Nuñez, "Propuesta pedagógica para mejorar la capacidad de análisis estadísticos autónomos en estudiantes de Odontología de la Universidad de Talca". en XI Congreso Latinoamericano de Sociedades de Estadística, XLI Jornadas Nacionales de Estadística, XLII Coloquio Argentino de Estadística. Universidad de la Serena, La Serena, Chile, 2014, pp.35.
- [13] B. Dawson y R. Trapp, *Bioestadística médica*. México: El Manual Moderno, S.A. de C.V., 1997.
- [14] Gail F. Dawson, MD, MS, FAAEP, *Interpretación fácil de la Bioestadística, la conexión entre la evidencia y las decisiones médicas*. España: Elsevier, 2009.
- [15] E. Torrieri, N. Perone, S. Cavella y P. Masi, "Modelling the respiration rate of minimally processed broccoli (*Brassica rapa* var. *sylvestris*) for modified atmosphere package design", *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 25, pp. 2186-2193, 2010.
- [16] O. Caleb, P. Mahajan, U. Opara y C. Witthuhn, "Modelling the respiration rate of pomegranate fruit and arils", *Postharvest Biology and Technology*, vol. 64, pp. 49-54, 2012.
- [17] J. Reales y J. Zapata, "Modelado de la velocidad de respiración del mango cv. Vallenato en un sistema cerrado", *Agronomía*, vol. 22, no. 2, pp. 71-82, 2014.
- [18] R. Kuehl, *Diseño de experimentos, Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación*. México: Thomson Editores, S.A. de C.V., 2001.
- [19] D. Montgomery, *Diseño y análisis de experimento*. México: Editorial Limusa S.A. de C.V., 2004.
- [20] F. Arias, *El Proyecto de Investigación, introducción a la metodología científica*. Venezuela: Editorial Episteme, C.A., 2012.
- [21] S. Siegel y N. Castellan, *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. México: Editorial Trillas, 1995.
- [22] G. Canavos, *Probabilidad y estadística, aplicaciones y métodos*. México: McGraw-Hill/Interamericana de México S.A. de C.V., 1988