

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA



EFFECTOS DE LA RADIACIÓN UV EN LAS PROPIEDADES
ÓPTICAS DE BIOPOLIMEROS

MARIO EDUARDO TOBAR FOSTER

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA



EFFECTOS DE LA RADIACIÓN UV EN LAS PROPIEDADES
ÓPTICAS DE BIOPOLIMEROS

MARIO EDUARDO TOBAR FOSTER

Profesor Guía :Dr. Raúl R. Cordero

Profesores Comisión :Dr. Roberto Bernal

:Lic. Jorge Ferrer

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO FÍSICO

SANTIAGO DE CHILE

SEPTIEMBRE 2014

EFFECTOS DE LA RADIACIÓN UV EN LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE BIOPOLIMEROS

”Trabajo de graduación presentado a la Facultad de Ciencia, en cumplimiento
parcial de los requisitos exigidos para optar al Título de Ingeniero Físico”

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE

SANTIAGO-CHILE

SEPTIEMBRE 2014

EFFECTOS DE LA RADIACIÓN UV EN LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE BIOPOLIMEROS

MARIO EDUARDO TOBAR FOSTER

"Este trabajo de Graduación fue elaborado bajo la supervisión del profesor guía Sr. Raúl Cordero Carrasco del Departamento de física y ha sido aprobado por los miembros de la Comisión Calificadora ,de, candidato, Sr.Roberto Bernal y Sr. Jorge Ferrer"

Roberto Bernal _____

Jorge Ferrer _____

Raúl Cordero _____

Profesor Guía

Yolanda Vargas _____

DIRECTOR

Derechos de Autor

- **Mario Eduardo Tobar Foster**

Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra, con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Dedicatoria

A mis padres.

Tabla de Contenidos

| | |
|---|-----------|
| Derechos de Autor | i |
| Dedicatoria | ii |
| Resumen | vi |
| Capítulo 1.Introducción | 1 |
| 1. Definiciones | 1 |
| 1.1. Las Cutículas de plantas | 1 |
| 1.2. La luz y radiación solar | 4 |
| 1.3. Transmisión de radiación a través de un material | 9 |
| 1.4. Absorción de radiación | 9 |
| 1.4.1. Ley de Lambert Beer | 10 |
| 1.5. Reflección | 11 |
| Capítulo 2: Desarrollo | 13 |
| 2. Métodos Experimentales | 13 |
| 2.1. Preparación de las muestras | 13 |
| 2.2. Mediciones de espectros de radiación | 19 |

| | | |
|--------|--|-----------|
| 2.3. | Mediciones de espectros de transmisión | 21 |
| 2.4. | Mediciones de espectros de atenuación | 27 |
| 2.5. | Cámara de irradiación UV | 29 |
| 3. | Resultados | 31 |
| 3.1. | Transmisión | 31 |
| 3.1.1. | Cutículas de cáscara de tomate | 31 |
| 3.1.2. | Cutículas de hojas de limón | 41 |
| 3.2. | Absorción | 53 |
| 3.2.1. | Cutículas de cáscara de tomate | 54 |
| 3.2.2. | Cutículas de hojas de limón | 64 |
| 3.3. | Reflección | 69 |
| 3.4. | Comparación entre frutas y hojas | 70 |
| | Capítulo 3: Conclusiones | 75 |

Indice de Ilustraciones

| | |
|---|----|
| 1.1. Esquema de los componentes de la Cutícula | 3 |
| 1.2. Espectro de emisión solar extraterrestre y la emitida por un cuerpo negro. . . | 5 |
| 1.3. Espectro de radiación solar fuera de la atmósfera y a nivel del mar. | 6 |
| 1.4. Índice UV | 8 |
| 1.5. Esquema de las reflexiones dentro de un material no metálico | 11 |
| 2.1. Ojetillo para montaje de cutículas | 17 |
| 2.2. Cutícula de cáscara de tomate, montada sobre ojetillos, esto compone una muestra. | 18 |
| 2.3. Diagrama de las conexiones entre los equipos utilizados en el montaje del experimento. | 21 |
| 2.4. Soporte móvil para colocar las muestras sobre el difusor de la entrada. . . . | 22 |
| 2.5. Esquema del soporte de muestras. Evita que luz parásita alcance el detector. | 23 |
| 2.6. Esquema del montaje experimental utilizado. | 25 |
| 2.7. Esquema del montaje experimental utilizado. | 28 |
| 2.8. Cámara de radiación UV utilizada para la exposición de las muestras a diferentes dosis de radiación UV | 29 |

| | |
|--|----|
| 2.9. Espectro de radiación de la cámara UV | 30 |
| 3.1. <i>Espectro de transmisión cutícula tomate sin radiar</i> | 32 |
| 3.2. <i>Espectro de transmitancia del espectro medido</i> | 33 |
| 3.3. <i>Espectros de transmitancia rango UV</i> | 34 |
| 3.4. <i>Transmitancia de tomate en rango UV</i> | 35 |
| 3.5. <i>Transmitancia para rango visible</i> | 36 |
| 3.6. <i>Transmitancia tomate para 320nm</i> | 37 |
| 3.7. <i>Transmitancia para 380nm</i> | 38 |
| 3.8. <i>Transmitancia para 500nm y 660nm</i> | 39 |
| 3.9. <i>Transmisión para limón</i> | 41 |
| 3.10. <i>Transmisión para limón radiado</i> | 42 |
| 3.11. <i>Transmisión para rango UV</i> | 43 |
| 3.12. <i>Transmisión rango UV separado por horas</i> | 44 |
| 3.13. <i>Transmisión para rango visible</i> | 45 |
| 3.14. <i>Transmisión para 300nm</i> | 46 |
| 3.15. <i>Transmisión limón a 300nm con ajustes</i> | 47 |
| 3.16. <i>Transmisión limón a 320nm</i> | 49 |
| 3.17. <i>Ajustes para 320nm</i> | 50 |
| 3.18. <i>Transmisión para 380nm, 420nm y 660nm</i> | 51 |
| 3.19. <i>Interacciones de propiedades ópticas</i> | 53 |
| 3.20. <i>Atenuación tomate</i> | 55 |
| 3.21. <i>Atenuación tomate</i> | 56 |

| | |
|--|----|
| 3.22. <i>Ajustes exponenciales de curvas</i> | 57 |
| 3.23. <i>Atenuación total tomate</i> | 58 |
| 3.24. <i>Coefficiente de atenuación tomate</i> | 59 |
| 3.25. <i>Atenuación para 380nm</i> | 60 |
| 3.26. <i>Atenuación para 420nm</i> | 61 |
| 3.27. <i>Atenuación para 500nm</i> | 63 |
| 3.28. <i>Atenuación limón</i> | 64 |
| 3.29. <i>Coefficiente de atenuación limón</i> | 65 |
| 3.30. <i>Atenuación en 320nm</i> | 66 |
| 3.31. <i>Atenuación a 440nm</i> | 67 |
| 3.32. <i>Atenuación a 560nm</i> | 68 |

Indice de Tablas

Resumen

La industria agroalimentaria chilena se encuentra abocada a minimizar la pérdidas por descartes en frutas. En efecto, algunas frutas, son descartadas debido a manchas superficiales en la fruta que han sido atribuida a la acción potencial de la radiación ultravioleta (UV). Antes de alcanzar las capas celulares más externas, la UV debe sin embargo atravesar la cutícula. La cutícula es una capa de polímeros lipofílicos (tales como cutina y cutan) generada de manera natural, que cubre la capa celular más externa de las frutas y partes verdes de las plantas (incluidas las hojas).

En este contexto, resulta de interés estudiar las propiedades ópticas de las cutículas así como los efectos potenciales de la radiación UV en las mismas.

En este trabajo se estudió el efecto provocado por altas dosis de radiación UV en las propiedades ópticas de cutículas aisladas de frutas y hojas de limón. Un espectrofotómetro de doble monocromador fue utilizado para medir la transmitancia y el coeficiente de atenuación, en el rango $250 - 600nm$, de grupos de cutículas que fueron previamente sometidas a diversas dosis de radiación UV. Dichas dosis fueron aplicadas bajo condiciones controladas en una cámara de irradiación. La intensidad

de la radiación UV dentro de la cámara es $11,5W/m^2$ lo que permite aplicar dosis de $41kJ/m^2$ por hora.

Los siguientes son los principales resultados:

1. La transmitancia y el coeficiente de atenuación de las cutículas de frutas y de hojas son significativamente diferentes en el rango UV. Las cutículas de hojas dejan pasar más radiación UV ($250 - 400nm$) que las cutículas de frutas. En el rango visible (a partir de los $400nm$) las diferencias son menos significativas.
2. La transmitancia y el coeficiente de atenuación de las cutículas de hojas y frutas cambiaron significativamente al ser sometidas a la radiación UV. Particularmente en rango UV ($250 - 400nm$), la transmitancia de cutículas de frutas aumentó progresivamente con la radiación UV (a mayor dosis, mayor transmitancia en el rango UV). En el caso de las cutículas de hojas, la transmitancia disminuyó acentuadamente con la radiación UV, pero solo durante las primeras 2-4 horas de irradiación. Después de recibir dosis relativamente bajas de radiación UV, la transmitancia de cutículas de frutas aumentó progresivamente con la radiación UV.
3. Dosis altas de radiación UV pueden llevar a variaciones significativas en las propiedades ópticas de cutículas aisladas de frutas y hojas de limón.

Capítulo 1: Introducción

Para una mejor comprensión de la tesis realizada, se presentan las definiciones y conceptos utilizados durante todo el desarrollo de esta.

1. Definiciones

Para mayor comprensión de los temas asociados al trabajo de tesis, se presentan las definiciones de los términos y cantidades físicas utilizadas que componen esta. A continuación se describen tales definiciones.

1.1. Las Cutículas de plantas

Las partes aéreas de las plantas superiores, que incluyen hojas, tallos, flores y frutos, están cubiertas completamente, con excepción de la apertura estomática, de una membrana continua lipídica extracelular denominada cutícula (Pighin et al., 2004; Cameron et al., 2006; Jeffrey, 2006), la cual es sintetizada por las células

epidérmicas (Bargel et al., 2006; Yeats et al., 2010). La cutícula es una estructura producto de la evolución de las plantas superiores que las aísla y protege del medio externo que les rodea (Shepherd y Griffiths, 2006; Reina-Pinto y Yephremov, 2009), que constituye un elemento estructural esencial, de importancia funcional y ecológica debido a que es la capa más externa de las células vegetales que interacciona con el ambiente (Kunst y Samuels, 2003; Jeffree, 2006). La ultraestructura de la cutícula varía ampliamente entre especies de plantas, tipos de órgano y su estado de desarrollo, y está irreversiblemente asociada al crecimiento activo de los tejidos vegetales, ya que durante las etapas iniciales de desarrollo existe lo que se conoce como procutícula que luego origina a la cutícula madura durante las etapas finales de desarrollo (Petit-Jiménez et al., 2007; Isaacson et al., 2009). A pesar de esta variabilidad, todas las cutículas están constituidas principalmente de dos tipos de materiales lipofílicos: cutina y ceras cuticulares (Leide et al., 2007; Domínguez et al., 2009).[1]

Tales funciones se describen a continuación: (A) Como barrera que reduce la pérdida de agua y difusión de gases (Riederer y Schreiber, 2001); (B) Induce desprendimiento de gotas de agua y partículas de polvo, así como de esporas, con la finalidad de mantener limpia y seca la superficie de la planta o del fruto (Jeffree, 2006; Samuels et al., 2008); (C) Por sus propiedades anti-adhesivas, influye en las interacciones planta-insecto (Müller, 2006), y ayuda a evitar la proliferación de microbios patógenos (Carver y Gurr, 2006; Reina-Pinto y Yephremov, 2009); (D) Involucrada en el reconocimiento de señales de patógenos e insectos (Chassot et al., 2008);

(E) Tiene un papel termorregulador importante en las interacciones de las plantas con el ambiente (Stark y Tian, 2006) y protege contra los rayos UV (Pfündel et al., 2006); (F) Funciona como soporte mecánico (Domínguez et al., 2009) y participa de manera indirecta en la correcta formación de los órganos en las primeras fases de desarrollo de la planta, ya que impide la adhesión incontrolada de las células epidérmicas de los órganos en formación (Riederer, 2006; Panikashvili et al., 2007; Leide et al., 2011). Tales funciones son esquematizadas en la figura 1.1.

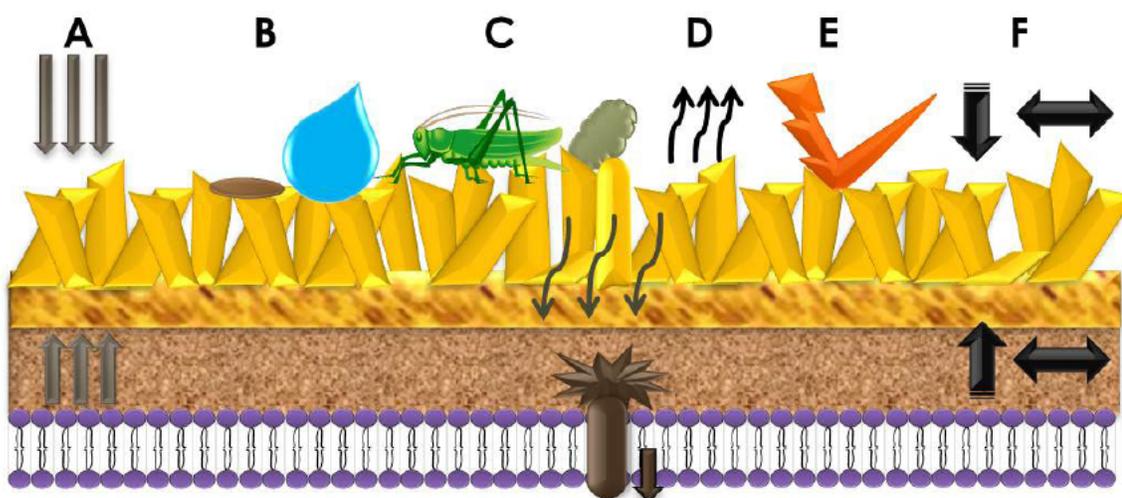


Figura 1.1: Esquema de los componentes de la Cutícula

Para enfrentarse a las condiciones ambientales de radiación UV, las plantas mayores han evolucionado teniendo hoy en día, varios mecanismos de protección. Probablemente, uno de los más básicos y más estudiados es la atenuación de la radiación por la estructura superficial de los órganos de las plantas. (Caldwell, 1981; Flint et al., 1985; Kolb et al., 2001). La acumulación de compuestos fenólicos que selectivamente absorben radiación UV en la cutícula y epidermis de la planta. Krauss et

al., 1997; Flint et al., 1985; Mazza et al., 2000). probablemente representa la mayor estrategia costo-efectividad para adaptación a largo tiempo en el caso de exposición regular y prolongada a altas dosis de radiación solar, incluyendo componentes de la radiación UV-B (Robberecht and Caldwell, 1983; Pietrini et al., 2002; Liakoura et al., 2003).[2]

1.2. La luz y radiación solar

Desde el siglo XVI y XVII, los científicos comenzaron a entender que la luz tenía algunas propiedades generalmente asociadas a la ondas. Sir Isaac Newton consideró esta posibilidad pero concluyó que los rayos de luz eran semejantes a una corriente de partículas que se reflejaban en las superficies y refractan a través de materiales como el vidrio cuando estas impactan la superficie en un cierto ángulo.[3] La luz se puede modelar como un conjunto de ondas electromagnéticas, también definido como radiación electromagnética. Cada una de estas tienen una longitud de onda diferente dependiendo de la energía que está posea. Puede tener la misma amplitud, o pueden ser diferentes dependiendo de la fuente que la emite.

El sol emite radiación semejante a lo que emite un cuerpo negro, y tiene un espectro de emisión muy similar. La emisión de un cuerpo negro se puede modelar matemáticamente con la *ley de Planck*. Esta ley determina la intensidad de radiación a diferentes longitudes de onda. El espectro de emisión de radiación solar se muestra en la siguiente figura.

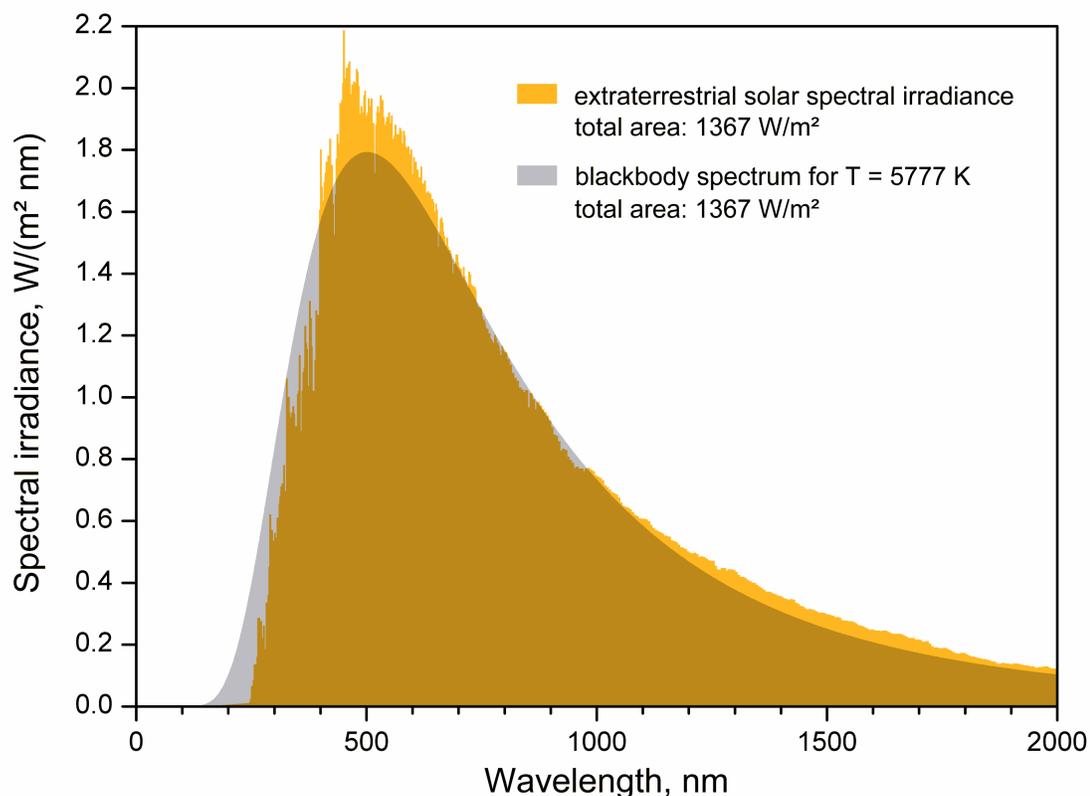


Figura 1.2: Espectro de emisión solar extraterrestre y la emitida por un cuerpo negro.

Se observa claramente que la intensidad de radiación varía dependiendo de la longitud de onda; para longitudes de onda cortas, es decir, menores que el rango UV (de $250nm$ a $400nm$), la intensidad es pequeña y cercana a ($0[W/m^2nm]$), en cambio, en rango UV empieza a aumentar hasta alcanzar el máximo del espectro, que se encuentra en el rango visible, alrededor de los $550nm$, que corresponde al color verde y con un máximo de $2,2[W/m^2nm]$.

Pero esta no es la misma radiación que llega a la superficie de la Tierra, debido a los gases que componen el aire de la atmósfera. El aire es una mezcla de varios

de los denominados gases permanentes, un grupo de gases de concentración variable, así como partículas sólidas y líquidas también en variable concentración. El nitrógeno y el oxígeno constituyen, respectivamente, el 78 % y el 21 %, en volumen, de los gases permanentes; el resto, el 1 % está constituido fundamentalmente por argón, pero con vestigios de neón, helio y otros gases[4].

Estos gases absorben la radiación solar en diversas franjas de absorción. La siguiente figura muestra las franjas de absorción para diferentes gases atmosféricos.

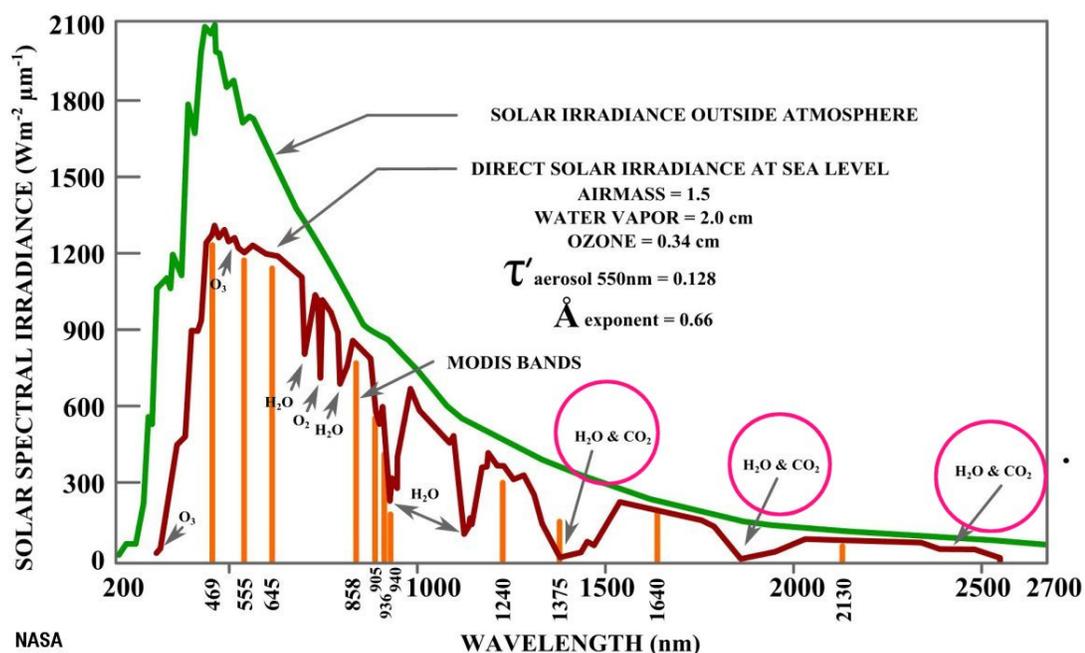


Figura 1.3: Espectro de radiación solar fuera de la atmósfera y a nivel del mar.

El oxígeno O_2 tiene un pico de absorción en (720nm) aproximadamente y el agua H_2O tiene varios picos de absorción. El mayor filtro de radiación UV lo produce el ozono O_3 , El ozono no absorbe la radiación **UV-A** (desde 320 a 400nm). Si absorbe casi toda la radiación **UV-B** (de 280 a 320nm), la que no es absorbida llega a la

superficie de la Tierra en bajas magnitudes. La radiación **UV-C** (200 a 280nm) es completamente absorbida por la capa de ozono y el oxígeno presente en el aire de la atmósfera. [5]

La radiación UV es peligrosa para las plantas, ya que exponen gran parte de su estructura a la radiación solar, principalmente en el proceso de fotosíntesis en que lo máximo de área foliar expuesta significa también lo máximo de energía disponible en el proceso biológico. Los efectos de la radiación UV-B sobre las plantas dependen de niveles de los niveles de intensidad de radiación visible. Sin embargo se sabe que algunas plantas serían dañadas, otras presentan productividad disminuida y algunas otras presentan su reproducción perturbada con mayores dosis de UV-B.[6]

Si la capa de ozono se sigue dañando como ha sucedido en los últimas décadas, la radiación solar UV que alcanza la superficie aumentará y podría producir un daño en las membranas de las frutas, si esta se daña, es posible que la planta muera antes de dar semillas, lo que impediría el ciclo de reproducción de estas, causando una disminución de la población, lo que conlleva a escasez de alimentos.

La intensidad de radiación UV se mide mediante el calculo del índice UV.

$$UV = B \int_{250}^{400} W(\lambda)I(\lambda)d\lambda \quad (1)$$

donde B es una constante y su valor es $40[m^2/W]$, $W(\lambda)$ es una función de peso llamada *Erythemal action spectrum* y relaciona la longitud de onda con la intensidad

de la irradiancia en función del daño que produce en la piel. $I(\lambda)$ es la irradiancia.

La figura (1.4) muestra las funciones.

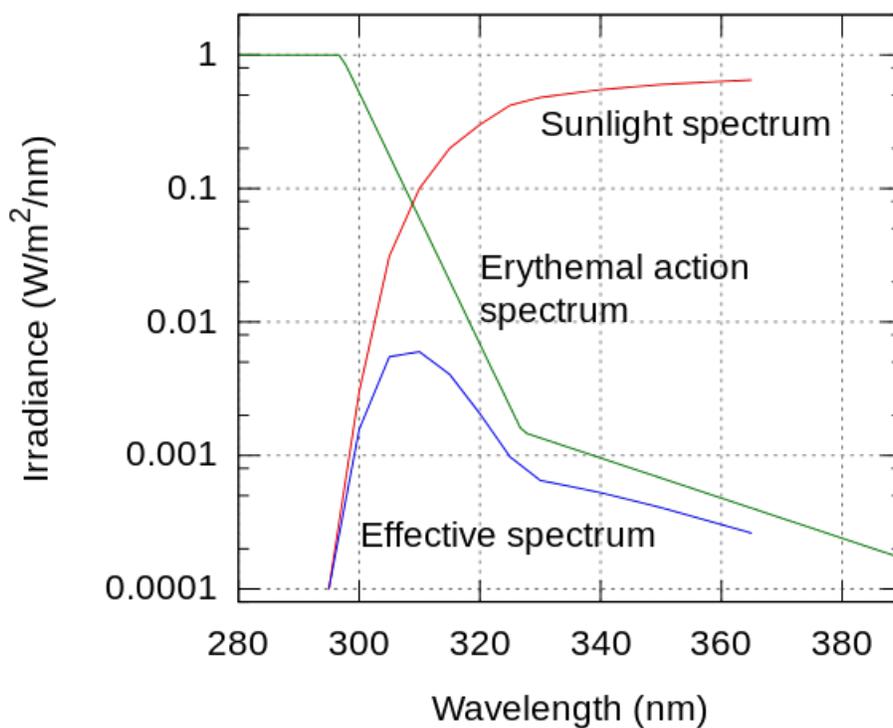


Figura 1.4: Funciones que afectan el calculo del índice UV

El índice UV es una función lineal y es razonable decir que el daño producido por un índice UV de valor 5 durante 1 hora, es igual al daño producido en media hora por un índice UV de valor 10.

1.3. Transmisión de radiación a través de un material

Cuando la luz incide en un medio material, esta puede ser absorbida, reflejada y transmitida. Lo que suceda mayoritariamente depende del tipo de material. Esta puede ser absorbida totalmente, como sucede con un cuerpo negro. Puede ser reflejada mayoritariamente, como lo hace una superficie especular, por ejemplo, un espejo y puede ser transmitida totalmente, como lo que sucede en un medio transparente. La cantidad de luz que se absorbe, refleja y transmite se puede determinar sólo conociendo dos de las tres cantidades mencionadas anteriormente. La ecuación (2) muestra la relación general entre estas cantidades.

$$I_{inc} = I_{ref} + I_{tr} + I_{ab} \quad (2)$$

La transmitancia se define como la razón entre la irradiancia que pasa a través de una muestra, y la irradiancia incidente.

$$T[\%] = \frac{I_1}{I_0} \cdot 100 \quad (3)$$

Es una medida de la luz que no fue absorbida ni reflejada por el material.

1.4. Absorción de radiación

La absorción de radiación electromagnética implica el paso de una especie de su estado fundamental de mínima energía (E_0) a un estado excitado (E^n) de mayor

energía. Solo cuando la energía de los fotones que incidan sobre la especie coincida exactamente con la diferencia de energía existente entre su estado fundamental y alguno de los posibles estados excitados se producirá la absorción de dicha energía.

[7]

$$E + h\nu \longrightarrow E^n \quad (4)$$

El término absorción está asociado al fenómeno de atenuar un haz de luz, el término es usualmente definido como la cantidad de energía la cual es transferida a otra forma de energía. Cuando un objeto de color negro es expuesto a la luz, la interacción de la luz con este objeto, resulta en el aumento de la temperatura de este. La cantidad de luz absorbida es equivalente al cambio térmico del sistema.[8]

1.4.1. Ley de Lambert Beer

En óptica, la ley de Beer-Lambert modela el decaimiento en la intensidad de la luz, cuando esta atraviesa un medio.

$$I(z) = I_0 e^{-\alpha z} \quad (5)$$

$I(z)$ es la intensidad o irradiancia de la luz (W/m^2), esta depende del espesor $z(m)$ a lo largo del medio, y α es el coeficiente de absorción (m^{-1}). El producto αz es llamado *camino óptico*, y cuantifica la capacidad del medio de absorber la luz a medida que está lo traspasa.

De acuerdo a la ley de Lambert Beer, la intensidad de luz incidente sobre la superficie de un medio (I_0), decrece exponencialmente con la distancia recorrida a través de tal medio, al interactuar con la materia.[9]

1.5. Reflexión

La reflexión difusa es la reflexión de la luz desde una superficie en la cual incide un haz, el cual es reflejado en múltiples direcciones.

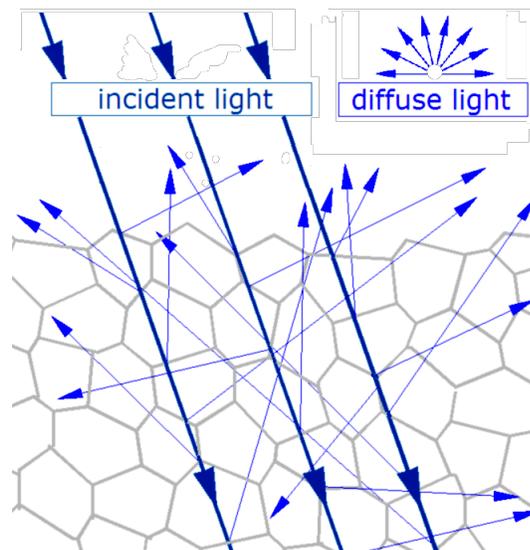


Figura 1.5: Esquema de las reflexiones dentro de un material no metálico

La figura 1.5 muestra las reflexiones producidas por un medio. Por ejemplo, si la figura representan nieve, y que los polígonos son cristales de hielo (transparentes), un rayo incidente es parcialmente reflejado (en un cierto porcentaje) por la primera partícula, y el resto entra en esta, este es luego reflejado por la interfase con la segunda partícula, entra en esta, y luego es reflejado con la tercera, y así sucesivamente hasta que llega a la superficie y este sale en una dirección distinta a la

incidente. Esto se repite para cada haz de luz, obteniéndose así una reflexión en múltiples direcciones

Capítulo 2: Desarrollo

2. Métodos Experimentales

Para obtener los datos necesarios para el análisis del efecto de la radiación UV sobre las cutículas, primero se deben medir los espectros de transmisión de radiación, que serán la base del estudio y análisis para obtener las propiedades ópticas de los biopolímeros estudiar. En las siguientes subsecciones se explican los procedimientos a seguir y los equipos utilizados para las mediciones de tales espectros.

2.1. Preparación de las muestras

La obtención de las membranas de cutículas, es mediante el *método de aislamiento de cutículas*[10], el procedimiento a seguir es el siguiente:

Recolección de las hojas Con una tijera o tenazas se cortan las hojas de la rama sin tocar la superficie de las hojas y se almacenan en una bolsa sin presionarlas, para no producir daño en las muestras. Las hojas a coleccionar no deben tener necrosis ni otras lesiones.

Luego, se dibujan líneas con un lápiz resistente al agua en el lado abaxial[11].¹ de las hojas, para que posteriormente las cutículas se puedan diferenciar de las adaxiales.

Luego con un molde circular de *4cm* de diámetro, se cortan circunferencias sobre las hojas, aplicando presión sobre el molde. Estas circunferencias no deben contener a la nervadura principal de la hoja. Cuando esto no es posible dejarla al borde de la circunferencia.

Los trozos de hojas obtenidos del proceso anterior, deben ser sumergidos en una solución enzimática, para la degradación de las otras membranas que componen la hoja, y dejar libre la cutícula. La solución enzimática utilizada es "Pectinasa/Celulasa".

Se deben preparar las siguientes soluciones con agua desionizada.

- 0,01 molar de solución de citrato a un *pH* 3 – 3,3 con 1 molar de solución *KOH*. En este búfer se mezclan 2 % Pectinasa y 0,2 % Celulasa. El búfer se debe guardar a 4°C.[12]

¹En botánica, se considera que la cara abaxial es la cara inferior de una hoja (envés). Su antónimo es adaxial

En un vaso precipitado de vidrio, se colocan los trozos de hojas y se le agrega la solución enzimática. Para acelerar el proceso, se debe someter a vacío.

Por cada litro de solución enzima-trozos de hojas, agregar 1ml de 1 molar de NaN_3 para evitar la aparición de gérmenes.

Cubrir los vasos precipitados con papel aluminio o parafilm y dejarlos algunas semanas a temperatura ambiente. Agitarlos levemente varias veces por semana.

Cuando la solución se vuelva oscura, cambiarla.

Lavado de las cutículas Cuando se cambia la solución, pueden lavarse directamente las cutículas y separar los restos de tejido. El contenido se traspasa a un embudo Büchner. Si se quedan cutículas pegadas en las paredes del vaso, se hacen flotar nuevamente. Nunca se debe apuntar el chorro de fluido directamente sobre las cutículas, sino, sobre las paredes internas del vaso. Para favorecer el desprendimiento mecánico de las cutículas de la matriz de la hoja, los trozos deben girar (moverse dentro del fluido) mientras se lavan. Pero esto debe ocurrir moderadamente, ya que los bordes duros de la matriz, podrían dañar la cutícula. Cuando todas las cutículas se hayan desprendido durante el proceso de limpieza, se puede proceder al paso 2.1.4.

Separación de las cutículas adaxiales y abaxiales Las cutículas lavadas y las matrices de las hojas, se ponen en un recipiente de vidrio plano y se llena con agua desionizada más o menos hasta una altura de 2 cm. Se separan primero

las matrices de las hojas con pinzas, y con el extremo de una vareta de vidrio con punta redondeada se separan las cutículas no marcadas y se sacan del agua. Las cutículas quedan adheridas a la vareta, si es que se pueden colocar en un vaso lleno de agua para que se desprendan. Si aún algunas cutículas se encuentran adheridas a restos o a la matriz de la hoja, se deja en solución enzimática unos días más.

Tratamiento con bórax. Luego de separar las cutículas del lado adaxial, estas aún pueden presentar ácidos grasos. Para eliminarlos, se pueden disociar con un buffer de bórax. Para esto se dejan las cutículas en una solución de 0,01 molar de buffer bórax con un valor de pH aproximado de 9. Al día siguiente se lavan con agua desionizada. Si las cutículas se quedan por más de 1 día en el buffer, se debe agregar *1ml* por cada litro de NaN_3 a la solución.

Limpieza con HCl Según necesidad, se pueden finalmente incubar las cutículas de 6 a 12 horas en 1 normal de ácido clorhídrico marca Winkler, para saturar los grupos Epoxi.

Secado y almacenamiento de las cutículas. Se colocan las cutículas en un recipiente plano lleno de agua destilada. Se sumerge en el recipiente, en un ángulo de 45° aproximadamente, un trozo cuadrado de teflón (de 4 a 5 cm de canto y 0,5 mm de espesor), y con una pinza de punta roma, se toma la cutícula cuidadosamente de un borde y se desliza sobre la lámina de teflón, al mismo tiempo que se retira del agua. La cutícula sobre la lámina de teflón se

retiran del agua y se dejan secar a temperatura ambiente. Cada cutícula debe ser retirada de la misma forma. Una vez que las cutículas están secas, se retiran cuidadosamente de la lámina de teflón y se almacenan en un recipiente para que no sufran daño alguno.

Luego, las cutículas ya aisladas, se deben montar en un ojetillo (ver figura 2.1), esto es un círculo de papel con un agujero en el centro, las dimensiones del ojetillo utilizado son $14mm$ de diámetro y un agujero centrado de $2,25mm$ de radio. Estos se utilizan para guardar hojas de tamaño carta u oficio perforadas en un costado, en las carpetas con barras.



Figura 2.1: Ojetillo para montaje de cutículas

La función de estos ojetillos, es reforzar el área alrededor del agujero en la hoja perforada, y así evitar que se rompa el papel en el agujero y se suelte la hoja.

Las cutículas son cortadas en franjas de un ancho mayor que el agujero del ojetillo (mayor a $5mm$) y montadas en estos, con mucho cuidado, para evitar dañarlas con la manipulación, ya que son muy frágiles, y se rompen con facilidad. Los ojetillos tienen una cara con adhesivo, así que se monta la cutícula entre dos ojetillos y queda pegada firmemente, similar a un "sandwich".



Figura 2.2: Cutícula de cáscara de tomate, montada sobre ojetillos, esto compone una muestra.

Notar que en la vista superior de la cutícula es opaca, en cambio, en la vista inferior es brillante. La parte brillante es la capa que queda expuesta al ambiente, en cambio, la cara opaca, es la que está hacia el interior de la cáscara. Lo mismo ocurre para las hojas. La cara de la cutícula a irradiar es la cara expuesta al ambiente.

Con este montaje es mucho más fácil realizar las mediciones de espectros de transmisión, ya que el ojetillo mantiene a la cutícula estirada y rígida, y le da el soporte necesario para no dañarla con la manipulación durante las distintas mediciones.

2.2. Mediciones de espectros de radiación

Para la medición de los espectros de transmisión y atenuación de radiación, se utiliza un sistema óptico compuesto por un espectroradiómetro con doble monocromador, marca Benthan DM-150. El rango de medición espectral es de $250nm$ a $800nm$. La principal característica de este equipo, es la función de monocromar la radiación dos veces, eliminando así gran parte de la radiación de longitudes de onda distintas a la que se quiere medir (radiación parásita) y lo que permite obtener mediciones más exactas de estas, al disminuir la radiación parásita dentro del sistema óptico del espectroradiómetro. Además tiene un controlador de temperatura dentro de la caja donde está contenido el equipo. Esto es de mucha utilidad, ya que la cantidad de luz que el detector es capaz de captar y convertir en una señal, depende de la temperatura a la que está el equipo. Para temperaturas bajas, la intensidad indicada por el equipo, es mucho menor que la indicada a una temperatura mayor. Lo importante es mantener la temperatura constante, no importa cual sea esta, ya que realizando mediciones a diferentes temperaturas, se tendrán valores diferentes para la misma muestra (Esto se quiere evitar).

La radiación que llega al espectroradiómetro es transmitida hasta este, mediante una fibra óptica, que a diferencia de las fibras comunes, está fabricada con cuarzo, que es transparente a la radiación UV, lo que permite transportar este tipo de radiación electromagnética a través de ella. Si no lo fuera, no sería posible realizar las

mediciones en el rango UV, ya que la luz sería absorbida por el vidrio que utilizad en la mayoría de las fibras ópticas comunes. Esta fibra mide un metro de longitud.

En un extremo de la fibra se ubica el espectroradiómetro, y en el otro, la entrada óptica. Esta entrada óptica, es la que se utiliza para medir radiación global, esta conformada por un domo de cuarzo que cubre un difusor (que luego entra a la fibra óptica). En este caso la entrada óptica utilizada no tiene el domo de cuarzo, por lo que solo se utiliza el difusor de la entrada. Este difusor tiene un área de 1cm^2 .

En el otro extremo de la entrada, se conecta la fibra óptica, que transporta finalmente la luz que entra al difusor desde la entrada óptica, con el espectroradiómetro.

Por último, se utiliza una fuente de radiación, que tiene un espectro similar al emitido por el sol. Esta fuente es una lámpara de calibración, que emite radiación en todo el rango UV y visible, además de una pequeña parte del espectro infrarrojo. Está compuesta de una ampolleta de filamento, con cubierta de cuarzo (para permitir la emisión de radiación UV). Es alimentada mediante una fuente estabilizadora de corriente y voltaje, para obtener siempre el mismo espectro de emisión de radiación. La ampolleta consume $6,3\text{ Amperes}$, a $20,1\text{ volts}$, por lo tanto la potencia de la lámpara es de 126 Watts . Esta lámpara se utiliza para calibrar equipos de medición de radiación solar, como lo son las entradas ópticas de radiación global.

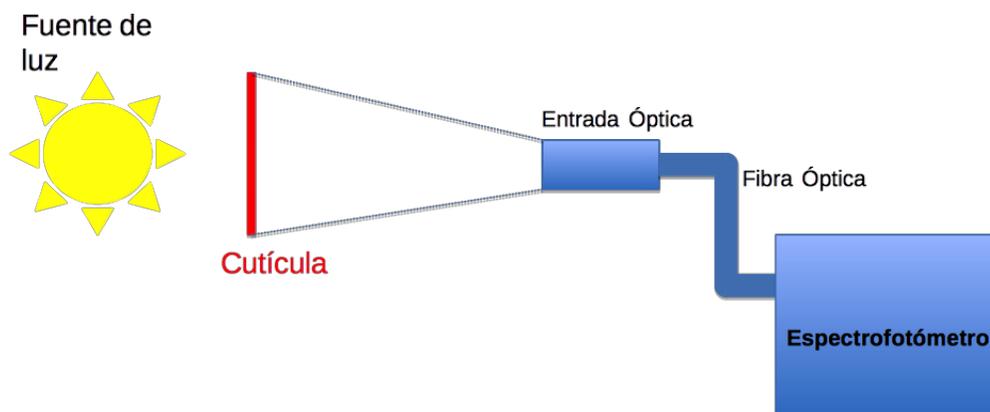


Figura 2.3: Diagrama de las conexiones entre los equipos utilizados en el montaje del experimento.

Con este sistema ya es posible realizar las mediciones de espectros de radiación de cualquier objeto que transmita radiación en el rango de medición del espectroradiómetro.

2.3. Mediciones de espectros de transmisión

Para realizar las mediciones de los espectros de transmisión de radiación de las cutículas, es necesario hacer pasar la luz emitida desde la fuente de radiación, a través de las muestras de cutículas, para poder determinar como se distribuye la transmisión espectralmente. Por lo tanto, se utiliza el sistema óptico descrito anteriormente, pero además se le agrega una pieza de soporte de las muestras (ver figura 2.4).

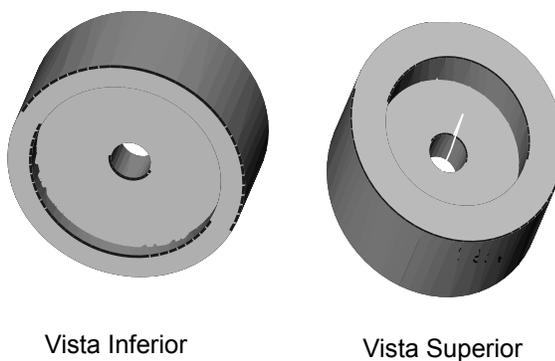


Figura 2.4: Soporte móvil para colocar las muestras sobre el difusor de la entrada.

Esta pieza consiste en un cilindro de aluminio pintado de color negro opaco (para disminuir las reflexiones sobre las muestras) con un agujero en el centro, que permite colocar la muestra de la cutícula (con ojetillo) fácilmente en la parte superior. El diámetro del agujero central del cilindro es de 4mm . El largo de agujero es de 6mm lo que asegura que la cutícula cubrirá completamente el agujero, y además permite disminuir la cantidad de radiación reflejada que traspasa la cutícula. (ver figura 2.5).

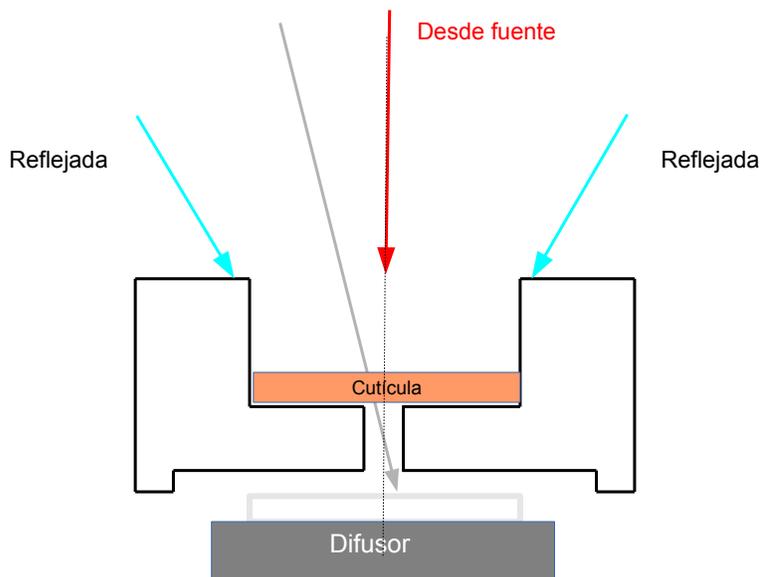


Figura 2.5: Esquema del soporte de muestras. Evita que luz parásita alcance el detector.

Con esta pieza, se asegura que la radiación que llega al detector es solo la que traspasa la cutícula, ya que con este diseño, es imposible que llegue otro tipo de radiación.

Luego, para comenzar las mediciones, se debe configurar el equipo. El espectroradiómetro se controla mediante el programa BENWIN+, de Bentham. Se debe configurar para medir el espectro de transmisión en el rango $260 - 800nm$, con un paso de $20nm$, para lo cual se obtendrán en total **28** puntos (intensidades de radiación) por espectro medido por muestra. Se realiza un promedio de 5 muestras por lectura, esto significa, que se hacen 5 mediciones, y luego el programa promedia esos datos, para entregar un solo valor de intensidad por longitud de onda medida. El tiempo de medición por muestra es aproximadamente 3 minutos.

Las unidades en que mide el espectroradiómetro son *signal/nanoAmpere*, esto significa, que no mide intensidad absoluta, solo la señal que llega al detector desde el difusor. Si se quisieran obtener valores absolutos, hay que calibrar la entrada óptica con el archivo de calibración de una lámpara de calibración. Para el análisis de los datos, no será necesario tener mediciones absolutas, porque lo importante es la razón de cambio entre los espectros medidos, a medida que se aplican diferentes dosis de radiación UV.

El método para realizar las mediciones de los espectros, es el siguiente:

Lo primero es encender el controlador de temperatura del espectroradiómetro, y esperar a que la temperatura dentro de la caja donde se encuentra el equipo se estabilice, al igual que la lámpara de calibración. Para el espectroradiómetro, se mantiene constantemente encendido el controlador de temperatura, para no esperar a que se estabilice cada día que se requiera medir. En cambio, para la lámpara, se enciende unos 30 minutos antes de realizar las mediciones, para que la temperatura de esta también se estabilice.

Medición de referencia Se mide un espectro de referencia, esto es, medir la cantidad de luz que alcanza al detector sin la cutícula, solo con el ojetillo en el soporte, con la configuración mencionada anteriormente. Esta medición sirve para determinar el espectro de transmisión de la cutícula, por medio de la razón entre los espectros medidos con y sin cutícula.

Espectro de transmisión Se coloca la muestra en el soporte de muestras y se mide el espectro asociado a tal muestra. Se mantiene la misma posición en el soporte para tener las mismas condiciones de radiación en todas las muestras. Después de medido el espectro, se cambia por la siguiente muestra.

Esto se repite para las 50 muestras utilizadas en una sesión de radiación a una cierta dosis aplicada.

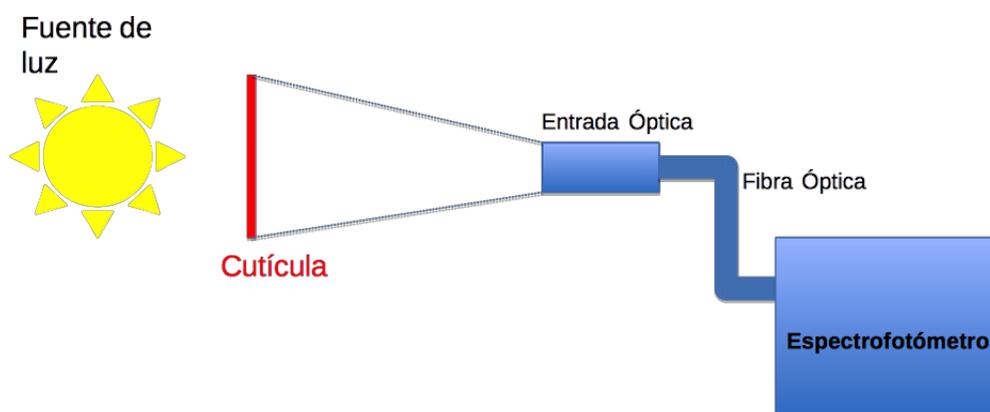


Figura 2.6: Esquema del montaje experimental utilizado.

Para el registro de los datos, los archivos medidos para cada una de las muestras se nombran con una letra y un número de la forma $X\#$, donde X corresponde a la letra, y $\#$ al número de muestra, para tener un orden de los datos recolectados, y saber a que muestra corresponde cada medición, por si se detecta alguna variación muy grande en la transmisión de cada muestra, producto de la ruptura de la membrana de la muestra, que fue lo que sucedió al principio de las mediciones con una muestra. El espectro medido tenía un pico en el rango UV, que ninguna otra de las muestras tenía, por lo que se revis  la muestra con una lupa y efectivamente la membrana tenía un agujero que dejaba pasar luz ultravioleta.

La descripción de los símbolos en la forma del registro es la siguiente:

1. La letra corresponde a las horas de radiación recibida por la muestra, en otras palabras, a la dosis de radiación UV recibida. Para los datos de cutículas de cáscaras de tomate, la letra A corresponde a 0 horas de radiación, la letra B, a 5 horas de radiación, la letra C a 10 horas de radiación, y así sucesivamente hasta llegar a 50 horas de radiación.

Para las cutículas de hojas de limón, la cantidad de horas radiadas va de 10 en 10, por lo que la letra A corresponde a 0 horas de radiación. La letra B a 10 horas de radiación. La letra C a 20 horas y así hasta completar las 70 horas.

2. El número permite identificar a cada una de las muestras utilizadas en las mediciones, ya que se pueden producir roturas en las cutículas, que a simple vista es imposible detectar. Solo con el análisis de los espectros medidos se puede determinar cual está dañada. En total para cada tipo de cutícula, se utilizan 50 muestras diferentes.

Luego, las muestras se colocan en la cámara de irradiación UV-C, y se dejan radiando 5 horas. El tiempo de irradiación es controlado por un timer que se conecta a la alimentación de la cámara.

Después de cumplidas las horas de irradiación, se vuelve a repetir el método anterior. La cantidad total de horas radiando es 45 horas para las cáscaras de tomates, y 70 horas para las hojas de limón.

2.4. Mediciones de espectros de atenuación

Para obtener los datos de los espectros de atenuación, se realiza un procedimiento similar al de transmisión, pero la diferencia recae en que se necesita aumentar el espesor óptico de la cutícula, para lo cual se coloca una cutícula sobre otra, para así simular este crecimiento del espesor, ya que es imposible hacer crecer la cutícula .

El procedimiento para obtener tales datos, es el siguiente:

Medición de referencia Se mide un espectro de referencia, esto es, medir la cantidad de luz que alcanza al detector sin la cutícula. Esta medición sirve para determinar la intensidad de radiación con un espesor de $0\mu m$, es decir, sin cutícula.

Espectro de absorción Se coloca la muestra número 1 sobre el soporte y se mide el espectro de transmisión de la cutícula. Luego se coloca la muestra número 2 sobre la muestra número 1 para simular un aumento en el espesor de esta al doble, y se mide la transmisión con dos cutículas. Se repite esto hasta alcanzar las 5 cutículas montadas en el soporte, imitando un aumento del espesor de 5 veces el tamaño de espesor original. Luego se repite el procedimiento para 10 grupos más, cada grupo esta formado por 5 muestras diferentes. En total son 50 muestras, las mismas utilizadas para las mediciones de transmisión de radiación.

Después de obtener los datos de los espectros de atenuación, se dejan radiando las cutículas en la cámara de irradiación durante 5 horas. Y se vuelve a repetir el proceso hasta cumplir con el máximo tiempo de irradiación.

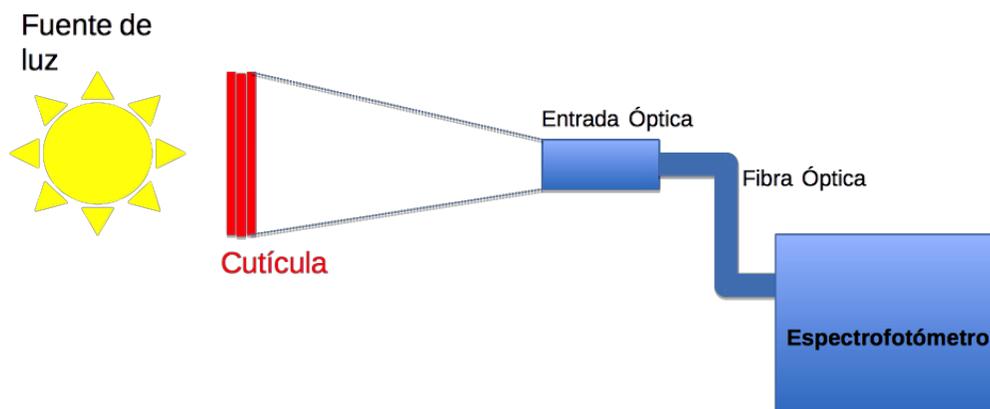


Figura 2.7: Esquema del montaje experimental utilizado.

2.5. Cámara de irradiación UV

La cámara de irradiación UV, consiste en una caja rectangular de madera blanca (melamina), con 8 lámparas UV-C, que se utilizan para desinfección. La disposición de las lámparas dentro de la caja se muestra en la figura 2.8. Hay 3 lámparas ubicadas en cada costado de la caja, y 2 más en la parte superior. Se retiran 2 caras de la caja para que circule el aire y así mantener una temperatura constante dentro de esta, para eliminar el efecto del cambio de la temperatura sobre las cutículas. La temperatura se controla con el aire acondicionado del laboratorio. Se mantiene constante a 20°C.

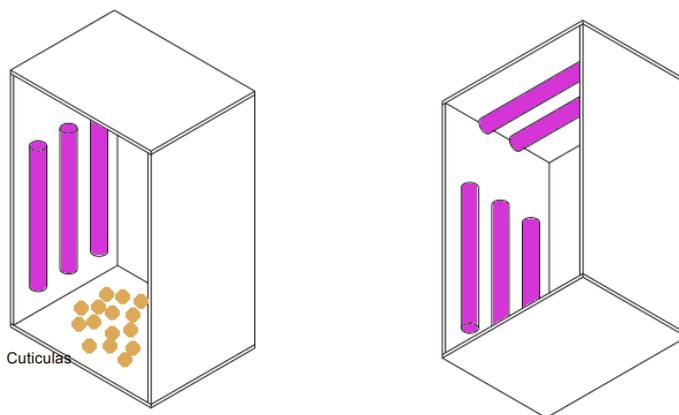


Figura 2.8: Cámara de radiación UV utilizada para la exposición de las muestras a diferentes dosis de radiación UV

Las cutículas se depositan sobre un vidrio lo más cercano al centro de la cámara. Para que así todas las muestras reciban la misma dosis de radiación UV.

Además, las cutículas se depositan con la cara brillante hacia arriba, para simular la exposición a la radiación que recibirían del sol si estuvieran en la hoja o fruta.

La figura (2.9) muestra el espectro de emisión de la cámara de irradiación utilizada.

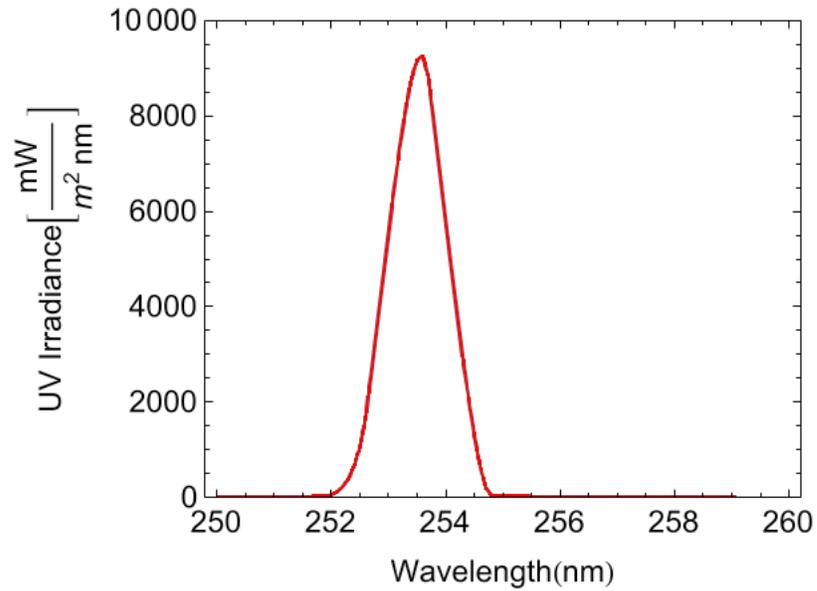


Figura 2.9: Espectro de radiación de la cámara UV

Como se observa, el espectro tiene un pico de emisión alrededor de los 253.5nm, este máximo está dentro del rango UV.

El índice UV calculado para esta cámara en la superficie del vidrio es de valor 100. Esto es 9 veces mayor a los valores máximos que se obtienen a lo largo del año en la zona central del país.

3. Resultados

Las mediciones de los espectros de transmisión y las diferentes formas de utilizar estos datos, permiten obtener el cambio espectral que produce la radiación UV-C en la transmisión de las cutículas, y el cambio en el coeficiente de atenuación de estas. Los resultados obtenidos se muestran a continuación.

3.1. Transmisión

3.1.1. Cutículas de cáscara de tomate

De las mediciones de espectros de transmisión de cutículas de cáscaras de tomate, se puede determinar el espectro de transmisión promedio, mediante la razón entre el espectro medido con cutícula, y el espectro medido sin cutícula. El espectro sin cutícula se utiliza como la referencia de la radiación emitida por la fuente de radiación. Al hacer el cociente entre estos dos espectros se obtiene el gráfico de la figura 3.1, que es el espectro de transmisión promedio para la cutícula de cáscara de tomate sin radiar.

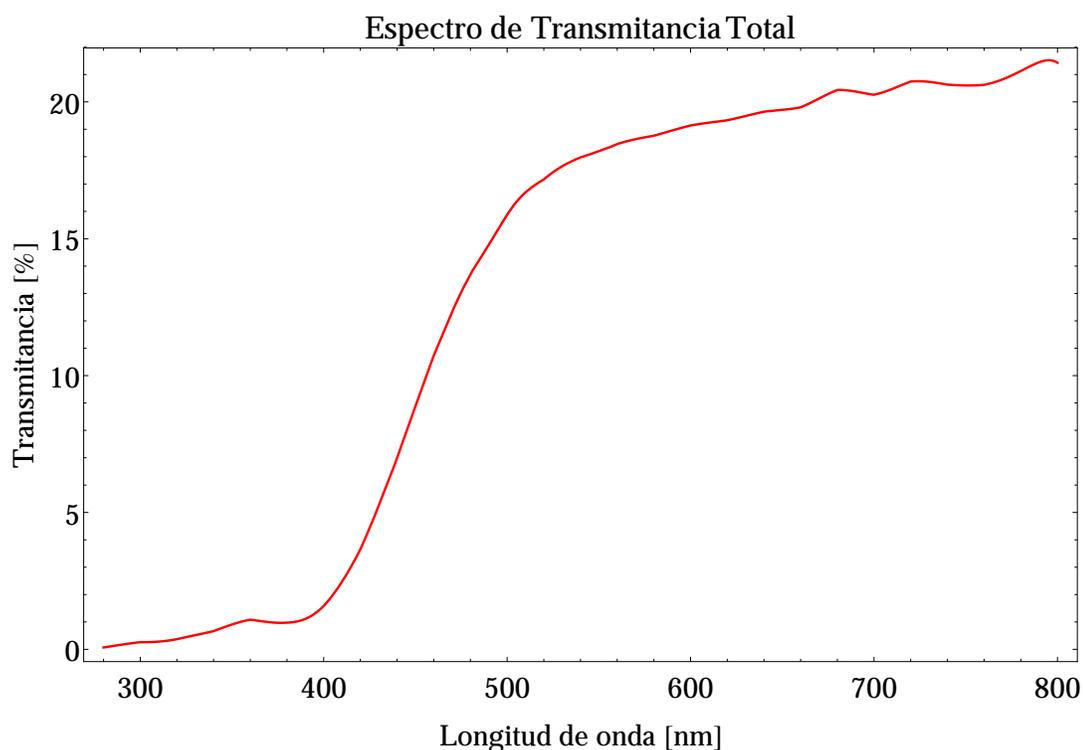


Figura 3.1: Espectro de transmisión de una cutícula de tomate sin radiar, obtenido por la razón de los espectros medidos

Se observa como la radiación del rango UV es absorbida casi por completo, solo tiene un pico en los 360nm , con un valor máximo de $1,2\%$ para el rango UV. Esto significa, que la membrana de la cáscara de tomate funciona como filtro UV, dejando pasar sólo el $1,2\%$ de la radiación UV-A recibida.

En el rango VISIBLE, se observa que la radiación de mayor energía (la más cercana al color violeta), es transmitida en menor cantidad, y va aumentando a medida que se desplaza en el espectro hacia el color rojo (menor energía). Esta transmisión aumenta rápidamente desde aproximadamente los 400nm hasta los 500nm , llegando a un valor de transmisión del 18% . Luego el aumento cambia a una pendiente

menor, llegando a un valor de transmisión de 21 % para $740nm$, donde llega a su máximo.

La figura 3.2 muestra los espectros de transmitancia para tres diferentes dosis de radiación UV aplicadas a las muestras con la cámara de radiación UV-C.

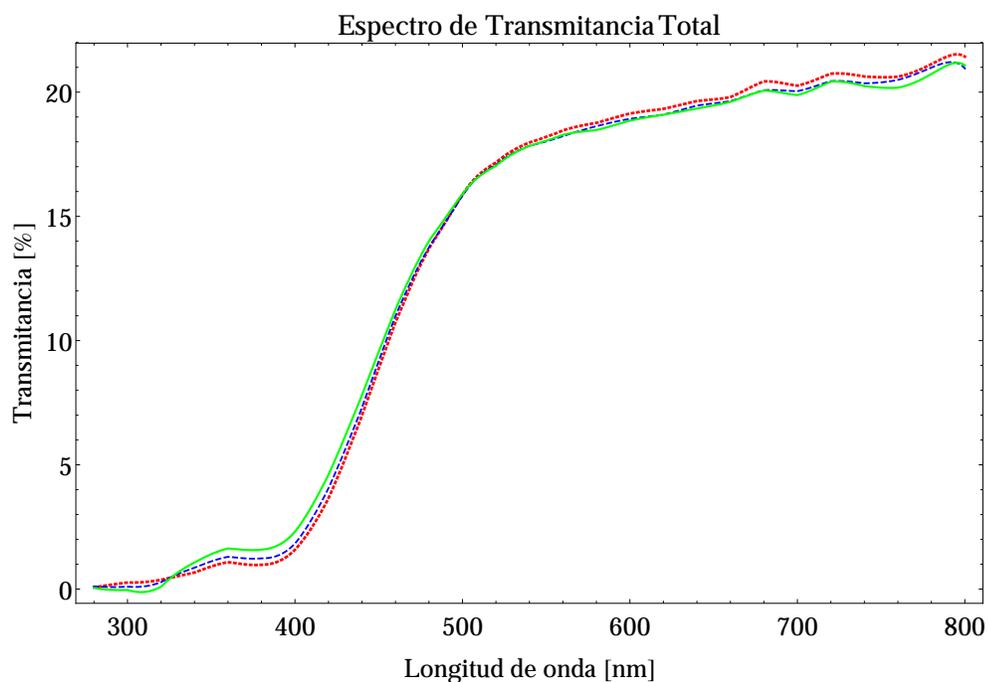


Figura 3.2: Espectros de transmitancia para tres dosis de radiación UV diferentes, color rojo: 0 horas de radiación, color azul: 5 horas de radiación y color verde: 10 horas de radiación.

Se observa que la curva del espectro varía poco alrededor de los $500nm$, esto indica que la dosis aplicada no afecta las propiedades de transmisión de estas cutículas en esas longitudes de onda. Hacia el rango infrarrojo ($680nm$ en adelante), se observan pequeños cambios en la transmitancia. Estos cambios pueden ser más apreciables si se aplica una dosis mayor de radiación. Las variaciones más importantes se observan en el rango UV del espectro. Donde la tendencia es que aumente la transmitancia a medida que se aplica una dosis de radiación mayor.

Al aumentar esta zona del gráfico (figura 3.3), se observa de forma mucho más clara tales variaciones.

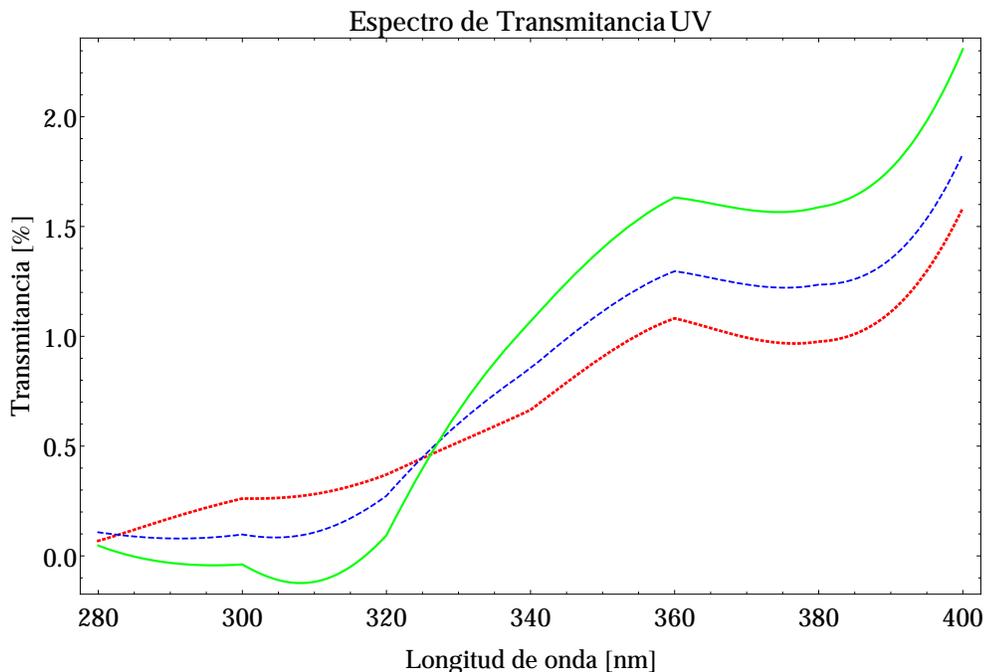


Figura 3.3: Espectros de transmitancia rango UV para tres dosis de radiación UV diferentes, color rojo: 0 horas de radiación, color azul: 5 horas de radiación y color verde: 10 horas de radiación.

Para valores de longitud de onda alrededor de los 280nm , no se observa un cambio significativo. A medida que se desplaza al rango UV-B (280nm a 320nm), se observa una disminución de la transmitancia, desde un $0,3\%$ hasta 0% en los 300nm , esto indica que después de 10 horas de radiación UV-C aplicada en la cámara de radiación, la cutícula ya no deja pasar la radiación UV de longitud de onda de 300nm . Algo similar ocurre a los 320nm . La gran diferencia ocurre desde los 340nm a 400nm , donde la transmitancia va aumentando. El aumento dentro de este rango es proporcional en porcentaje, esto quiere decir, que hay un incremento con valor de $0,6\%$ en todas estas longitudes de ondas.

Ahora se procede a analizar los datos de transmisión después de aplicar varias horas de radiación UV-C a las muestras, se graficará la transmisión en función de las horas expuestas a la radiación dentro de la cámara.

Primero se observa lo que sucede con la transmitancia en el rango UV ($260nm$ - $400nm$), figura 3.4.

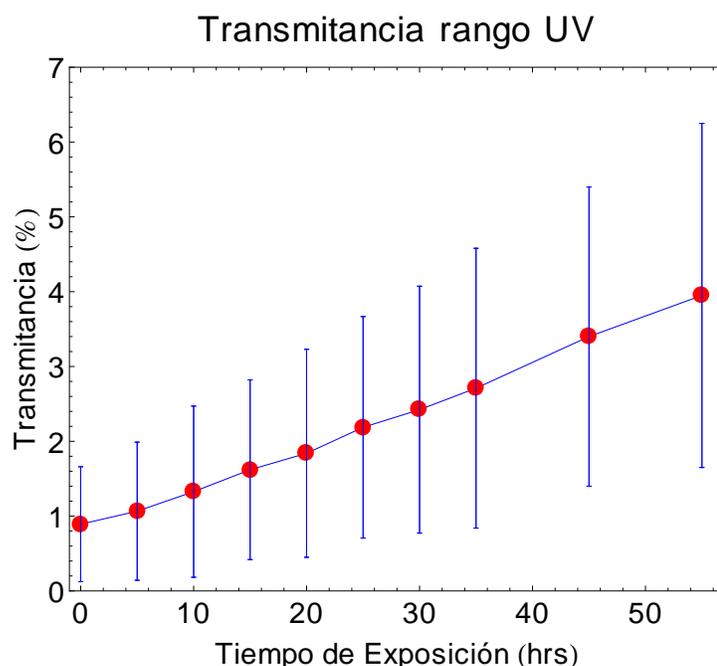


Figura 3.4: Transmitancia en el rango, donde los puntos indican el promedio de las 100 muestras medidas por cada 5 horas de irradiación dentro de la cámara UV. Los últimos dos puntos están medidos cada 10 horas.

Claramente se ve que la curva tiene una pendiente positiva, lo que indica el aumento de la transmitancia, esto se puede producir por algún daño en la estructura de la cutícula con la radiación, más específicamente, se puede deber a la fluorescencia que se produce, ya que las cutículas son fluorescente a los $630nm$ []. Además de los valores promedios, también se puede determinar el daño producido por cantidad de

horas de radiación, obteniendo la ecuación (6).

$$T_{UV}[\%] = (0,056 \pm 0,001)[\%/hrs]x[hrs] + (0,78 \pm 0,03)[\%] \quad (6)$$

Donde T_{UV} es la transmitancia en porcentaje para el rango UV. Esta ecuación indica que el aumento en la transmitancia es de 0,05 % por cada hora de exposición dentro de la cámara de radiación.

Luego, en la figura 3.5, se observa la transmitancia promedio, más las barras de error para el rango UV más infrarrojo (IR), desde 400nm a 800nm.

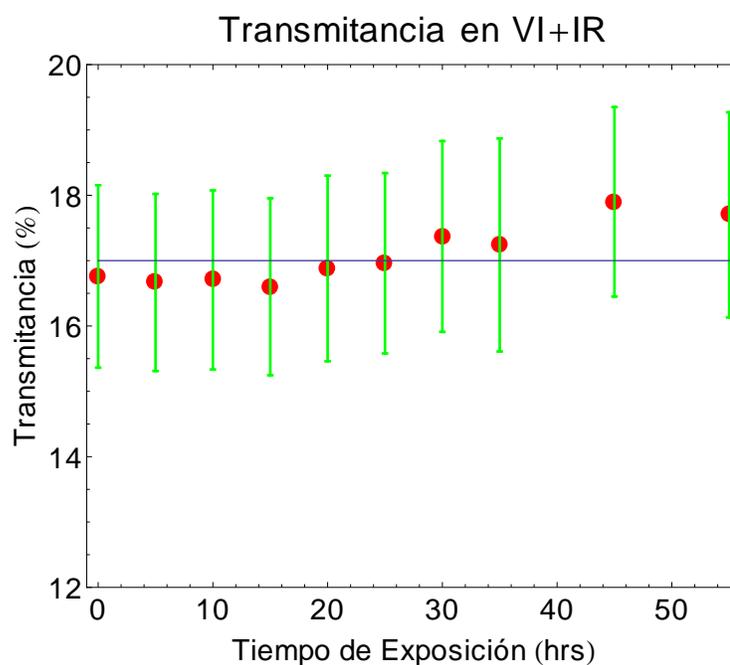


Figura 3.5: Transmitancia en el rango visible más una pequeña parte del infrarrojo cercano

En este caso, la transmitancia solo oscila dentro de un promedio de 17 % para las primeras 30 horas, con un leve aumento desde 30 a 50 horas, pero sin demostrar un cambio significativo como sucede con el rango UV.

Para determinar cual es la longitud de onda que se ve más afectada por la radiación UV-C, se procede a graficar algunas longitudes de ondas, donde es más claro el efecto de la exposición, según la figura 3.2.

A continuación se grafica la transmitancia promedio de las cutículas en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C dentro de la cámara, para 4 longitudes de ondas diferentes.

La figura 3.6, muestra el cambio en la transmisión para $320nm$.

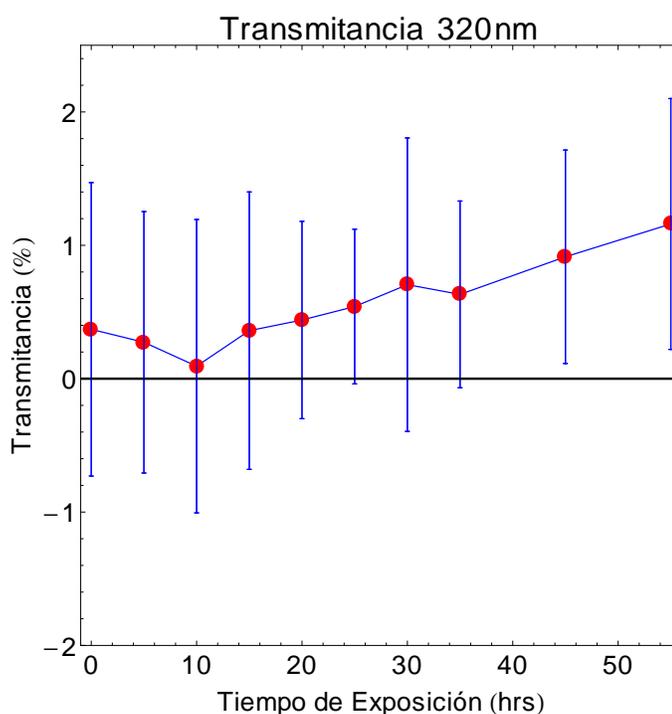


Figura 3.6: Transmitancia versus la cantidad de horas radiadas dentro de la cámara UV-C a temperatura constante

En esta longitud de onda, recién es apreciable un aumento de la transmisión después de 15 horas de radiación, pero aún así el promedio para 50 horas está dentro del rango de error de la medición de transmisión sin radiar (0 horas). Además se observa que este crecimiento es constante después de radiar 35 horas las muestras.

En la figura 3.7 se observa claramente la dependencia de la transmitancia, con el tiempo de exposición a la radiación UV-C de la cámara.

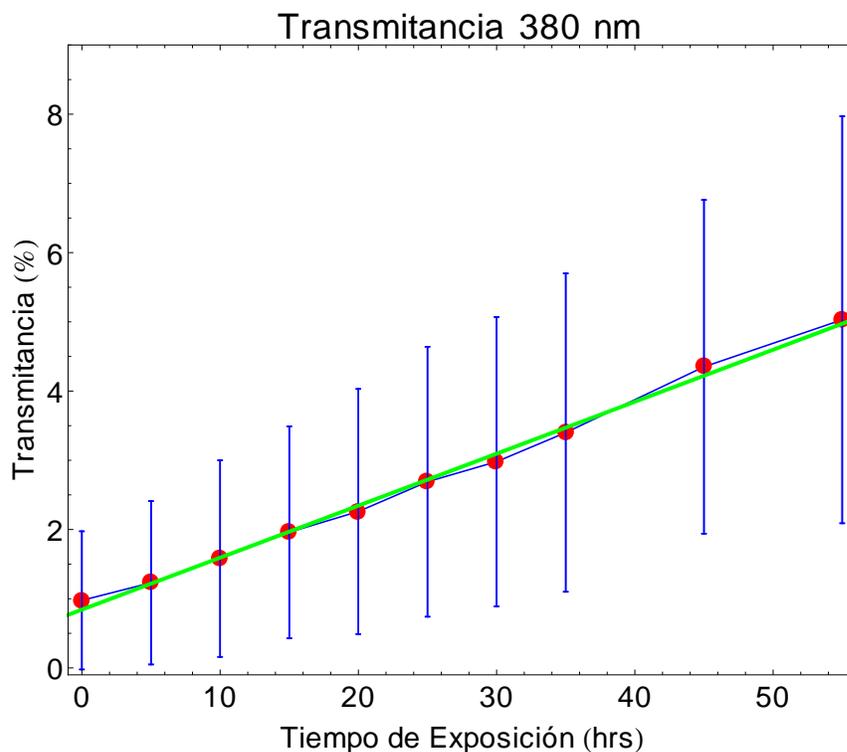


Figura 3.7: Trasmisión para 380nm en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C. Recta color verde, ajuste lineal de los promedios de transmitancia

Este aumento en la transmitancia aparentemente tiene la forma de la ecuación de la recta $y = mx + b$, por lo tanto, se realiza un ajuste lineal. El promedio de los datos se ajusta a una recta. La ecuación resultante es:

$$T_{380}[\%] = (0,075 \pm 0,002)[\%/hrs] \cdot x[hrs] + (0,84 \pm 0,05)[\%] \quad (7)$$

con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0,996$ El ajuste muestra muy buena correlación entre el promedio de transmisión y el tiempo de exposición.

Además, el rango de error de la transmitancia después de de aplicar 55 horas de radiación a las muestras, el mínimo valor medido (2,09 %) es mayor al máximo valor medido para las muestras sin radiar (1,97 %). Esto indica que se produce un daño efectivo en las muestras, ya que los límites de las barras de error ya no se cruzan.

Para los 500nm y los 660nm, ya no hay un cambio tan marcado, como sucede en los 380nm. Las figuras 3.8 muestran la tendencia de los datos obtenidos para estas dos longitudes de ondas.

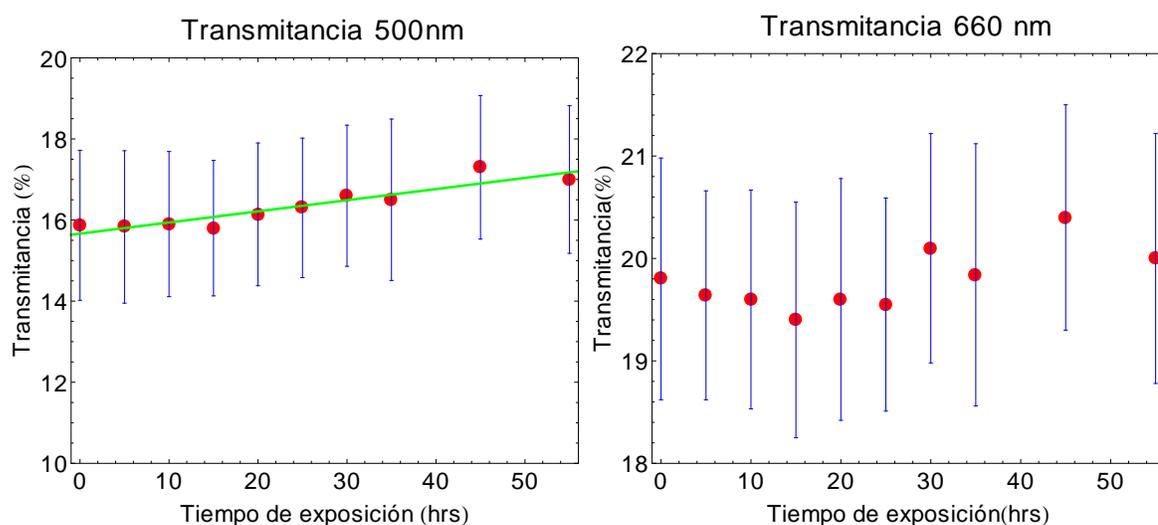


Figura 3.8: Trasmisión para 500nm y 660nm en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C. Recta color verde, ajuste lineal de los promedios de transmitancia

Al calcular el coeficiente de correlación lineal para 550nm, este da un valor de $R^2 = 0,857$, lo que es un valor muy bajo para considerarlo como un ajuste lineal. Por lo tanto, no hay una tendencia clara a que los datos se comporten siguiendo la ecuación de la recta.

De los 4 gráficos anteriores, se puede afirmar que la radiación UV-C afecta de manera muy clara a las longitudes de ondas del rango UV. No así las longitudes de

ondas del rango visible e infrarrojo cercano, ya que solo se muestran oscilaciones dentro de los rangos de error de las mediciones.

3.1.2. Cutículas de hojas de limón

Ahora se analizará la transmisión y el efecto de aplicar altas dosis de radiación UV-C a las cutículas de hojas de limón.

Primero, se obtiene la curva de transmisión en todo el rango medido. La figura 3.9 muestra tal curva.

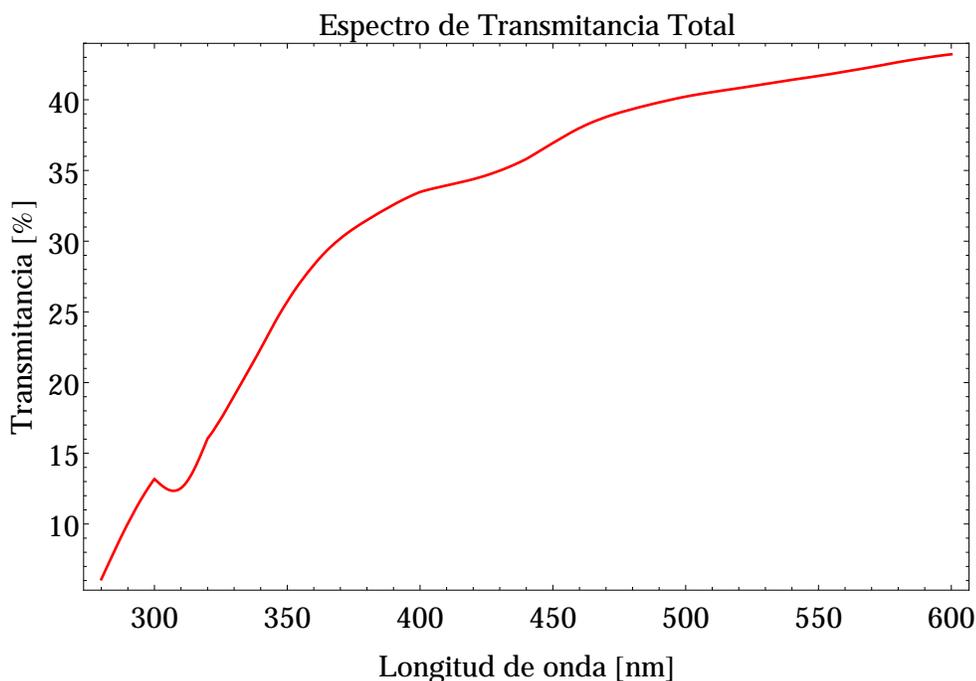


Figura 3.9: Espectro de transmisión para cutícula de hoja de limón sin aplicar radiación UV-C

Esta curva es diferente a la obtenida para la cáscara de tomate, ya que deja pasar una cantidad mayor de radiación UV. En los $280nm$, el porcentaje de transmisión es 6,1 %, luego este aumenta hasta 13,2 % para $300nm$. Desde $300nm$ hasta $380nm$ aumenta de forma constante hasta un valor de 33,5 %. Para luego seguir aumentando la transmisión, pero a una menor tasa de crecimiento, para llegar finalmente a 46 % en $800nm$.

Para determinar cuales longitudes de ondas son más afectadas al aplicar radiación UV-C a las muestras, se procede a gráficar el espectro de transmisión para diferente dosis. La figura 3.10 muestra tales espectros.

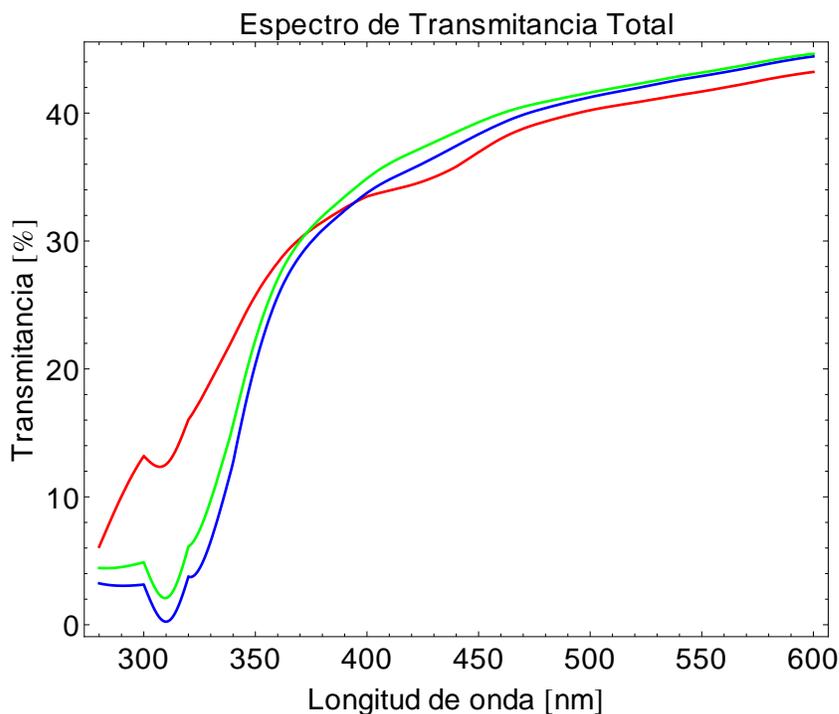


Figura 3.10: Espectro de transmisión para 3 dosis diferentes. (color rojo: 0 horas, color azul: 10 horas, color verde: 20 horas)

Como se observa, el mayor cambio se produce en el rango UV, donde la separación entre las curvas es mayor. En el rango visible, también hay cambio, pero es pequeño con respecto a lo que sucede en el UV.

La figura 3.11 muestra con mayor detalle tales variaciones en el UV.

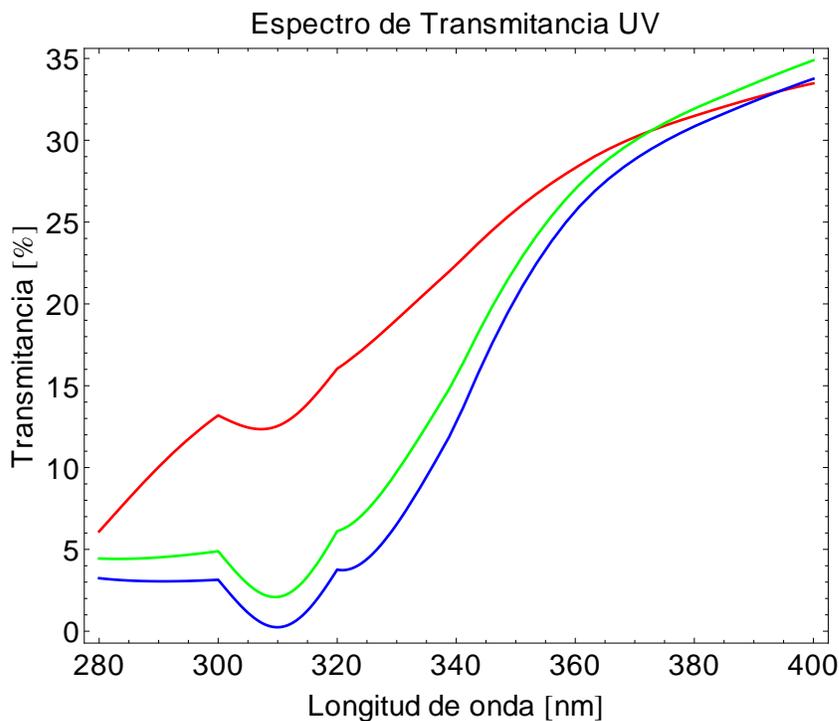


Figura 3.11: Espectro de transmisión en rango UV. (color rojo: 0 horas, color azul: 10 horas, color verde: 20 horas)

Notar que la curva de color rojo, son las muestras sin radiar. La curva de color azul, muestras radiadas 10 horas y la curva de color verde, muestras radiadas 20 horas. Sucede algo muy diferente en el cambio de transmisión, ya que dentro de las primeras 10 horas, la transmisión disminuye alrededor de un 10% en la longitud de onda $300nm$, para luego aumentar nuevamente (curva de color verde). Al igual que la cutícula de cáscara de tomate.

La figura 3.12 muestra este cambio en el rango UV total, no por longitud de onda.

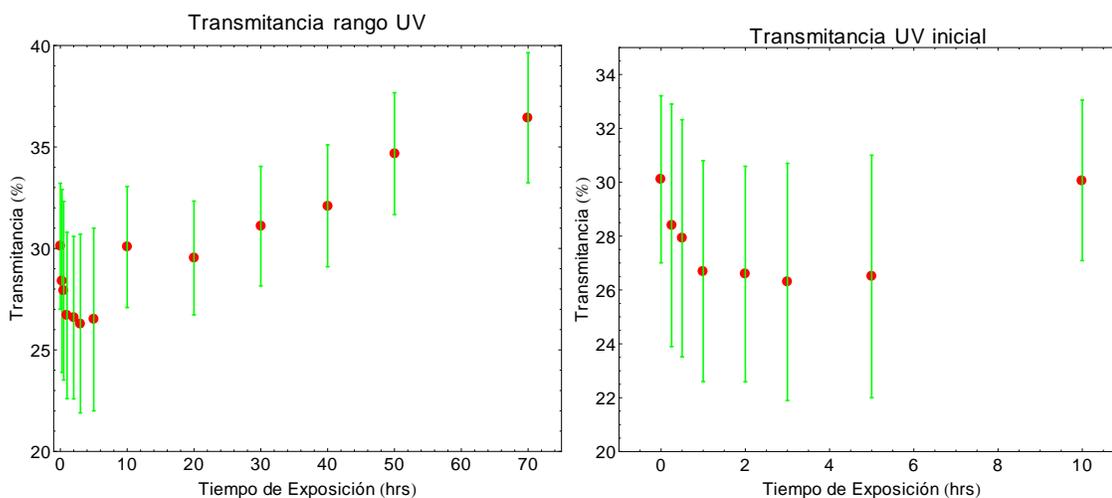


Figura 3.12: Transmitancia en el rango UV, de 0 hasta 70 horas de radiación dentro de la cámara de irradiación UV-C, y desde 0 a 10 horas.

Como se observa, los mayores cambios ocurren dentro de las primeras 2 horas de irradiación de las muestras. En los primeros 15 minutos de irradiación, la transmisión total del rango UV decae un 1,8%. Estos cambios pueden ser mayores en algunas longitudes de ondas, y en otras puede hasta no haber cambios. Por lo tanto, hay que observar lo que ocurre por cada longitud de onda en el rango UV. Además, hay un aumento de la transmisión de forma constante desde las 20 horas en adelante.

Tales cambios también ocurren en el rango visible, pero afectando de forma diferente la transmisión. Esto se ve en la figura 3.13.

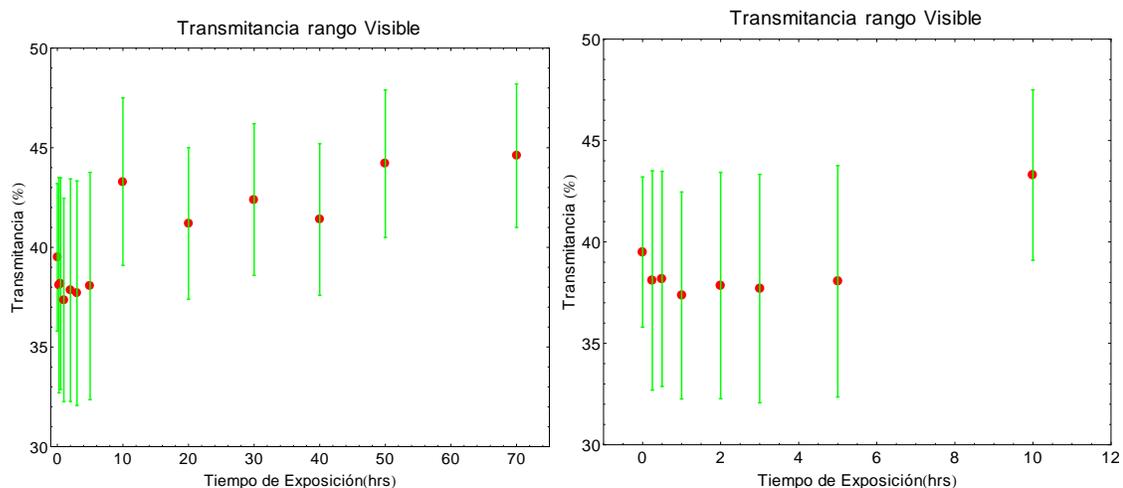


Figura 3.13: Transmisión total para el rango visible, desde 0 a 70 horas de irradiación, y desde 0 a 2 horas de irradiación

La transmisión total en el rango visible, decae en los primeros 15 minutos un 1,5 %, pero luego se mantiene alrededor de 37,5 %. Estos valores corresponden al promedio de las muestras analizadas.

El cambio más importante encontrado ocurre en las longitudes de ondas $300nm$ y $320nm$. La figura 3.14 muestra el cambio en la transmisión para $300nm$.

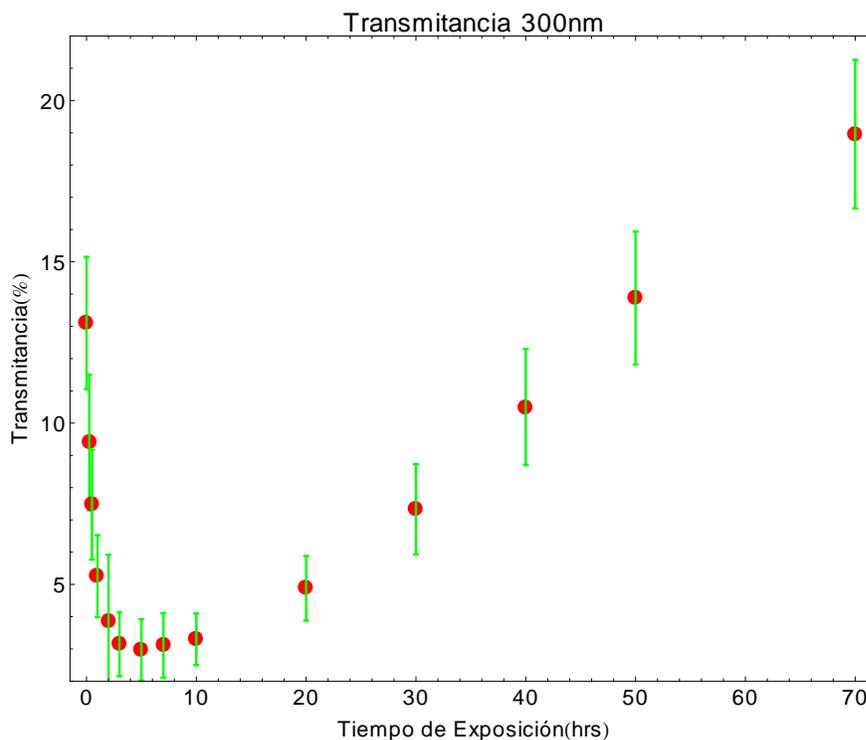


Figura 3.14: Transmisión en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C dentro de la cámara.

Aquí el cambio producido dentro de los primeros 15 minutos de irradiación en la cámara, hacen que la transmisión disminuya en 3,7%, desde 13,2% a 9,5%. Luego continua disminuyendo hasta pasada las 5 horas, donde llega a su mínimo, 2,97%. En total, la transmisión decae en 10,2% antes de comenzar a subir. Para que alcance la transmisión inicial es necesario que pasen 50 horas de irradiación dentro de la cámara. Ya después de 70 horas, se aprecia un daño significativo en la cutícula que permite que la transmisión aumente por sobre el rango de error de la medición inicial.

La figura 3.15 muestra un ajuste exponencial para las primeras 5 horas, y luego un ajuste lineal para las siguientes horas.

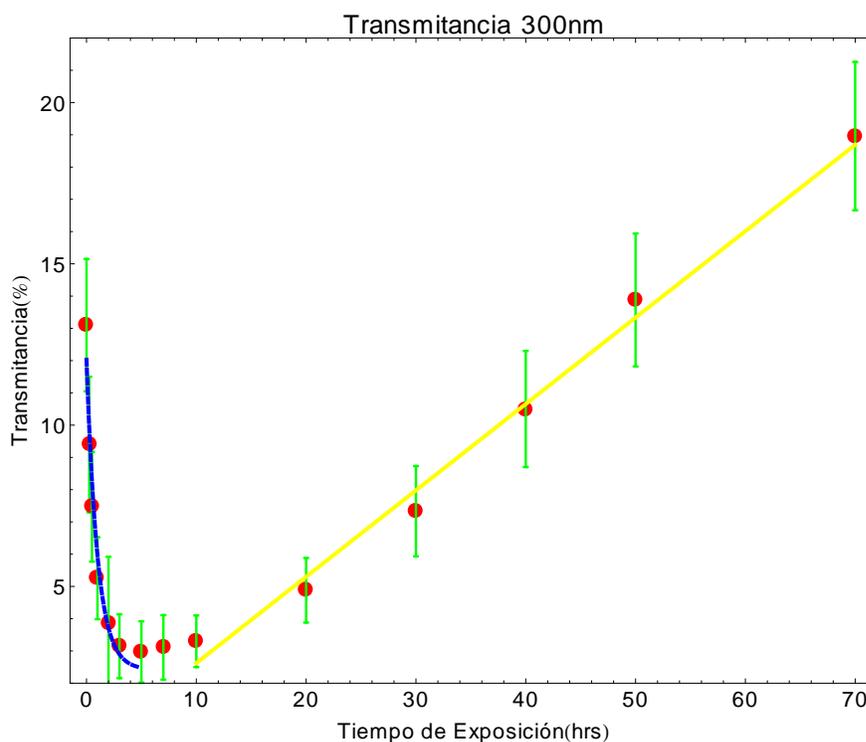


Figura 3.15: Curva azul: Ajuste exponencial para los primeros 7 datos. Recta amarilla: Ajuste lineal para los siguientes datos del gráfico anterior.

Aquí hay algo muy interesante, ya que la transmisión no se comporta de forma lineal, como si lo hace la cutícula de tomate. Primero la transmisión decae muy rápido. En la primera hora, ya decae un 10% de transmisión, luego tiende a un mínimo, el cual se encuentra aproximadamente alrededor de las 5 horas de exposición a la radiación UV-C. Del ajuste exponencial (curva color azul) se obtiene la ecuación 8

$$T_{L300}[\%] = 2,4[\%] + 9,6 \cdot \exp^{-x[\text{hrs}^{-1}]}[\%] \quad (8)$$

Esta ecuación muestra como cambia la transmisión porcentual en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C. Se ajusta de buena forma para las primeras 3

horas, pero luego, la curva de transmisión se mantiene cuasi-constante, hasta volver a aumentar la transmisión en la hora 10.

También se realiza un ajuste lineal, dando como resultado la ecuación 9

$$T_{L300}[\%] = (0,26 \pm 0,06)[\%hrs^{-1}] \cdot x[hrs] - (0,056 \pm 2,09)[\%] \quad (9)$$

Este ajuste, tal como se muestra en la figura 3.15 (recta color amarillo), indica el aumento en el porcentaje de transmisión para las diferentes horas de radiación UV-C. La pendiente de la ecuación 9 indica que por cada hora de irradiación, la transmisión aumenta un 0,26 %.

Algo muy similar ocurre en los $320nm$, la figura 3.16 muestra la curva obtenida por el promedio de los datos medidos, incluyendo las barras de error asociados a la desviación estándar de los datos.

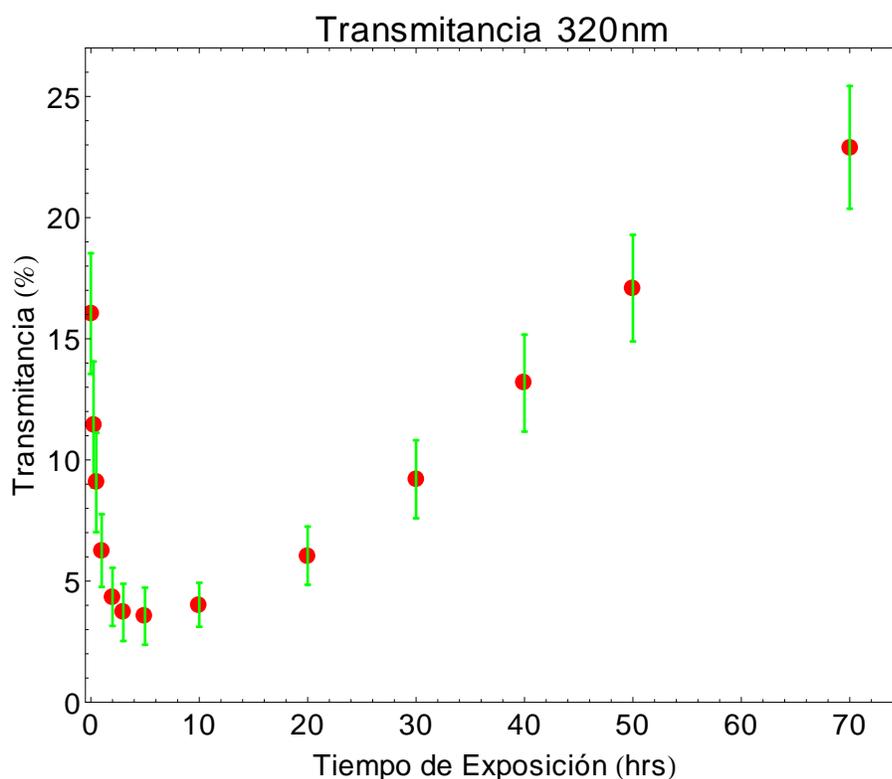


Figura 3.16: Efecto de la radiación UV-C en la transmisión de cutículas de hojas de limón

También se realiza un ajuste exponencial para la primera parte (de 0 a 5 horas) y un ajuste lineal para la segunda (de 10 a 70 horas).

Los resultados de los ajustes son los siguientes:

$$T_{L_{320}}[\%] = 2,74[\%] + 11,95 \cdot \exp^{-x[\text{hrs}^{-1}]}[\%] \quad (10)$$

Esta ecuación se ajusta muy bien, hasta las 2 horas de irradiación, luego ya hay un cambio apreciable en la tendencia de la curva.

$$T_{L_{320}}[\%] = (0,33 \pm 0,03)[\% \text{hrs}^{-1}] \cdot x[\text{hrs}] + (0,04 \pm 1,2)[\%] \quad (11)$$

donde la pendiente indica que la transmisión aumenta a razón de $(0,33 \pm 0,03)[\%]$ por cada hora de irradiación dentro de la cámara.

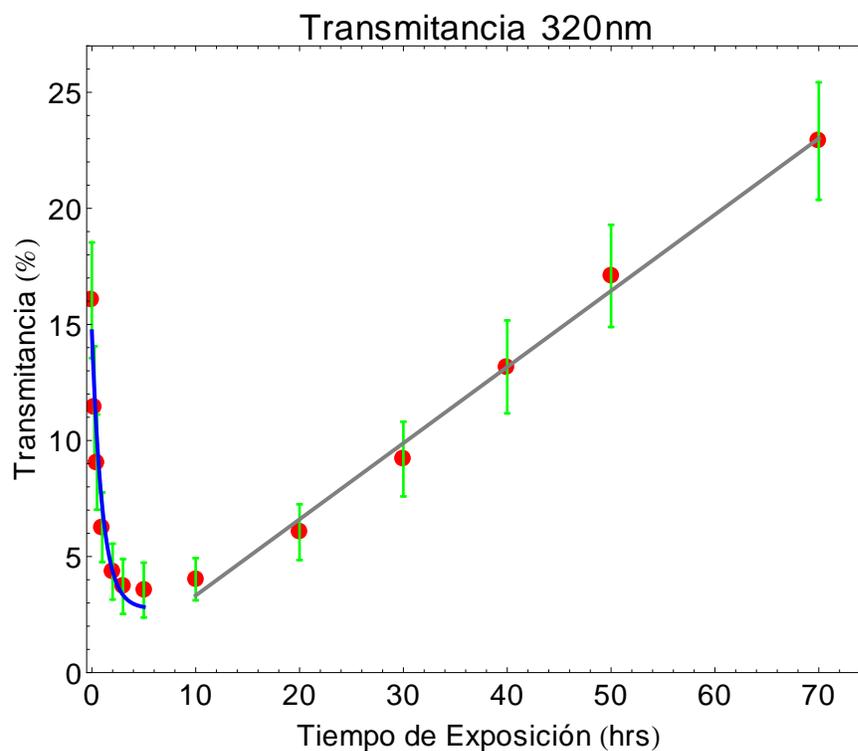


Figura 3.17: Ajustes realizados a los datos de transmisión. Curva color azul: Ajuste exponencial. Recta color gris: Ajuste lineal

Los siguientes tres gráficos muestran los efectos de la irradiación UV-C en función del tiempo.

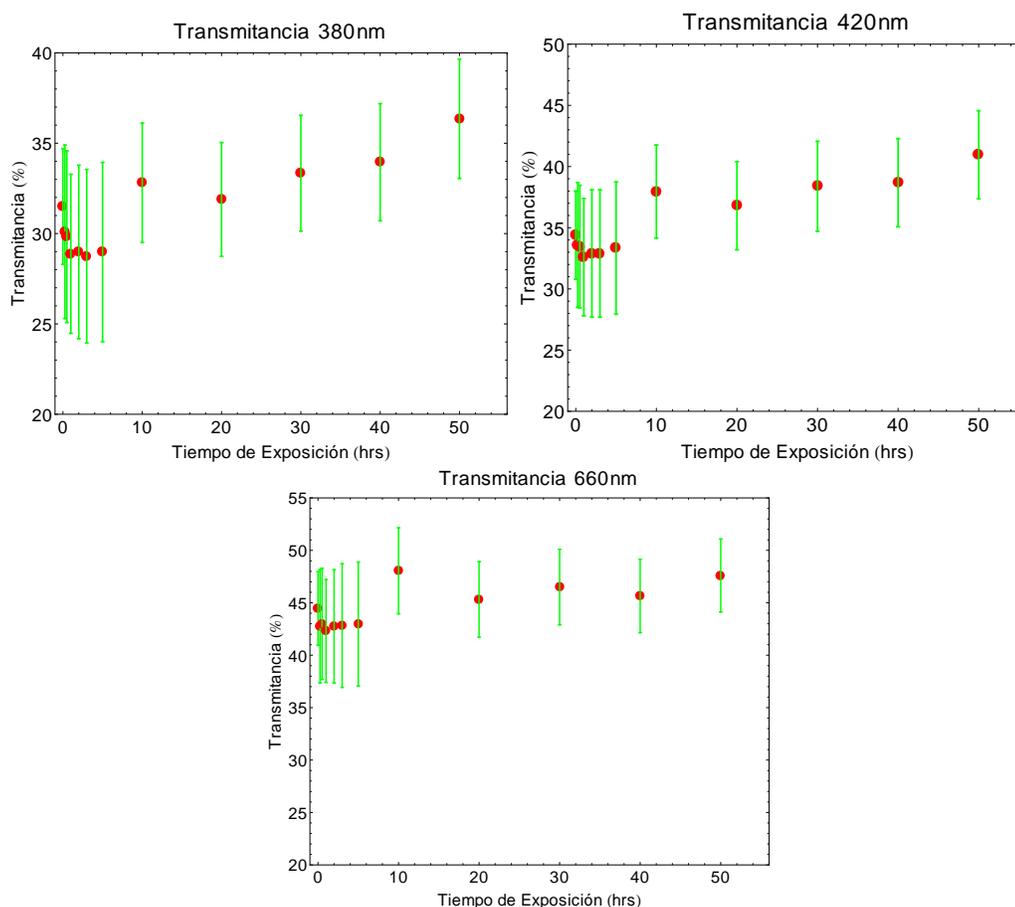


Figura 3.18: Efectos de la exposición a la radiación UV-C para tres longitudes de ondas diferentes

Para el gráfico de $380nm$, también se observa que hay una disminución de la transmisión en las primeras 3 horas, para luego mantenerse constante hasta 5 horas de exposición, para luego comenzar a aumentar, pero muy levemente.

Para $420nm$, sucede exactamente lo mismo. La diferencia que hay es el porcentaje que disminuye en las primeras 3 horas. Para los $300nm$ decae un 10,2 %. Para $320nm$, decae un 12,5 %. Para $380nm$ decae un 2,75 %. Para $420nm$ decae un 1,49 % y para $660nm$ decae un 1,71 %.

Por lo tanto, el mayor efecto producido por la exposición de las muestras a la radiación UV-C está en los $320nm$, donde es mayor el porcentaje de variación de la transmisión.

3.2. Absorción

Para determinar la absorción de la cutícula de cáscara de tomate y de hoja de limón, es necesario determinar también la reflexión de las cutículas. Para medir intensidad de reflexiones, es necesario usar una **esfera de integración**, la cual no estaba disponible durante el tiempo que se realizaron las mediciones.

Además, existe el problema de las múltiples reflexiones y absorciones que se producen en las distintas capas de cutículas. (ver figura 3.19)

Para simplificar el análisis, se procederá a determinar un **coeficiente de atenuación**, que considere estas dos interacciones.

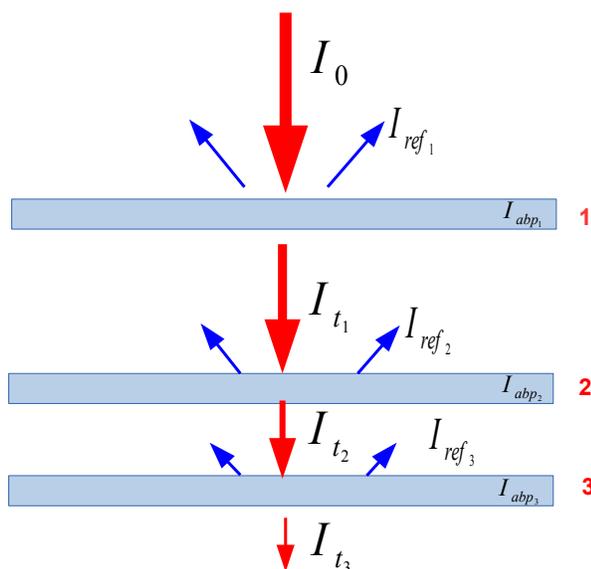


Figura 3.19: Esquema de los factores que interactúan en las propiedades ópticas de las cutículas. I_0 : intensidad incidente. $I_{t_{\#}}$: Intensidad transmitida. $I_{ref_{\#}}$: Intensidad reflejada. $I_{abp_{\#}}$: Intensidad absorbida

De la figura 3.19 se observa la cantidad de reflexiones y absorción que se produce por la luz incidente. La complejidad de medir cada una de estas aumenta considerablemente a medida que se aumenta el número de membranas en la medición.

Una solución a este problema, es medir la reflexión en función de la intensidad lumínica. Para lo cual se utiliza una esfera de integración. Con esta función se simplifica bastante la determinación de la absorción. Ya que el espesor de las membranas se puede considerar casi constante. Por lo tanto, utilizando la ecuación 2, ya se pueden obtener las tres propiedades ópticas de las cutículas.

3.2.1. Cutículas de cáscara de tomate

La figura 3.20, muestra la transmisión en función de la longitud de onda, para mediciones de atenuación con distinta cantidad de cutículas. Para aumentar el espesor óptico de las muestras, es necesario aumentar el número de membranas, ya que no hay forma de hacer crecer la cutícula, ya que esta está ya aislada.

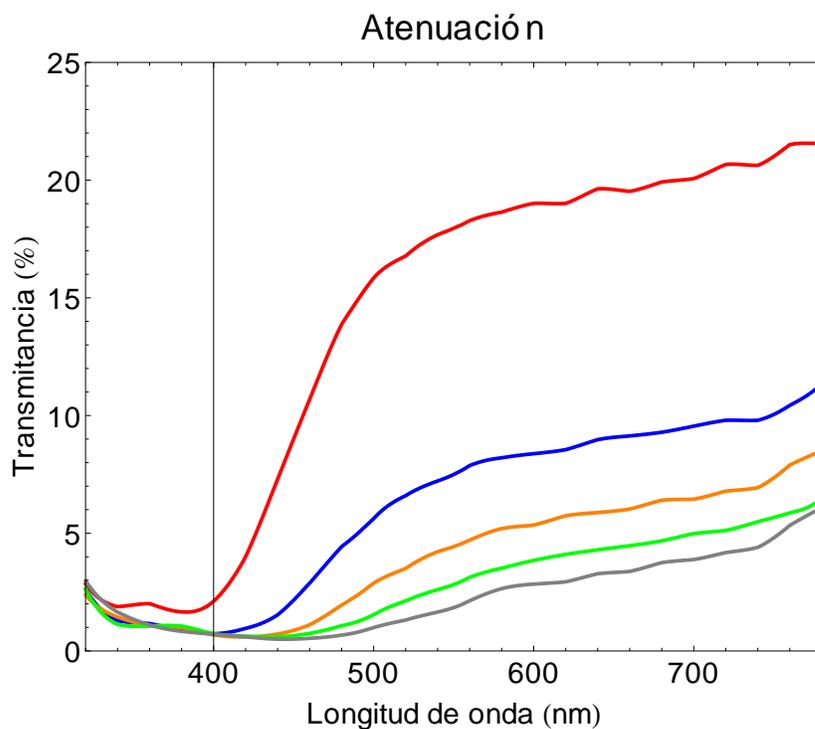


Figura 3.20: Transmisión para distinto número de cutículas en el soporte de medición. Color rojo: 1 cutícula. color azul: 2 cutículas. color anaranjado: 3 cutículas. color verde: 4 cutículas. color gris: 5 cutículas

En el rango de 280nm a 340nm , no hay variaciones de la transmisión con el aumento del espesor óptico, en cambio desde los 400nm si lo hay. Esto indica que la transmisión en el rango UV es filtrada casi por completo por la primera cutícula, y en las siguientes mediciones ya no se tiene intensidad en un rango menor a 340nm que pueda variar con el número de cutículas.

Notar que la intensidad para el rango visible disminuye tendiendo a un valor, como lo hace una función de la forma exponencial. Para asegurarse de esta tendencia, se procede a graficar la transmisión en función del número de cutículas. La figura 3.21 muestra tal curva.

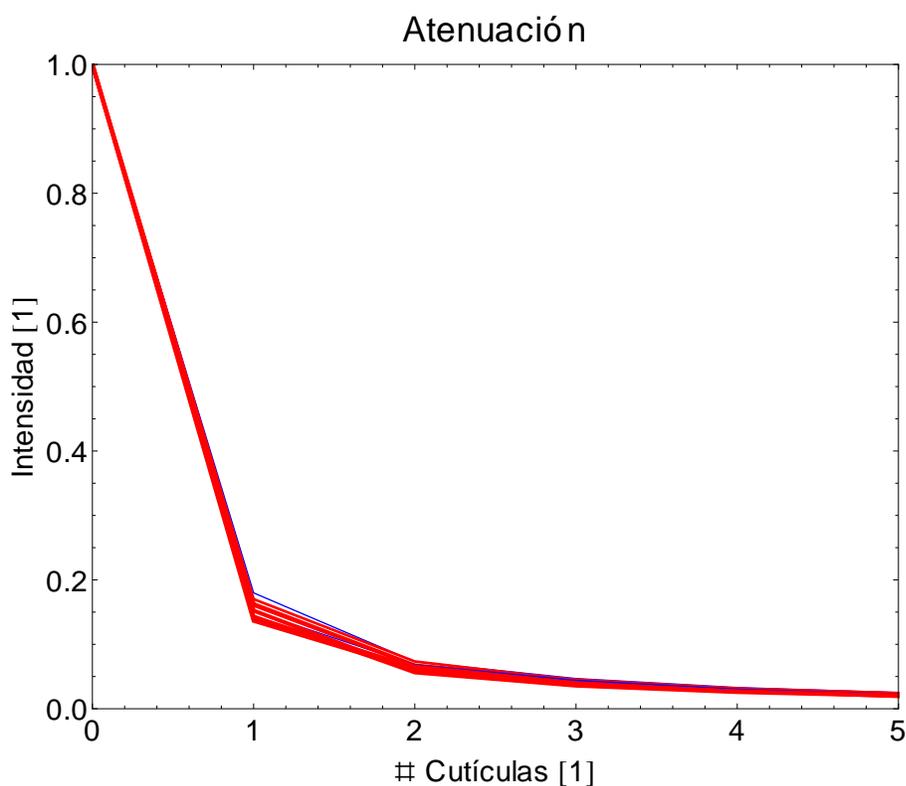


Figura 3.21: Curva de intensidad en función del número de cutículas

La intensidad para cero cutículas, es la intensidad sin muestra, solo ubicando el ojetillo en el soporte de la entrada óptica.

Notar que la intensidad está normalizada, ya que la variable de una función exponencial, no tiene dimensiones, es adimensional.

Al rectificar la curva del gráfico 3.21, aplicando el logaritmo natural a la intensidad, se obtiene la curva de la izquierda de la figura 3.22.

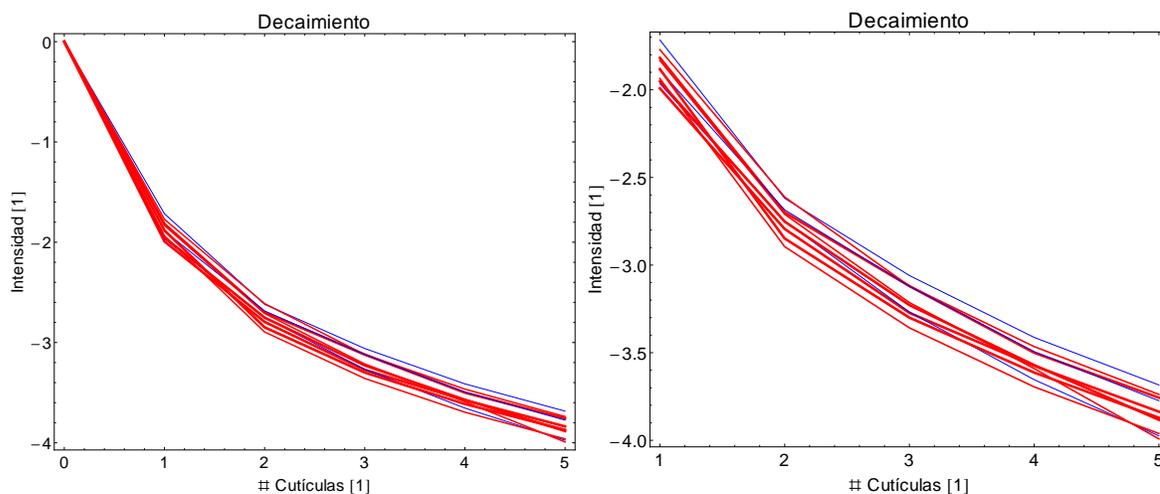


Figura 3.22: Decaimiento cuasi-lineal de la intensidad en función del número de cutículas para aumentar el espesor óptico.

Esta curva no tiende a una recta, el problema recae en la primera parte de la curva, desde 0 a 1 cutícula, ya que la cutícula número 1 actúa como filtro de radiación UV para las siguientes mediciones, porque filtra gran parte de la radiación UV que llega a la muestra (ver figura 3.1). Entonces el espectro medido sin cutícula difiere en la forma del espectro medido con una cutícula, variando la intensidad a lo largo de este, como se observa en el rango UV. Para eliminar esa diferencia en las condiciones iniciales de cada una de las mediciones, se realiza un ajuste lineal desde la cutícula número 1 en adelante, ya que así todas las muestras tienen el mismo espectro de radiación, y se puede determinar como varía la intensidad con el aumento del espesor óptico en ese espectro.

La curva de la derecha de la figura 3.22 ya es mucho más lineal. Con esta curva se realiza el ajuste exponencial y se determina el coeficiente de atenuación para

diferentes dosis de radiación UV-C. Los resultados para el espectro total están en la figura 3.23

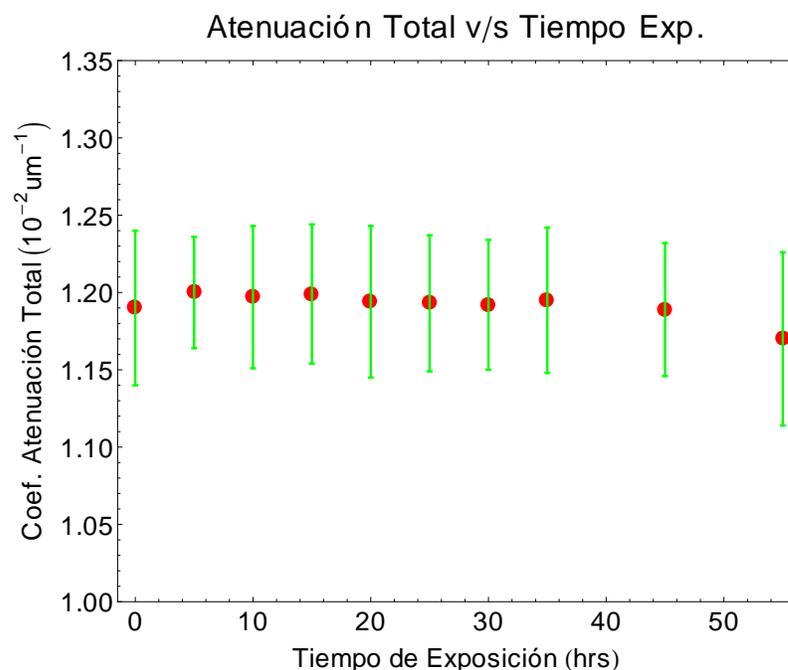


Figura 3.23: Coeficiente de atenuación en función de las horas de exposición dentro de la cámara UV-C

Como se observa, está claro que el efecto en el coeficiente de atenuación total es casi nulo, solo decae levemente este coeficiente cuando se superan las 35 horas de exposición a la radiación UV-C de la cámara. Pero aún así, el valor promedio del coeficiente después de 55 horas está dentro del rango de error de las primeras horas de exposición.

El valor promedio se mantiene en $1,19 \cdot 10^{-2} [\mu\text{m}^{-1}]$

Para asegurarse de que no hay cambio, se gráfica el coeficiente de atenuación por longitud de onda. El resultado se muestra en la figura 3.24.

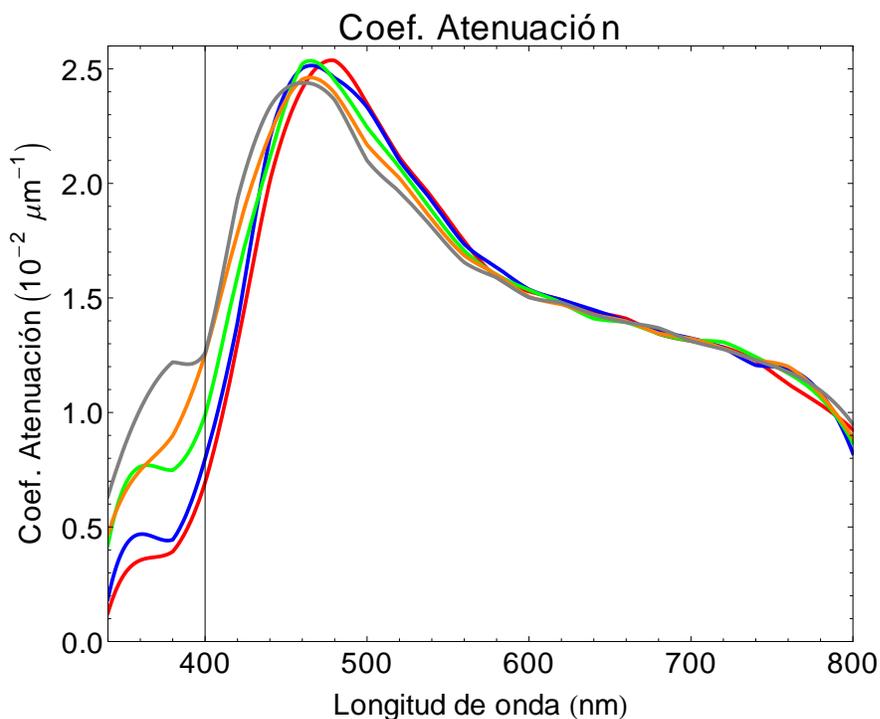


Figura 3.24: Coeficiente de atenuación en función de la longitud de onda, y desplazamiento debido al tiempo de exposición. (curva color rojo:0 horas, azul:10 horas, verde:20 horas, anaranjado:30 horas, gris 45 horas)

Si hay un cambio en el coeficiente de atenuación, y es bastante grande. Al analizar las curvas, se observa para el rango UV-A (320nm-400nm), que el coeficiente de atenuación aumenta considerablemente con el tiempo de exposición a la radiación UV-C, desde aproximadamente $0,25 \cdot 10^{-2} [\mu m^{-1}]$ hasta $0,9 \cdot 10^{-2} [\mu m^{-1}]$. El cambio mayor del coeficiente de atenuación se produce en los 380nm, por lo tanto, se procederá a graficar este coeficiente en función del tiempo de exposición a esa longitud de onda. Además, se observa que desde 400nm a 450nm, el coeficiente de atenuación aumenta también, pero a una menor tasa. Pero a partir de 460nm, y hasta 570nm, el coeficiente de atenuación disminuye en función del tiempo de exposición. Y a partir de 570nm, no se aprecia cambio alguno en el coeficiente de atenuación. Solo decae

su valor en función de la longitud de onda. El máximo valor del coeficiente de atenuación se encuentra entre $480nm$ a $500nm$, dependiendo del tiempo de exposición en la cámara de radiación UV-C.

También se graficará para $420nm$ y $520nm$. Desde los $600nm$ en adelante no se aprecia cambio alguno en estos coeficientes, por lo tanto, no será necesario mostrar esos gráficos.

La figura 3.25 muestra el promedio del coeficiente de atenuación y la desviación estándar de los datos medidos en función del tiempo de exposición.

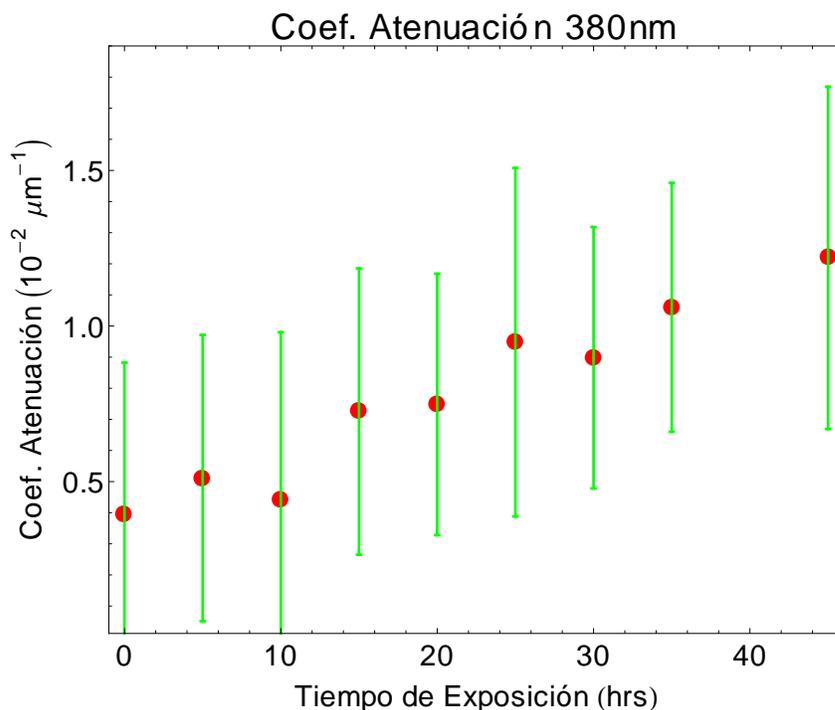


Figura 3.25: Coeficiente de atenuación en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C, para 380nm

Se observa que tiene la tendencia a aumentar el coeficiente de atenuación a medida que aumenta el tiempo de exposición. El problema, es que el error asociado a las mediciones es alto, por lo que, aunque aumente el valor promedio del coeficiente

de atenuación, el error aún se traslapa con el error de la primera medición (0 horas de exposición). Por lo tanto, hay cambio, pero no se puede considerar un cambio absoluto en relación al valor sin irradiar.

La ecuación (12) establece la relación entre el coeficiente de atenuación y el tiempo de exposición.

$$C.A._{380nm}[10^{-2}\mu m^{-1}] = (0,018 \pm 0,201)[10^{-2}\mu m^{-1}/hrs] \cdot x[hrs] + (0,4 \pm 4,9)[10^{-2}\mu m^{-1}] \quad (12)$$

Donde $C.A.$ es el coeficiente de atenuación. con un coeficiente de correlación lineal de $R = 0,974$

Algo similar ocurre en los $420nm$, pero la pendiente de la recta es menor.

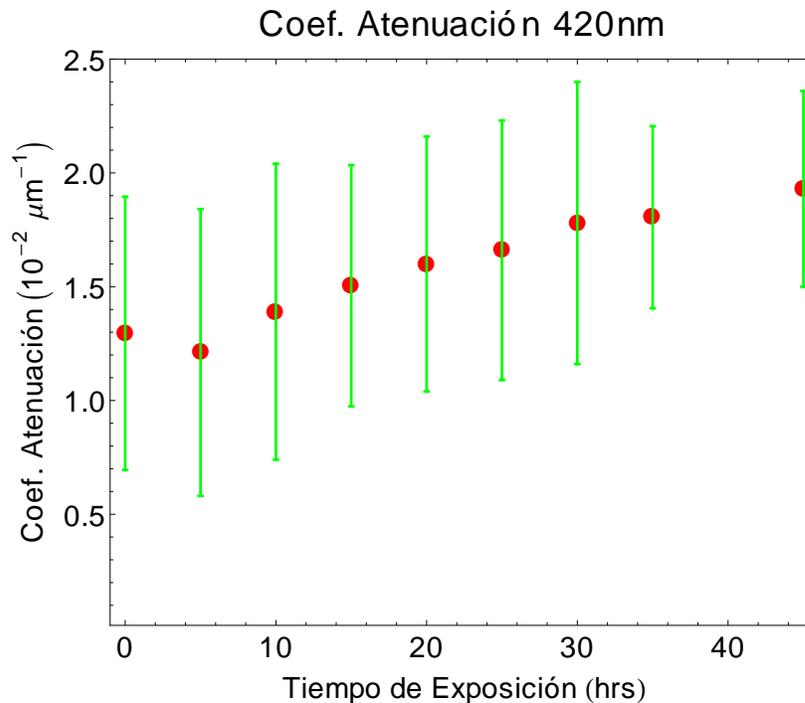


Figura 3.26: Coeficiente de atenuación para 420nm.

Se calcula la ecuación (13), esta entrega la relación entre el coeficiente de atenuación y el tiempo de exposición para $420nm$. El cambio en el promedio es más continuo en comparación a lo que sucede para los $380nm$, no tiene tanta oscilación. Además, existe la tendencia, para el coeficiente de atenuación, de llegar a un valor cercano a $2 [10^{-2}\mu m^{-1}]$. Si se hubiese podido dejar radiando las muestras más tiempo, hasta que se dañaran por completa, se podría determinar que valor alcanza ese coeficiente.

$$C.A._{420nm}[10^{-2}\mu m^{-1}] = (0,016 \pm 0,655)[10^{-2}\mu m^{-1}/hrs] \cdot x[hrs] + (1,24 \pm 16,2)[10^{-2}\mu m^{-1}] \quad (13)$$

con un coeficiente de correlación lineal de $R = 0,977$.

El caso es diferente para el rango desde $460nm$ a $570nm$, ya que la tendencia es a disminuir el coeficiente de atenuación en función del tiempo de exposición.

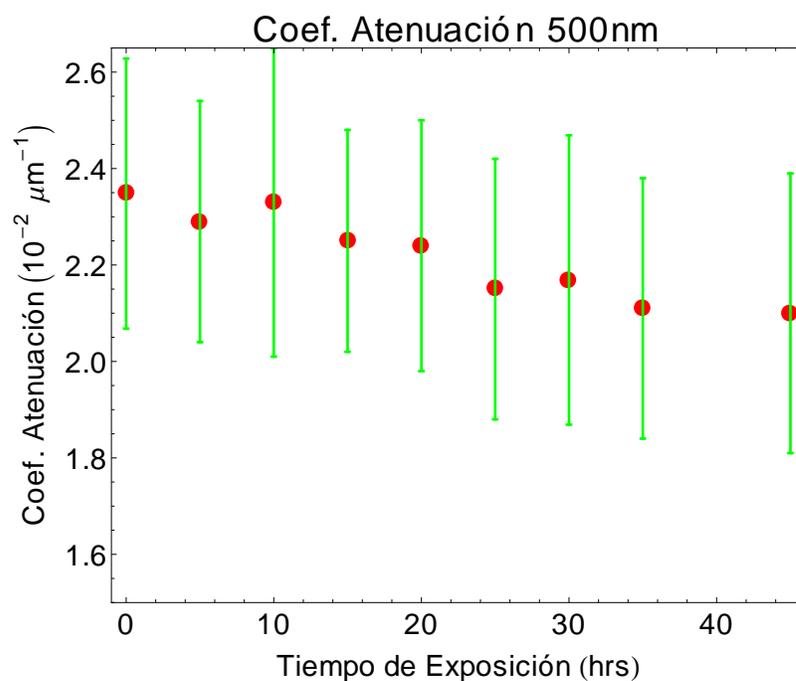


Figura 3.27: Coeficiente de atenuación en función del tiempo de exposición en la cámara UV-C, para una longitud de onda de 500nm

El cambio no es relativamente grande, pero si lo hay, esto indica que la cutícula de limón absorbe más radiación en el rango visible a medida que se aumentan las horas en la cámara de irradiación UV-C. Si se ajusta una recta, en los puntos promedios del coeficiente de atenuación, se obtiene la ecuación (14).

$$C.A._{500nm}[10^{-2}\mu\text{m}^{-1}] = (-0,006\pm 1,238)[10^{-2}\mu\text{m}^{-1}/\text{hrs}] \cdot x[\text{hrs}] + (2,3\pm 30,6)[10^{-2}\mu\text{m}^{-1}] \quad (14)$$

con un coeficiente de correlación lineal de $R = 0,954$ Notar que la disminución en por hora del coeficiente de atenuación es muy bajo, con un valor de $(-0,006 \pm 1,238)[10^{-2}\mu\text{m}^{-1}/\text{hrs}]$.

3.2.2. Cutículas de hojas de limón

Ahora se analiza el caso de las cutículas de hojas de limón. Primero se gráfica el espectro de transmisión en función del número de cutículas y la longitud de onda.

Este gráfico se muestra en la figura (3.28)

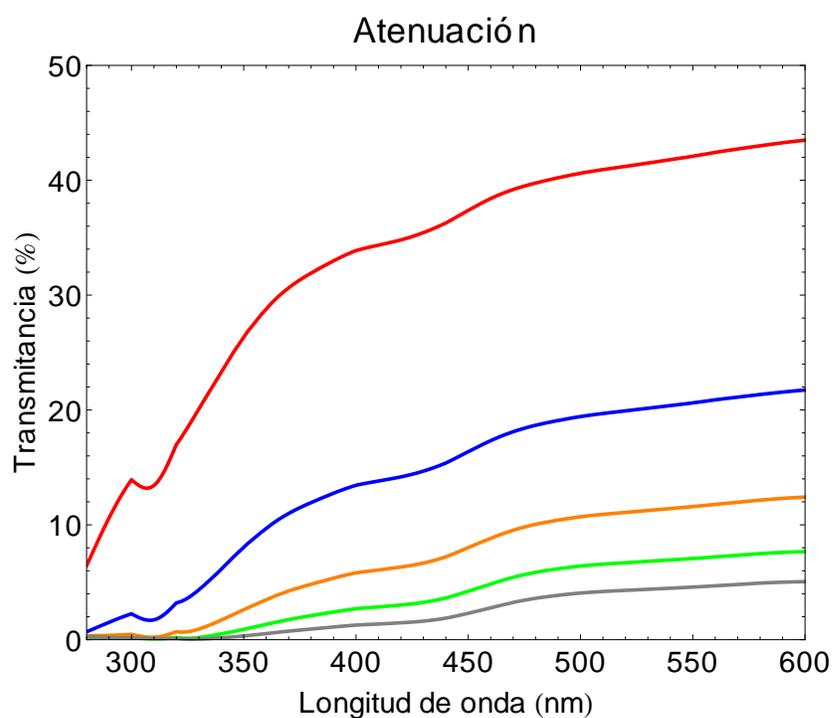


Figura 3.28: Curvas de transmisión en función de la longitud de onda para diferentes espesores de cutículas (aumento en la cantidad de estas sobre el detector).

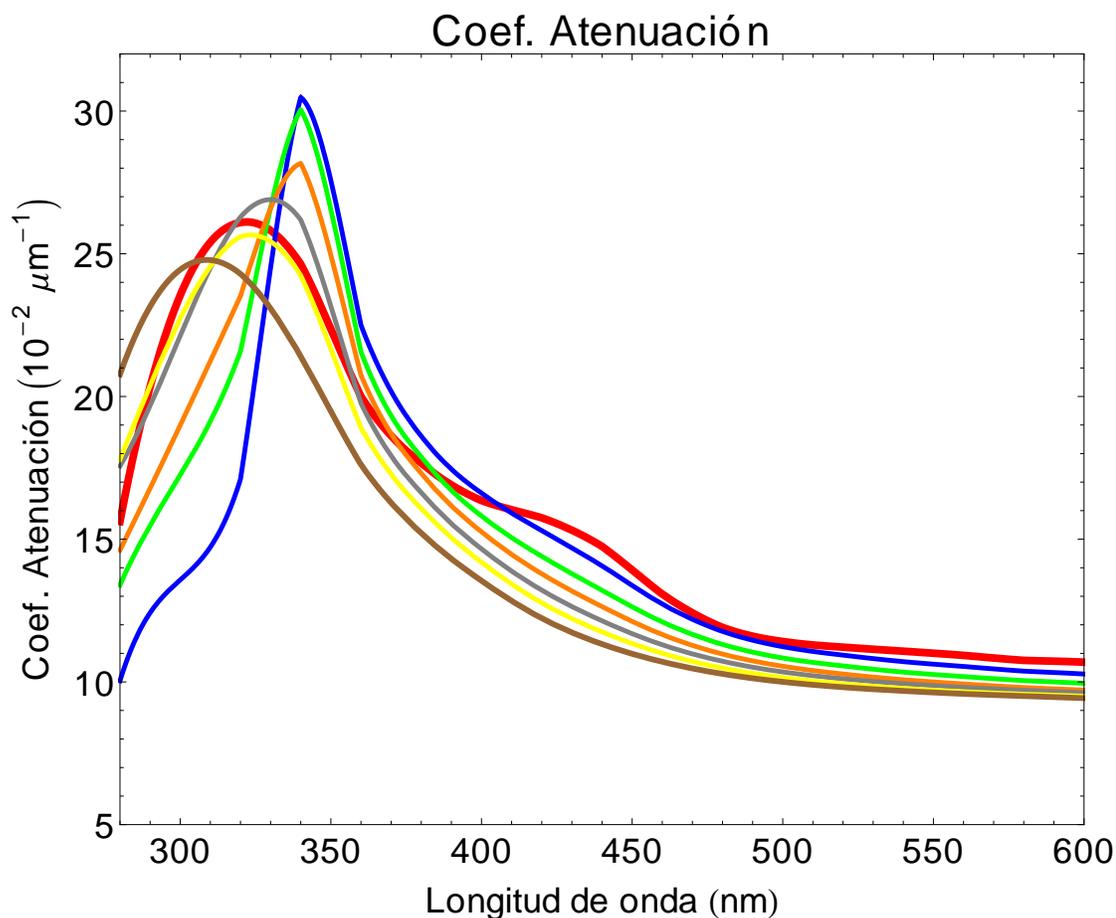


Figura 3.29: Coeficiente de atenuación en función de la longitud de onda y el tiempo de exposición. Curva color rojo: 0 horas de exposición, azul: 10 horas, verde: 20 horas, anaranjado: 30 horas, gris: 40 horas, amarillo: 70 horas

Aquí hay algo muy interesante, ya que la curva inicial es la curva color rojo, y la curva después de 70 horas de irradiar, es la curva color café. Si se sigue la secuencia en el tiempo, observando los colores de las curvas. Primero, la curva coeficiente de atenuación versus longitud de onda, se desplaza hacia la derecha, llegando a la curva de color azul, y aumenta su valor en el máximo de esta. Esto es alrededor de los 320nm . Después de radiar 10 horas más (curva color verde), esta comienza a desplazarse levemente hacia la izquierda, y también disminuye su valor

máximo. 10 horas más de irradiación, hacer que la curva siga desplazándose hacia la izquierda, pero además, aumenta el ancho de banda alrededor del máximo valor del coeficiente de atenuación. Esta tendencia continua hasta sobrepasar la curva inicial de coeficiente de atenuación para 0 horas de irradiación.

Con todos estos cambios, se procede a graficar el coeficiente de atenuación en función del tiempo para tres diferentes longitudes de ondas. $320nm$, $440nm$ y $560nm$. donde ocurren los cambios más significativos.

Para los $320nm$, se obtiene el gráfico de la figura (3.30).

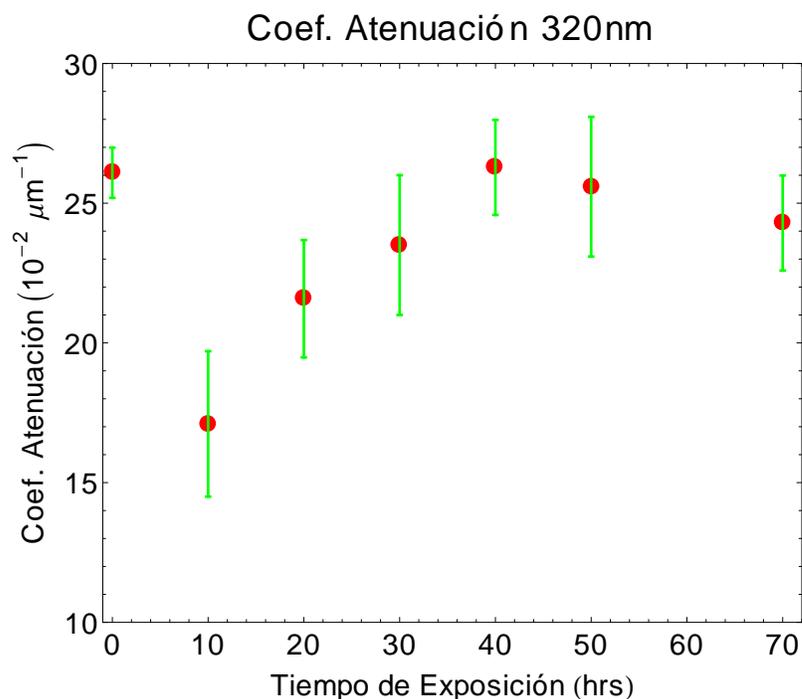


Figura 3.30: Coeficiente de atenuación en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C de la cámara de irradiación para $320nm$

Se observa algo similar a lo que sucede para la transmisión en la cutícula de limón para la misma longitud de onda (figura (3.16)). Donde a medida que se aumenta el tiempo de exposición a la radiación UV-C, la transmitancia disminuye rápidamente,

para luego volver a aumentar ² . Esto es lo que sucede con el coeficiente de atenuación, también disminuye, para que luego de aproximadamente 10 horas, vuelva a aumentar de forma constante, hasta 40 horas de irradiación. La diferencia está que después de ese tiempo, este coeficiente comienza a disminuir, a una menor tasa que el aumento. Esto hasta el momento, no ha sucedido con la otra muestra (tomate).

Se puede decir que la transmisión y atenuación están relacionadas para esta longitud de onda ($320nm$).

Para la longitud de onda $440nm$, el comportamiento del cambio del coeficiente de atenuación, es diferente. (ver figura 3.31)).

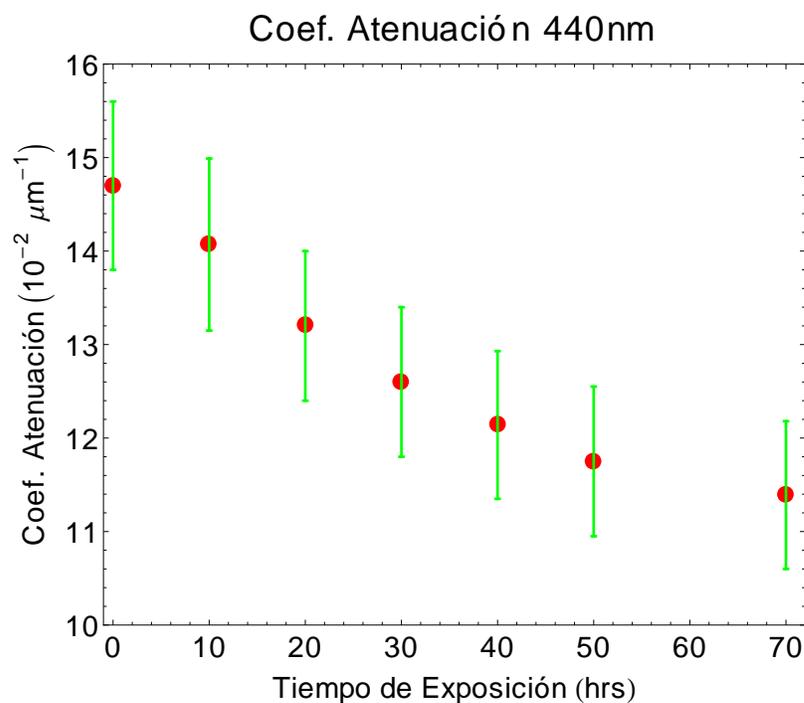


Figura 3.31: Coeficiente de atenuación en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C de la cámara de irradiación para $440nm$

² NO se midieron puntos entre 0 y 10 horas, porque se descubrió esta propiedad al final del experimento, y las muestras ya estaban radiadas.

En este caso, el coeficiente de atenuación disminuye de forma constante hasta las 50 horas de irradiar las muestras, para que después, su pendiente disminuya.

la ecuación de la recta calculada, y a su vez, la tasa de cambio del coeficiente de atenuación en función del tiempo, están mostrados en la ecuación 15.

$$C.A._{440nm}[10^{-2}\mu m^{-1}] = (-0,060\pm 0,004)[10^{-2}\mu m^{-1}/hrs]\cdot x[hrs] + (14,3\pm 0,1)[10^{-2}\mu m^{-1}] \quad (15)$$

La pendiente es la tasa de cambio, se observa, por cada hora que se irradian las muestras, el coeficiente de atenuación disminuye en $(-0,060\pm 0,004)[10^{-2}\mu m^{-1}/hrs]$.

Para $560nm$ pasa algo similar, la figura 3.32 muestra tal gráfica.

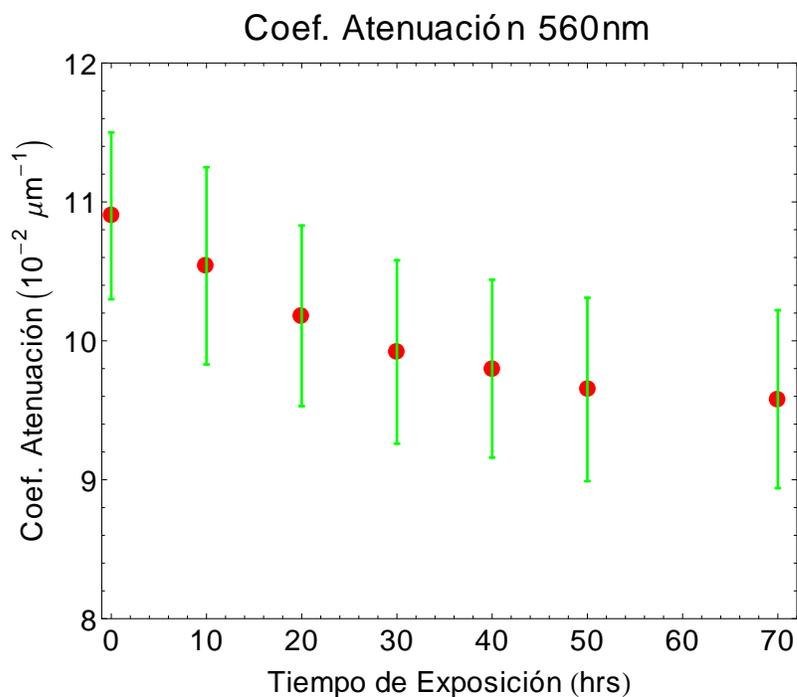


Figura 3.32: Coeficiente de atenuación en función del tiempo de exposición a la radiación UV-C de la cámara de irradiación para 560nm

La tendencia es a disminuir el valor del coeficiente de atenuación, tendiendo en este caso a un valor cercano a $10[10^{-2}\mu m^{-1}]$. Además, se puede determinar la ecuación de la recta que pasa por estos puntos hasta 50 horas. Para así comparar la tasa de disminución del coeficiente, que según la figura 3.29, este debería ser menor en comparación con los $440nm$.

La ecuación es:

$$C.A._{560nm}[10^{-2}\mu m^{-1}] = (-0,025\pm 0,003)[10^{-2}\mu m^{-1}/hrs]\cdot x[hrs] + (10,79\pm 0,08)[10^{-2}\mu m^{-1}]$$

(16)

Como se dijo, se tiene una pendiente menor a los $-0,06$, que fue lo obtenido para $440nm$.

3.3. Reflección

Para determinar la reflexión de las cutículas o cualquier muestra, es necesaria una esfera de integración, instrumento capaz de determinar cuanta luz es reflejada por una superficie, la que lamentablemente no alcanzó a llegar antes de la presentación de esta tesis, por lo quedará pendiente determinar este valor, y así poder determinar también la absorción.

3.4. Comparación entre frutas y hojas

De todos los resultados obtenidos en el análisis anterior, se procede a comparar los resultados entre las cutículas de frutas y hojas, y asociar cada una de esas diferentes características, a lo que sucede en los procesos biológicos en general.

Primero se comparan los espectros de transmisión de frutas (cáscaras de tomate) y hojas (hojas de limón).

La cutícula de cáscara de tomate filtra gran parte de la radiación UV-A, solo transmitiendo alrededor del 1,2% de tal radiación. En cambio, la cutícula de hoja de limón, entre los $300nm$ y $400nm$ deja pasar en total, alrededor del 30% de la radiación UV-A recibida.

Lo que sucede en la hoja, es porque en el proceso de fotosíntesis, se necesita de radiación. La clorofila absorbe luz a longitudes de onda de $630nm$ y $660nm$, que está presente mayoritariamente en las hojas de las plantas. Además hay otro componente, los carotenoides, que son pigmentos orgánicos que se encuentran de forma natural en plantas. El carotenoide licopeno confiere su color rojo al tomate.[13] Este absorbe luz a $440nm$.

Además, la cutícula de tomate solo deja pasar el 20% de la luz incidente desde los $500nm$ en adelante. En cambio, la cutícula de hoja de limón deja pasar el 40% de la luz incidente a partir de los $500nm$.

Observando como cambia la transmitancia en función del tiempo de exposición, se tiene para los $320nm$, que la cutícula de tomate, solo aumenta su valor de trans-

misión a partir de las 10 horas, pero los rangos de error asociados a los promedios obtenidos, hacen que las variaciones no sean significativas. Si se hubiesen radiado las muestras más tiempo, es posible que la transmitancia siguiera aumentando hasta sobrepasar el error de la primera medición, y así obtener un valor de cambio significativo.

En la cutícula de limón, hay una gran diferencia. Dentro de la primera hora de irradiación dentro de la cámara, se observa un cambio significativo. Los errores en las mediciones son menores a los cambios en el promedio de transmisión. Además, la transmisión disminuye muy rápido, ya que en los primeros 15 minutos, este alcanza una variación de 4,5 % de transmisión. Después de una hora, la transmisión cambia en un 10 %. Luego alcanza su mínimo, alrededor de 5 horas de irradiación, con un valor de 12,5 % de variación con respecto al valor inicial.

Comparando la transmisión a $380nm$, en la fruta hay un cambio constante, pero a la vez también aumenta el error asociado a la distribución. Este aumento del error puede ser causado, porque no todas las muestras de cutículas de cáscaras de tomate eran exactamente del mismo color, lo que puede influenciar en el tiempo que necesitan para dañarse de la misma forma, al tener más pigmentos en la membrana. Además, este aumento si es significativo, ya que el valor promedio, sobrepasa la barra de error de la medición sin irradiar. En la hoja, se observa para esta longitud de onda, el mismo cambio en la transmisión para los $320nm$, pero la variación es menor, solo alcanzando un máximo de 2,5 %.

Para las demás longitudes de onda, se ven pequeñas variaciones, pero el efecto de la hoja de limón se sigue repitiendo a menor intensidad, hasta que finalmente, se mantiene en el rango de error de las mediciones.

Ahora, al comparar los espectros de atenuación de frutas y hojas, se encuentran más sorpresas. Para empezar, el valor del coeficiente de atenuación para la fruta a $480nm$, donde se encuentra el máximo de atenuación, es 4 veces menor, que el coeficiente de atenuación para la hoja de limón, esto indica que para atenuar la misma cantidad de irradiación, la membrana de hojas debe ser 4 veces menor a la de fruta. Esto sucede, ya que la membrana de hoja mide $5\mu m$ y la de fruta $30\mu m$. Esto es 6 veces más.

También se puede observar, que los máximos de atenuación de los espectros, están a diferentes longitudes de onda. Para la fruta está en $480nm$, y para la hoja entre $330nm$ y $350nm$, ya que el máximo para hoja se desplaza dependiendo del tiempo de exposición a la radiación UV-C. Esto no sucede en la fruta.

Los dos tipos de cutículas coinciden que los mayores efectos son producidos en el rango UV. Ya que en el rango visible, solo cambia levemente en comparación con el UV.

Otra gran diferencia, es que el coeficiente de atenuación para la hoja, primero el máximo de atenuación se desplaza hacia longitudes de onda mayores a la inicial (sin radiar), y luego se devuelve hacia los valores inicial, para después continuar disminuyendo. En cambio, en la cutícula de fruta, el coeficiente de atenuación aumenta.

Con el índice UV de la cámara de irradiación, que tiene un valor igual a 100, se compara con el valor típico para un día de verano. El máximo valor de índice UV para la zona central del país es 11. Además hay 8 horas de luz en promedio, y utilizando una función cosenosoidal, se obtiene un valor promedio diario de índice UV igual a 5,5. Esto indica que el daño producido por la cámara de irradiación es 18 veces mayor al causado en un día normal de verano.

Un cambio significativo para la transmisión de la cutícula de tomate sucede a $380nm$ y se produce después de 20 horas de exposición a la radiación UV-C. Esto implica que en condiciones normales para un día de verano, la cutícula se dañará después de 360 horas. Esto es igual a 45 días de exposición. En 45 días la cutícula se regenera, por lo tanto, los valores de radiación diarios no afectan a la cutícula de tomate.

En cambio, para la cutícula de hoja de limón, los efectos son diferentes. Un cambio significativo para longitudes de onda con valores entre $300nm - 320nm$, se produce solo después de 15 minutos de exposición. Esto es igual a la exposición que se produce después de 4.5 horas de exposición a la radiación Uv en condiciones normales. Por lo tanto, este tiempo si afecta a la cutícula en sus propiedades. Además, el efecto producido no aumenta la cantidad de radiación que atraviesa la cutícula, sino, que por el contrario, disminuye la intensidad de radiación que la traspasa. O sea, se puede decir que se hace más fuerte a medida que aumenta la radiación UV. Este resultado es muy importante, ya que conociendo las causas de este efecto, y

por ende, los componentes que producen este comportamiento en la membrana, se podría desarrollar un filtro UV-B diferente a los que hasta ahora se utilizan.

Cambiando a la atenuación, un cambio significativo para la cáscara de tomate se produce después de 20 horas de exposición dentro de la cámara de irradiación. En condiciones normales de índice UV, esto es después de 45 días de exposición. Por lo tanto, las condiciones ambientales normales no producen cambios en la atenuación.

Para la cutícula de limón, se observa en la curva de atenuación versus tiempo, una curva muy similar a la de transmisión, pero no se obtienen los puntos dentro de las primeras 10 horas, por el tiempo necesario para realizar las mediciones, ya que el efecto se observó después de radiadas las muestras 50 horas, y para volver a armar las 50 muestras y medir se necesita una semana extra, la que no estaba disponible. Se puede asumir que el efecto es el mismo, ya que la atenuación también disminuye después de 10 horas, y luego comienza a aumentar.

Capítulo 3: Conclusiones

De las mediciones de las propiedades ópticas (transmisión y atenuación) en las membranas de biopolímeros. Específicamente, en las cutículas de cáscaras de tomate y las cutículas de hojas de limón. Se obtiene lo siguiente:

La transmitancia y el coeficiente de atenuación de las cutículas de frutas y de hojas son significativamente diferentes en el rango UV. Las cutículas de hojas dejan pasar más radiación UV (250-400nm) que las cutículas de frutas. En el rango visible (a partir de los 400nm) las diferencias son menos significativas.

Se determina que la cutícula de tomate transmite el 20 % de la radiación visible que incide sobre ella. En cambio, la cutícula de hoja de limón deja pasar el 40 % de la radiación visible.

En el rango UV se determina que la cutícula de cáscara de tomate funciona como filtro UV, ya que solo transmite el 1,2 % de la radiación UV-A que incide sobre esta. Y filtra el 100 % de la radiación UV-B. En cambio, la cutícula de hoja de limón transmite

cerca del 30 % de la radiación UV que incide sobre esta. Por lo tanto, no se podría utilizar como filtro UV.

La transmitancia y el coeficiente de atenuación de las cutículas de hojas y frutas cambiaron significativamente al ser sometidas a la radiación UV. Particularmente en el rango UV, la transmitancia de cutículas de frutas aumentó progresivamente con la radiación UV (a mayor dosis, mayor transmitancia en el UV). En el caso de las cutículas de hojas, la transmitancia disminuyó acentuadamente con la radiación UV, pero solo durante las primeras 2-4 horas de irradiación. Después de recibir dosis relativamente bajas de radiación UV, la transmitancia de cutículas de frutas aumentó progresivamente con la radiación UV.

En la cutícula de hoja de limón, en parte del rango UV, la disminución de la transmisión tiene la forma de una función exponencial, el valor obtenido para los 320nm es $T_{L_{320}}[\%] = 2,74[\%] + 11,95 \cdot \exp^{-x[hrs^{-1}]}[\%]$.

Luego, cuando alcanza el valor mínimo, la transmisión comienza a aumentar de forma lineal, siguiendo la ecuación: $T_{L_{320}}[\%] = (0,33 \pm 0,03)[\%hrs^{-1}] \cdot x[hrs] + (0,04 \pm 1,2)[\%]$. Esta indica que por cada hora de exposición a la radiación UV-C, la transmisión aumenta en $(0,33 \pm 0,03)[\%hrs^{-1}]$

El efecto en la transmisión producido en las hojas de limón, si es significativo, ya que con solo 4.5 horas de exposición a la radiación UV, con un índice igual a 5, si se producen cambios en la transmisión. Pero estos cambios, en realidad, hacen que la cutícula filtre mayor cantidad de radiación UV a medida que se radia, esto implica, que la cutícula se hace más resistente a la radiación.

Se puede concluir que los efectos en la transmisión, al exponer las muestras a la radiación UV , no son significativos con las condiciones normales de radiación UV que se registran anualmente en la superficie de la Tierra.

El único problema de todos los resultados obtenidos, es que la radiación UV-C, no llega a la superficie de la Tierra, por lo tanto, los efectos producidos por la radiación UV-B y UV-A, a mayores intensidades, puede ser diferente a la producida por la UV-C a menor intensidad.

Por lo tanto, como perspectivas de continuación del estudio de las propiedades ópticas de biopolímeros, se proponen:

1. Repetir el experimento desarrollado a lo largo de la tesis, pero radiando las muestras con una cámara UV que emita en el rango **UV-A** y **UV-B**, que son las radiaciones que hay en condiciones normales sobre la superficie.
2. Medir el cambio en la atenuación para las primeras 10 horas de exposición con un índice UV igual a 100, y ver si se relaciona el cambio en la transmisión con el cambio en la atenuación. Si es así, obtener tal relación.
3. Determinar que elemento que compone la cutícula de hoja de limón, actúa en la disminución de la transmisión UV. Y sus posibles usos en la fabricación de filtros UV.
4. Medir la reflexión de las cutículas por medio de una esfera de integración y además obtener la absorción, conociendo la transmisión y reflexión sobre ellas.

Bibliografía

- [1] TAFOLLA-ARELLANO J. Composition, physiology and biosynthesis of plant cuticle, 21 de noviembre del 2013, 6 pp.
- [2] SOLOVCHENKO A. SCHMITZ-EIBERGER, Significance of skin for UV-B protection in apple fruits, Journal of experimental botany, Vol.54, No.389,1978pp.
- [3] G.DE PREE, 2004, Physics made simple,Eds. Broadway Books, 83-84 p.
- [4] R.R.ROGERS, 2003, A Short Course in Cloud Physics, eds. Reverté, 1 p.
- [5] ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY, 6/5/2010, La radiación ultravioleta, (Disponible en :http://www.epa.gov/sunwise/es/radiacion_uv.html) Consultado el: 28 de Mayo del 2014)
- [6] RICO F., LÓPEZ R.,JAIMES E.Daños a la salud por contaminación atmosférica, Ed.Universidad Autónoma del Estado de México, 74 p.
- [7] SIERRA I.,Perez D., Análisis Instrumental,Netbiblo S.L., 38 p.

- [8] GERHARDT I., Scattering & Absorption of light by a single molecule under a subwavelength aperture, 2006, 16p.
- [9] PALMERI L., BARAUSSE A., JØRGERSEN S.E., 2014, Ecological Processes Handbook, CRC Press, 118 p.
- [10] SALAZAR N., Estudiante encargada de la aislación de las cutículas, 2013, Depart. de física, Univ. de Santiago de Chile.
- [11] Enciclopedia Libre Universal en Español
(Disponible en [://enciclopedia.us.es/index.php/Abaxial](http://enciclopedia.us.es/index.php/Abaxial))
Consultado el : 02 de Julio de 2014
- [12] MUÑOZ JORGE, 2013, Estudio del efecto de la radiación UV en la permeabilidad de cutículas de hojas de limón. Tesis Ing. Física, Santiago, Univ. de Santiago de Chile, Fac. Ciencia, 25-26 p.
- [13] Wikipedia
(Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Fotos%C3%ADntesis>)
Consultado el: 22 de Agosto de 2014