

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

**Estudio del efecto de la radiación UV sobre las
propiedades mecánicas de la cutícula de tomate**

NOMBRE

Víctor M. Duarte Olave

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

**Estudio del efecto de la radiación UV sobre las
propiedades mecánicas de la cutícula de tomate**

Víctor M. Duarte Olave

Profesor Guía: Roberto Bernal V.

Profesores Comisión: Roberto Bernal V.
Francisco Melo H.
Raúl R. Cordero

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE INGENIERO FÍSICO

SANTIAGO DE CHILE

Octubre 2013

“Estudio del efecto de la radiación UV sobre las propiedades mecánicas
de la cutícula de tomate”

Trabajo de Graduación presentado a la Facultad de Ciencia, en cumplimiento parcial de los requerimientos exigidos para optar al grado de Ingeniero Físico.

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE

SANTIAGO DE CHILE

Abril 2014

“Estudio del efecto de la radiación UV sobre las propiedades mecánicas
de la cutícula de tomate”

Víctor M. Duarte Olave

Este trabajo de Graduación fue preparado bajo la supervisión del profesor
guía Roberto Bernal V., del Departamento de Física y ha sido aprobado
por los miembros de la comisión calificadora, del candidato Francisco
Melo H., Raúl R. Cordero.

.....

.....

.....

.....

Director

Agradecimientos

TEXTO

Resumen

La presente tesis consiste en un estudio experimental de la influencia que tiene la radiación Ultra Violeta (UV) sobre las propiedades mecánicas de la cutícula del tomate, en general y en su módulo elástico (Módulo de Young) en particular, mediante ensayos de tracción destructivos y no destructivos de muestras de cutícula. Los ataques con radiación UV se efectuaron mediante tres métodos (con microscopio de fluorescencia, con dispositivo UVO-Cleaner y con LED-UV), todos detallados en el capítulo 4 "Métodos". Los ensayos de tracción se hicieron sobre probetas normalizadas de cutículas de tomate y en dos condiciones de humedad (mojada o seca) y tres condiciones de radiación (irradiada completa o globalmente, irradiada localmente y sin irradiar). A partir de las curvas obtenidas en estos ensayos, se calificó el módulo elástico de cada caso y se compararon los resultados, llegando a la conclusión de que en principio la dispersión de los datos no nos permitió la resolución suficiente para cuantificar un cambio en el módulo de Young, sin embargo, al realizar ensayos no destructivos sobre una misma muestra, disminuye considerablemente la dispersión y se obtiene una resolución suficiente para lograr un cambio de alrededor del 3% con una dosis de 13,8 [J].

Índice general

1. Introducción	11
2. La Cutícula Vegetal	13
2.1. Ceras Cuticulares	15
2.2. Cutín	16
2.3. Revisión bibliográfica sobre las propiedades físicas de la Cutícula Vegetal	16
2.3.1. Evolución de la Cutícula vegetal	17
2.3.2. Principales Propiedades Físicas	17
3. Ensayo de Tracción	20
3.1. Deformación Elástica	22
3.1.1. Comportamiento del Esfuerzo-Deformación	22
4. Métodos experimentales	25
4.1. Montaje	25
4.2. Aislamiento de la cutícula del tomate	25
4.3. Corte de probetas para tracción	27
4.4. Irradiación UV	28
4.4.1. Irradiación global con UVO-Cleaner®	28
4.4.2. Irradiación local con lampara de Hg en microscopio	29
4.4.3. Irradiación con UV-LED Thorlabs®	30
4.5. Ensayo de tracción	31
5. Resultados	34

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	7
6. Discusión y Conclusión	48
6.1. Conclusión	49
6.2. Perspectivas	49
A. Elasticidad	51
A.1. Tensor de deformaciones	51
A.2. Tensor de tensiones	53
A.3. Deformaciones longitudinales de placas	55
B. Especificaciones Técnicas del LED341W UV-Top de Thorlabs	56

Índice de figuras

1.1. Tomate con grieta debido a un cambio en las propiedades mecánicas de la cutícula, con efectos visibles y repercusiones en la demanda del producto.	12
2.1. Morfología de la cutícula	14
2.2. Esquema de las regiones de absorción de la mayoría de los componentes implicados en las propiedades de absorción electrónica de la superficie vegetal	18
3.1. Esquema ilustrativo de un ensayo de tracción. Las líneas segmentadas representan la forma antes de la deformación; las líneas continuas, después de la deformación.	21
3.2. Esquema de esfuerzo-deformación que muestra un comportamiento elástico no lineal, además se determina el módulo de Young mediante un ajuste en el régimen lineal y de manera diferencial para el caso no lineal. . . .	23
4.1. Esquema del montaje experimental: (a) En modo irradiación, que consta con un LED-UV, un arreglo óptico de silica para concentración de la luz y usa la maquina de tracción como soporte de la muestra. (b) En modo ensayo de tracción y adquisición de imágenes donde se incluye una cámara y un arreglo óptico de microscopio.	26
4.2. Microscopías (10X) de una muestra de cutícula de tomate - A: Corte hecho con bisturí y plantilla. - B: Corte hecho con maquina de grabado y corte con láser	28
4.3. Derecha: muestra la maquina de radiación UVO-Cleaner®42. Izquierda: Se muestra las probetas de cutícula dispuestas para la irradiación . . .	29

4.4. Ataque con radiación UV a probeta con lampara de Hg para fluorescencia - Retro-microscopio Olympus®IX-81	30
4.5. 1. Generador de pulsos (1[ms], ciclo de trabajo de 1 %); 2. T-Cube Thorlabs®; 3. UV-LED UVTOP con ventana en montura S1LEDM Thorlabs®	31
5.1. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de todos los ensayos de tracción realizados partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset.	35
5.2. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[MPa]$ de la muestra CM013, donde se muestra las distintas etapas de deformación de una celda de la cutícula (a) y la diferencia de cada etapa con la primera (b).	36
5.3. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas sin irradiar, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset. El módulo elástico promedio es de $(1,4 \pm 0,5) \times 10^8 [Pa]$	37
5.4. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas y mojadas, irradiadas completa y homogéneamente, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset. El módulo elástico promedio para las muestras secas es de $(2,4 \pm 1,3) \times 10^8 [Pa]$	38
5.5. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas irradiadas localmente, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset. El módulo elástico promedio es $(2,8 \pm 0,7) \times 10^8 [Pa]$	39
5.6. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas perforadas localmente, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset. El módulo elástico promedio es $(2,1 \pm 1,4) \times 10^8 [Pa]$	40
5.7. Gráfico de esfuerzo-deformación de cutículas irradiadas globalmente y cutículas sin irradiar	41

5.8. Gráfico del campo de deformación de una cutícula irradiada localmente, donde se muestra la ubicación del área de ataque o 'spot' y el sentido de las fuerzas de tracción, se puede notar claramente una deformación anómala en la región de ataque.	42
5.9. Se puede observar en este gráfico los módulos elásticos promedio con su error de los ensayos mostrados anteriormente y clasificados de la manera ya mencionada, de izquierda a derecha: Cutículas mojadas (M) sin irradiar ($E = (1,4 \pm 0,5) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas mojadas (M) irradiadas completamente ($E = (1,3 \pm 0,4) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) sin irradiar ($E = (2,7 \pm 1,5) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) irradiadas completamente ($E = (2,4 \pm 1,3) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) irradiadas localmente ($E = (2,8 \pm 0,7) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) perforadas ($E = (2,1 \pm 1,4) \times 10^8 [Pa]$).	44
5.10. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los 10 ensayos de tracción realizados a una cutículas seca sin irradiar.	45
5.11. Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los 10 ensayos de tracción realizados a una cutículas seca irradiada durante 48 horas con una longitud de onda de 341[nm].	46
5.12. Gráfico de comparación del módulo elástico de la probeta CM040 sin irradiar e irradiada.	47
A.1. Componentes del tensor de tensiones, relacionando la geometría con la notación establecida. Se muestra a lo largo del eje y los elementos σ_{yx} , σ_{yy} y σ_{yz} del tensor	55
B.1. Gráfico del espectro de emisión del LED341W	57

Capítulo 1

Introducción

En la presente tesis se estudió el efecto que causa la exposición a la radiación ultra violeta (UV) cercana sobre las propiedades mecánicas de la cutícula del tomate (*solanum lycopersicum*). La motivación de este estudio se encuentra en el contexto del proyecto *Anillo 95* que pretende estudiar, para así mejorar ciertas propiedades de los productos agrícolas. Se espera que la exposición a la radiación UV cambie las propiedades mecánicas de la cáscara del tomate, haciendo que sea más frágil y aumentando así la probabilidad de ruptura de ésta, permitiendo a su vez, la pérdida desmedida de agua y la penetración de agentes patógenos a la fruta. Además, el hecho de que exista un debilitamiento de la cáscara en etapas donde el tomate aún está en crecimiento, conlleva a deformaciones de éste, que a pesar de no perder su integridad, si afecta su valor comercial, por el hecho de que el consumidor final prefiere un tomate de forma regular a un tomate deformado.

Para el estudio, se decidió medir el módulo elástico de la cutícula del tomate como parámetro de cuantificación y determinación de sus propiedades mecánicas. Para esto se realizaron ensayos de tracción de probetas normalizadas de cutículas de tomate con una mini máquina de tracción, y en ocasiones, se capturó un fotograma asociado al ensayo, con un arreglo de microscopio y una cámara, en la parte central de la muestra, para así determinar su campo de deformación mediante un algoritmo de procesamiento de imágenes. Previamente, la cutícula del tomate fue aislada por medio de un proceso enzimático y cortada en forma de probeta normalizada con un dispositivo láser.

Con los procedimientos anteriormente descritos se compararon los resultados obtenidos del módulo de Young de las cutículas irradiadas con UV y las no irradiadas.

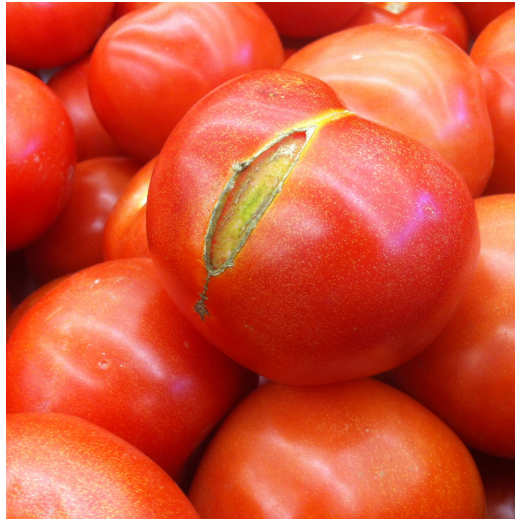


Figura 1.1: Tomate con grieta debido a un cambio en las propiedades mecánicas de la cutícula, con efectos visibles y repercusiones en la demanda del producto.

A demás de decidió estudiar el efecto que causaba la humedad en las mismas propiedades, efectuando ensayos de tracción sobre cutículas secas y sobre cutículas mojadas, ya que se ha reportado que el cambio en su módulo elástico es importante, por lo que finalmente se puede comparar el efecto de la radiación con el efecto de la humedad.

Una vez dicho lo anterior, se considera que los alcances de esta tesis son:

- Se desarrolló un método experimental para determinar cuantitativamente los efectos que causa la exposición a la radiación UV, tanto local como globalmente, sobre el módulo elástico de la cutícula del tomate (*solanum lycopersicum*)
- Se encontró una explicación consistente sobre los efectos que se observan, para esto se estudiaron los aspectos químicos, físicos y morfológicos de la cutícula.
- Se plantearon perspectivas de estudios futuros, estableciendo directrices y cuestiones que permitan desarrollar soluciones a problemas que puedan acarrear los efectos de la radiación UV sobre la cáscara del tomate.

Capítulo 2

La Cutícula Vegetal

La estructura extra-celular que cubre la mayoría de las células epidérmicas de las partes aéreas de las plantas, hojas, frutas y tallos no leñosos, es conocida como cutícula vegetal. Esta estructura consiste en una membrana continua de lípidos solubles y polimerizados. Las plantas vasculares se han protegido por esta compleja mezcla de moléculas y biopolímeros desde que se establecieron en lugares de suelo seco hace aproximadamente 400 millones de años. La estructura y composición de la cutícula varía ampliamente dependiendo del tipo de planta, órgano y etapas de crecimiento, sin embargo, siempre está compuesta de una matriz de cután embebida en ceras (en el caso intracuticular) o bien por una matriz de cután con ceras depositadas en su superficie (caso epicuticular). Además, puede haber presencia de residuos de polisacáridos de la pared celular y pequeñas cantidades de aminoácidos. Basados en sus constituyentes, la cutícula puede ser definida como un poliéster hidrofóbico, no reactivo con ceras asociadas a él.

Se producen grandes cantidades de material cuticular, tanto de forma natural, como agrícola: entre 180 a 1500[*kg*] por hectaira, considerando que el peso de la cutícula aislada varia entre 2000[$\mu\text{g}/\text{cm}^2$] (cutícula de frutos) a 450 – 800[$\mu\text{g}/\text{cm}^2$] (cutícula de hojas). Aún cuando la morfología relativa a la cutícula sigue en discusión, la mayoría de los investigadores concuerdan que ésta es esencialmente una estructura de estratos. En una sección transversal, la cutícula parece un manto de paredes celulares de las células epidérmicas exteriores. En algunas especies, se estratifica material a base de pectina a partir de la lamina media, entre la pared celular epidérmica y la membrana cuticular (CM por sus siglas en inglés). Esta ultima capa puede ser aislada química o

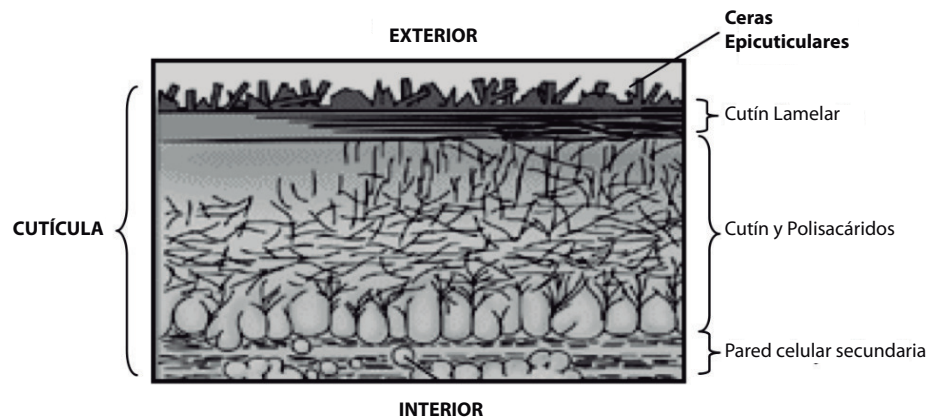


Figura 2.1: Morfología de la cutícula

enzimáticamente permitiendo la obtención de muestras. Respecto a la nomenclatura, yendo desde la capa más interior a la más exterior, la cutícula consiste en:

- Cutícula secundaria: Capa cuticular o cutinizada que contiene paredes celulares y polisacáridos.
- Cutícula Primaria: Cutícula, propiamente tal, o capa cuticularizada con ceras embebidas y capa de cera epicuticular.

Una mezcla especial de propiedades físicas, químicas, mecánicas y morfológicas, dan a la cutícula vegetal una característica de un biopolímero único y complejo. Desde el punto de vista fisiológico, la función principal de la cutícula, es el rol de regular la pérdida de agua de la planta. Sin embargo, de un punto de vista más general, este rol en la regulación de la pérdida de agua está acompañado por otras importantes funciones: la cutícula limita la pérdida de sustancias de los tejidos internos de la planta y también protege a la planta contra agresiones físicas, químicas y biológicas. En este sentido, la cutícula ha sido bien caracterizada en su rol de barrera permeable al intercambio de gases, como un ente de sorción lipofílico y protector contra daños mecánicos, por radiación ultra violeta y patógenos.

2.1. Ceras Cuticulares

Cera cuticular, es un término general que se usa para describir mezclas de series homologas de cadenas de hidrocarburos alifáticos ¹ como alcanos, alcoholes, aldehidos, acidos grasos y ésteres, en adición de variadas cantidades de componentes ciclicos como triterpenoides y derivados de acido hidroxicinámico. La principal función de las ceras cuticulares, es limitar el flujo disfuncional de agua y solutos a través de la cutícula. La composición, estructura y grado de cristalinidad de las ceras determinan importantes propiedades, tales como la mojabilidad de la superficie de la planta. Por otro lado, las ceras cuticulares contribuyen con la atenuación, tanto de la radición fotosintéticamenete activa como de la ultra-violeta.

A continuación se presenta una tabla 2.1 con los principales componentes de las ceras cuticulares

Componente	Estructura química	Rango	Constituyentes principales	Especies
Hidrocarburos	$CH_3(CH_2)_nCH_3$	$C_{21} - C_{35}$	C_{29}, C_{31}	Casi todas
Cetonas	R_1COR_2	$C_{25} - C_{29}$	C_{29}, C_{31}	Brassica, Rosaceae, Leptochloa digitata
Alcoholes secundarios	$R_1CH(OH)R_2$	$C_{29} - C_{33}$	C_{29}, C_{31}	Pisum sativum, Brassica, Rosaceae, Malus
β - dicetonas	$R_1COCH_2COR_2$	$C_{27} - C_{33}$	C_{29}, C_{31}, C_{33}	Eucaliptus, Poa Colenasia
Monoésteres	R_1COOR_2	$C_{30} - C_{60}$	$C_{44}, C_{46}, C_{48}, C_{50}$	Casi todas
Poliéster	-	$M_r 800 - 1500$	-	Gimnospermas
Alcoholes primarios	RCH_2OH	$C_{12} - C_{36}$	C_{26}, C_{28}	Casi todas
Aldehidos	$RCHO$	$C_{14} - C_{34}$	C_{24}, C_{26}, C_{28}	Vitis, Malus
Ácidos Carboxilicos	$RCOOH$	$C_{12} - C_{36}$	C_{24}, C_{26}, C_{28}	Casi todas
Trepenos y esteroides	-	-	Acido ursólico y oleanólico, betulenol	Vitis, Solanum

¹Los hidrocarburos alifáticos son compuestos orgánicos constituidos por carbono e hidrógeno cuyo carácter no es aromático

2.2. Cutín

El cutín es el mayor constituyente (entre el 40 - 80 % del peso seco) de la cutícula y, desde el punto de vista químico, es definido como una red polimérica de ácidos grasos C_{16} y C_{18} oxigenados y entrelazados por uniones ester². El cutín puede ser depolimerizado por medio del clivaje de las uniones ester por medio de hidrólisis alcalina, transesterificación y otros métodos. Cualquiera de estos métodos químicos resultan en monómeros y/o sus derivados, dependiendo del reactivo empleado.

Un conjunto de propiedades físicas, químicas y morfológicas hacen del cutín un biopolímero único y complejo. El cutín es un polímero amorfo e insoluble; muestra muy baja permeabilidad frente al agua, un alto calor específico y transiciones vitreas a temperaturas fisiológicas o ambientales. Más aún, el cutín muestra interesantes propiedades rehológicas, ya que es considerado una red de polímero viscoelástica. La interacción de estas propiedades físicas da al cutín de la planta un conjunto de interesantes características. Las cutículas vegetales aisladas y el cutín aislado de algunas de las especies mencionadas, presenta calores específicos significativamente altos. Estos altos valores implican que el material cuticular requiere grandes cantidades de calor para elevar su temperatura en un grado. El calor específico del cutín es alrededor de $2,5 [JK^{-1}g^{-1}]$, mientras que la celulosa, el principal componente de la pared celular, tiene un calor específico de $1,5 [JK^{-1}g^{-1}]$. El material cuticular, contribuye también con una mínima fracción de la masa de todas las hojas y frutas, jugando un rol importante como termorregulador en el ámbito biofísico de la interacción de la planta con el medio ambiente.

2.3. Revisión bibliográfica sobre las propiedades físicas de la Cutícula Vegetal

Es necesario hacer una revisión bibliográfica sobre las principales propiedades físicas de la cutícula vegetal, de manera tal de tener una referencia la momento de analizar los resultados obtenidos, y estos sean consistentes con lo ya reportado a nivel científico. Gran parte de esta revisión se basa en [?], ya que por si misma es una revisión a la cutícula vegetal, en su más amplio espectro. Además, la manera de presentar los

²Los ésteres son grupos prioritarios frente a aminas, alcoholes, cetonas, aldehídos, nitrilos, amidas y haluros de alcanilo. Estos grupos se nombran como sustituyentes siendo el éster el grupo funcional.

contenidos parece clara y ordenada, por lo que se utilizará el mismo orden, y enfatizando lo concerniente a la presente tesis.

2.3.1. Evolución de la Cutícula vegetal

La cutícula es una estructura con una larga historia en la línea temporal de la paleobiología. Afortunadamente la cutícula es un material altamente recalcitrante que fácilmente puede resistir una degradación de millones de años bajo condiciones favorables de deposición. Es realmente interesante que la mayoría de sus características químicas, como la composición del cutín se ha mantenido por prolongados periodos de tiempo [?] [?]. Gracias a esto, se pueden obtener siluetas de células a partir de cutículas, esencialmente intactas de antiguos sedimentos. Los remanentes más antiguos de la cutícula vegetal datan al rededor de 400 millones de años atrás. Las cutículas más tempranas, desde el punto de vista moderno del concepto, fueron encontradas dispersas en sedimentos de eporangios de rynophytoides. Estos especímenes carecen de marcas de estomas, mientras que al principio del periodo Devoniano, los vestigios de cutículas preservan marcas de células que son compatibles con la estructura del aparato estomático moderno. Para profundizar en este tema rivisar [?]. El hallazgo de que la cutícula y el estoma están presentes de manera común en los *cormofitos* tempranos, ha tenido un gran impacto en los conceptos modernos de de la evolución de las plantas vasculares de tierra y también en la interpretación de presión de selección que actúa en el sentido de la evolución del estoma [?]. Estas características son interpretadas como adaptaciones necesarias para formas de vida higroscópicas fotosintéticas en una atmósfera con poca actividad de agua. La estructura cuticular temprana, probablemente, tenía también funciones adicionales, siendo las más importantes: protección contra parásitos, protección contra la radiación ultravioleta (UV) y repulsión de agua.

2.3.2. Principales Propiedades Físicas

Propiedades termodinámicas

Las transiciones de fase son controladas por los lípidos cuticulares, para mantener así la cutícula intacta. La temperatura de transición vítrea (T_g) se encontró que era al en torno a 23 ° C tanto para la cutícula de tomate como la de la propia cutina [?], pero la saturación de las membranas con agua, disminuye T_g a aproximadamente 16

° C [?]. La calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) también reveló un valor anormalmente alto de calor específico ($2,0 - 2,5 [JK^{-1}g^{-1}]$) para la cutina de tomate [?] [?], lo que sugiere un papel termorregulador en las hojas y frutos. Teniendo en cuenta los posibles efectos perjudiciales de las olas de calor y las heladas sobre la viabilidad de la fruta, es importante desarrollar una comprensión molecular de los cambios asociados en la estructura de la superficie cuticular, el movimiento en segmentos, y el dominio de la arquitectura de las ceras cuticulares que puede mejorar el comportamiento mecánico de la cutícula para que no se produzcan grietas en el barniz polimérico, haciendo que el tejido sea susceptible al ataque de patógenos [?].

Propiedades Ópticas

La gran variabilidad de la composición y estructura de la cutícula en las distintas partes de la planta, se traduce también en variaciones en las propiedades ópticas de ésta. Esta sección es dedicada a tratar el tema óptico desde el punto de vista de la radiación ultravioleta (UV) que llega a la superficie de la tierra, esto es UVA ($\lambda = 400 - 320 [nm]$) y UVB ($\lambda = 320 - 280 [nm]$). En particular la cutícula del tomate en su etapa madura, no es fotosintética, por lo que no necesita radiación UV para su metabolismo. Es por esto que el tomate cuenta con estructuras, como los cristales de las ceras cuticulares, que dispersan la radiación, disminuyendo dramáticamente los efectos de esta en los tejidos internos de la fruta. Además cuenta con moléculas encargadas de absorber la radiación UV emitiéndola con una longitud de onda distinta, este efecto se conoce como fluorescencia, estas moléculas son Flavonoides, Carotenoides, entre otros [?]

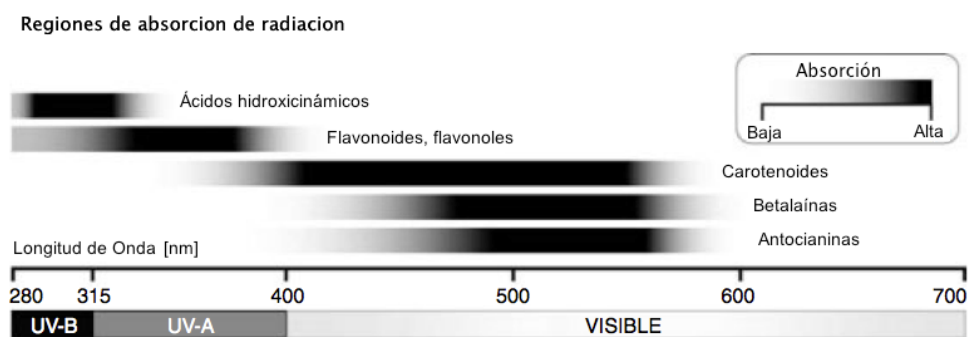


Figura 2.2: Esquema de las regiones de absorción de la mayoría de los componentes implicados en las propiedades de absorción electrónica de la superficie vegetal

Propiedades mecánicas

Se ha visto, hasta ahora, que las propiedades físicas de la cutícula vegetal cambian de especie a especie y además, según a que parte de la planta corresponda, las propiedades mecánicas, no son la excepción, sin embargo se pueden encontrar algunos valores representativos para el caso estudiado en esta tesis. En primera instancia, la cutícula del tomate, cambia sus propiedades mecánicas según la etapa de maduración de este. Estas etapas son clasificadas en Inmaduro-Verde (ig), Maduro-Verde (mg) y Maduro-Rojo (mr). Los cambios en dichas propiedades de la cáscara del tomate, se deben a procesos enzimáticos de las células de la epidermis [?], sin embargo, también se ha demostrado que dichos procesos también responden a estímulos mecánicos de externos a la célula [?]. La mayoría de las mediciones mecánicas realizadas hasta ahora, han sido sobre la cáscara de tomate, incluyendo su epidermis, sin embargo un número limitado de publicaciones se han dedicado al estudio mecánico de la cutícula de tomate aislada [?], [?], [?]. Como ya se ha mencionado anteriormente, la cutícula es un *composite* continuo que rodea el tomate, cubriendo la epidermis, y está compuesta principalmente de cutín, un biopolímero insoluble, de cadena larga y lípidos solubles, colectivamente llamados ceras cotitulares. Desde un punto de vista mecánico, la cutícula actúa como un elemento de soporte de la fruta para la integridad de sus tejidos internos, a partir de que la teoría ingenieril, que muestra que los mayores esfuerzos se concentran en la superficie de los cuerpos [?]. Según [?] el espesor δ y el módulo elástico E de la cutícula para tomates rojos en su etapa madura, y para tres especies diferentes son:

- Harzfeuer: $\delta = 10,2 \pm 0,6[\mu m]$, $E = 258,0 \pm 66,1[MPa]$.
- Vanessa: $\delta = 15,7 \pm 0,6[\mu m]$, $E = 191,8 \pm 50,7[MPa]$.
- Roma: $\delta = 9,6 \pm 0,7[\mu m]$, $E = 209,3 \pm 17,3[MPa]$.

Capítulo 3

Ensayo de Tracción

Uno de los ensayos mecánicos de esfuerzo-deformación más común, es el ensayo de tracción, ya que es un excelente método para determinar algunas propiedades mecánicas de materiales de interés. Consiste en la deformación de una muestra, generalmente hasta fracturarlo. Normalmente se aplica una carga tensil que crece gradualmente de forma uniaxial con el eje longitudinal de la muestra. Comúnmente, se utiliza una probeta estándar de sección transversal circular, sin embargo, también se utilizan algunas probetas de sección transversal rectangular. Durante el ensayo, la deformación es confinada a una región angosta en el centro de la probeta, que tiene una sección uniforme en su longitud. El diámetro estándar es de $12,8[mm]$, mientras la sección longitudinal de la región angosta debe ser al menos cuatro veces este diámetro; comúnmente $66[mm]$. La longitud de Gauge se utiliza en cálculos de ductilidad, el valor estándar es de $50[mm]$. La muestra es montada fijándola en sus extremos con las prensas de sujeción del aparato de prueba, la máquina de ensayo de tracción está diseñada para estirar el espécimen a razón constante y para medir continua y simultáneamente la carga aplicada (con una celda de carga) y la elongación resultante (usando un extensómetro). Un ensayo de esfuerzo-deformación, puede demorar algunos minutos en llevarse a cabo y es destructivo; es decir, la muestra es deformada permanentemente y/o fracturada. Los resultados de un ensayo de tracción son representados en un gráfico de carga o fuerza versus elongación. Las propiedades de estos gráficos de carga-deformación son dependientes del tamaño del espécimen. Por ejemplo, se requiere el doble de la carga para producir la misma elongación si el área de la sección transversal del espécimen es duplicada. Para minimizar los factores geométricos, la carga y la elongación son normalizadas en sus

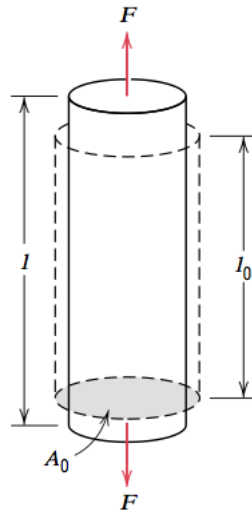


Figura 3.1: Esquema ilustrativo de un ensayo de tracción. Las líneas segmentadas representan la forma antes de la deformación; las líneas continuas, después de la deformación.

respectivos parámetros de esfuerzo ingeneril y deformación ingeneril. El esfuerzo σ es definido por la relación

$$\sigma = \frac{F}{A_0} \quad (3.1)$$

en que F es la carga instantánea aplicada perpendicular a la sección transversal en newtons $[N]$ o en libras fuerza $[lb_f]$, y A_0 es el área de la sección transversal original, antes de aplicar la carga, expresada en $[m^2]$ o en $[in^2]$. Las unidades del esfuerzo ingeneril (en adelante solamente esfuerzo) son megapascuales, $[MPa]$ (SI), donde $1[MPa] = 10^6[N/m^2]$, y en libras por pulgada cuadrada, $[psi]$ (usado en EE.UU.). La deformación ingeneril ϵ es definida de a cuerdo a

$$\epsilon = \frac{l_i - l_0}{l_0} = \frac{\Delta l}{l_0} \quad (3.2)$$

en donde l_0 es el largo original antes de aplicar la carga, y l_i es el largo instantáneo. A veces la cantidad $l_i - l_0$ se denota Δl , y es la deformación de elongación o el cambio de longitud para algún instante, referido a la longitud original. La deformación ingeneril (en adelante solo deformación) es adimensional, sin embargo, suele usarse en "metros por metro." "pulgadas por pulgada", el valor de la deformación es, obviamente, independiente del sistema de unidades. En ocasiones, la deformación suele expresarse en porcentajes, en donde el valor de la deformación es multiplicado por 100.

3.1. Deformación Elástica

3.1.1. Comportamiento del Esfuerzo-Deformación

La manera en que una estructura se deforma, depende del esfuerzo que a ésta se le impone. Para la mayoría de los materiales que se encuentran sometidos a tensiones relativamente bajas, el esfuerzo y la deformación son directamente proporcionales a través de la siguiente relación

$$\sigma = E\epsilon \quad (3.3)$$

Esta relación es conocida como ley de Hooke, y la constante de proporcionalidad E ($[GPa]$ o $[psi]$) es el módulo elástico o módulo de Young, este valor varía típicamente, para los metales, entre $45[GPa]$ (magnesio) y $407[GPa]$ (tungsteno). El módulo elástico es levemente mayor para los materiales cerámicos, cuyo rango va desde los 70 hasta los $500[GPa]$. Los polímeros tienen módulos elásticos menores que los metales y los materiales cerámicos, cuyo rango va desde los 0,007 hasta los $4[GPa]$. Las deformaciones que son proporcionales al esfuerzo se llaman **deformaciones elásticas**; en un gráfico de esfuerzo (ordenada) versus deformación (abscisa) resulta una relación lineal, como se muestra en el gráfico de la figura 3.2. La pendiente del segmento lineal corresponde al módulo elástico E . Este módulo puede verse como la rigidez, o la resistencia del material a la deformación elástica. Mientras mayor sea el módulo elástico, mayor será la rigidez del material, o más pequeña será la deformación elástica bajo un esfuerzo dado. Este módulo es un parámetro de diseño importante, para calcular las deflexiones elásticas.

Las deformaciones elásticas no son de carácter permanente, es decir, cuando se aplica una que produce una deformación elástica, el material vuelve a su forma original cuando la carga es liberada. Como se muestra en el gráfico de la figura 3.2, la aplicación de una carga significa moverse desde el origen a lo largo de la línea recta. A medida que la carga es liberada, la línea se desplaza en la dirección opuesta, de vuelta al origen.

Existen algunos materiales que, en su deformación elástica inicial, muestran un comportamiento no lineal (figura ??) por lo que no es posible determinar un módulo elástico como se ha descrito. Para este comportamiento no lineal, se usa normalmente tanto el *módulo tangente* como el *módulo secante*. El módulo tangente es tomado como la pendiente de la curva de esfuerzo-deformación a algún nivel de esfuerzo específico, mientras que el módulo secante representa la pendiente de la secante determinada entre el origen y algún punto dado de la curva $\sigma - \epsilon$.

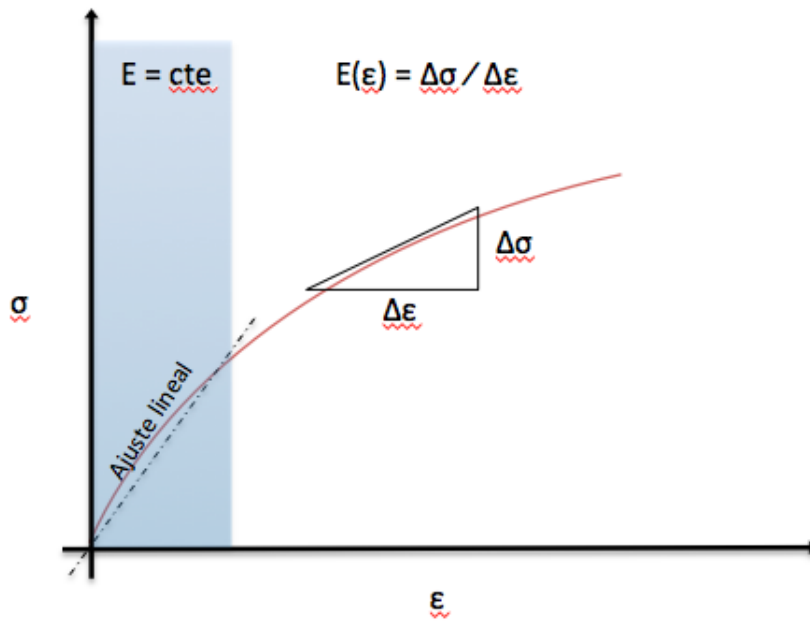


Figura 3.2: Esquema de esfuerzo-deformación que muestra un comportamiento elástico no lineal, además se determina el módulo de Young mediante un ajuste en el régimen lineal y de manera diferencial para el caso no lineal.

En el caso de que la curva de esfuerzo-deformación resulte un comportamiento elástico, no lineal, en donde el módulo elástico varía junto con la deformación. Se puede establecer un módulo elástico lineal por tramos, es decir, se ajusta una función lineal en un tramo donde dicho ajuste se encuentre dentro de los parámetros aceptables de ajuste. y así se puede determinar un módulo elástico constante para un cierto tramo, típicamente, el tramo lineal inicial del ensayo.

Capítulo 4

Métodos experimentales

4.1. Montaje

Para el estudio del efecto de la radiación UV sobre el módulo de elasticidad de la cutícula aislada de tomate, se implementó un montaje principal, que en si, constaba de dos modalidades: La modalidad de irradiación UV, donde un arreglo óptico concentra la radiación sobre la muestra que se encuentra soportada en la máquina de tracción. Y otra, donde un arreglo óptico tenía como propósito la iluminación y captura de imágenes, para un posterior procesamiento de imágenes y determinación del campo de deformación, mientras la máquina de tracción realizaba el ensayo.

El estudio se llevó a cabo a través de distintos protocolos que fueron mejorando a medida que se implementaban, estos protocolos serán ordenados según cada etapa del experimento y descritos a continuación.

4.2. Aislamiento de la cutícula del tomate

Este protocolo fue adaptado desde el protocolo publicado en *REF* :

1. Lo primero es preparar la solución enzimática de pectinasa y celulasa, para 1[L] de solución se realiza el siguiente protocolo:
 - a) En una botella de vidrio de 1000[mL] con una barra de agitación magnética, se agregan 600[mL] de agua desionizada y se lleva a un agitador magnético a temperatura ambiente.

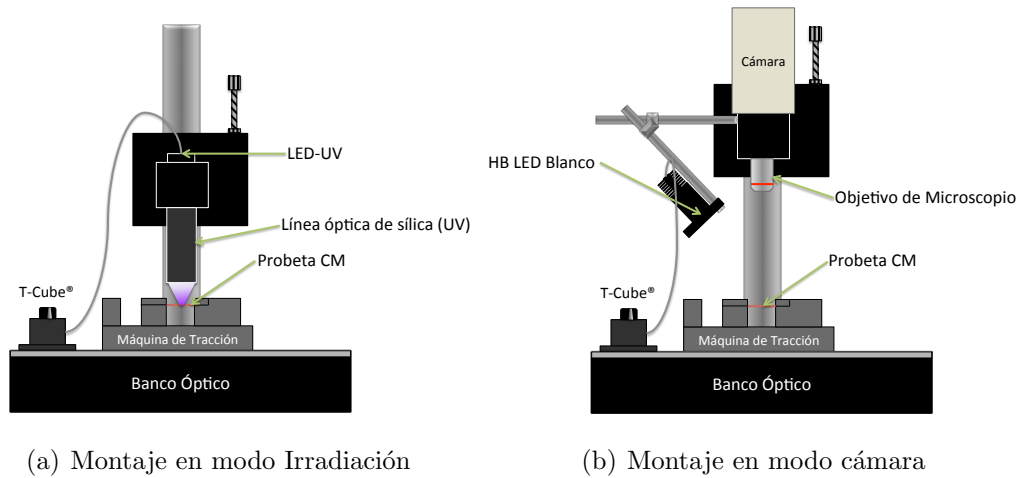


Figura 4.1: Esquema del montaje experimental: (a) En modo irradiación, que consta con un LED-UV, un arreglo óptico de silica para concentración de la luz y usa la maquina de tracción como soporte de la muestra. (b) En modo ensayo de tracción y adquisición de imágenes donde se incluye una cámara y un arreglo óptico de microscopio.

- b) Se agrega $2,1[g]$ ($0,01[molar]$) de ácido cítrico monohidrato (Merck[®]).
 - c) En un tubo de $15[mL]$ con tapa rosca, se agregan dos lentejas de KOH (Winkler[®]), se afora con agua desionizada y se agita el tubo hasta disolver las lentejas.
 - d) Con una pipeta pasteur se agrega a la solución de ácido cítrico, gota a gota, la solución de KOH, hasta que la solución alcanza un pH entre 3 y 3,3.
 - e) Se agregan $2\%p/v$ ($20[g]$) de pectinasa (Sigma-Aldrich[®] 17389-50G) y $0,2\%p/v$ ($2[g]$) de celulasa (Sigma-Aldrich[®] C9748-100G), se dejan agitando hasta que la mezcla sea homogénea.
 - f) Se aforra hasta $1000[mL]$ con agua desionizada.
2. Se realizan cortes meridionales sobre el tomate con un escarpelo o bisturí, para obtener a lo más seis trozos de tomate que incluyen la cascara y la parte carnosa inmediata a la cáscara, dejando a parte el centro con las semillas; la idea de hacer estos cortes, es obtener la mayor extensión posible de cascara, de manera tal que al ser estirada en un plano no aparezcan arrugas en la superficie. Luego se retira la mayor parte de la pulpa adherida a la cascara sin tocar esta última con el escarpelo.

3. Ya obtenidos los trozos de tomate con su cascara, se deben agregar a un vaso precipitado de 600[mL] y se debe llenar el vaso con la solución enzimática.
4. Se lleva el vaso a una cámara de vacío para infiltrar el tomate con la solución durante 10 minutos, luego se deja entrar el aire a la cámara de vacío de forma lenta para evitar derramamiento de la solución. Este proceso puede repetirse hasta tres veces para una mejor infiltración.
5. Se dejan secar las cutículas durante 24 horas sobre una superficie de Teflón[®] o sobre laminas de Parafilm[®], de manera que no queden unas sobre otras.

4.3. Corte de probetas para tracción

Al hacer el ensayo de tracción, se debe evitar que las probetas tengan microfracturas, ya que estas actúan como mecanismo de ruptura de la misma, alterando la medición del valor real de fractura de la cutícula. Fueron probados varios métodos: corte con bisturí, corte con tijeras, desgaste con fresa, flejes de corte, etc. Finalmente se optó por el corte con láser (ver figura 4.2), este corte se lleva a cabo en una máquina de corte y grabado con láser. Para esto:

1. Se debe confeccionar un diseño con algún CAD de una matriz de corte, dando forma a las probetas. La forma que se le dio a las probetas fue una adaptación a escala de la norma para aceros ASTM-A370, adecuándola a la máquina de tracción utilizada.
2. La matriz diseñada para el corte con láser¹, se escribe en un archivo en formato EPS (Encapsulated PostScript) dibujando las líneas de corte de color rojo.
3. Luego de diseñada la matriz, esta se imprime en un formato A3 para poner las cutículas sobre la impresión de los cortes con cinta de enmascarar, se intenta dejar las cutículas lo más plano posible y sin arrugas, ya que esto implica que el láser haga un corte irregular provocando un concentrador de tensiones al momento del ensayo de tracción.

¹El procedimiento propio del uso de la máquina es propiedad de la librería Copylandia (Avenida Ecuador 3424, Estación Central, Santiago).

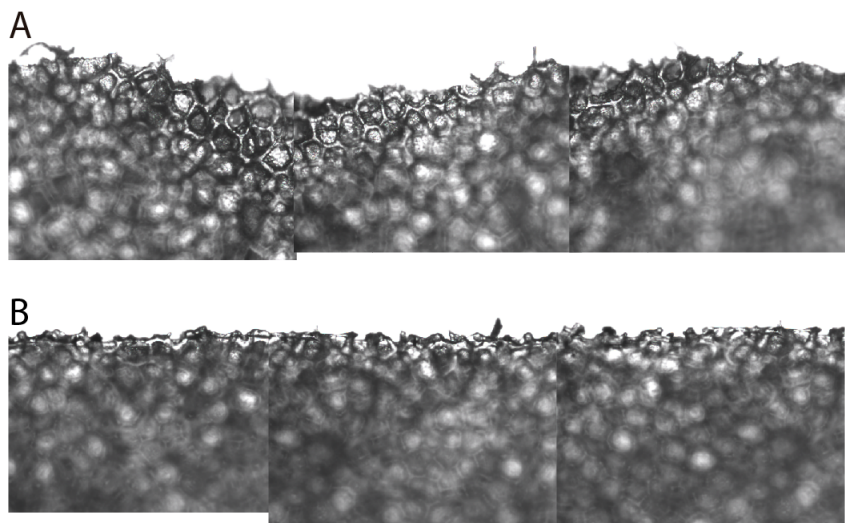


Figura 4.2: Microscopías (10X) de una muestra de cutícula de tomate - A: Corte hecho con bisturí y plantilla. - B: Corte hecho con maquina de grabado y corte con láser

4. Una vez cortadas las probetas, se retiran de la matriz y se procede con la siguiente etapa.

4.4. Irradiación UV

Para la irradiación de las probetas con radiación UV, se usaron tres métodos diferentes:

4.4.1. Irradiación global con UVO-Cleaner®

1. Luego de retirar las probetas de la matriz, se disponen entre dos porta-objetos de microscopio y se aprisionan con una prensa, dejándose así por 24 horas, para aplanar la superficie de la cutícula.
2. Una vez planas la probetas se recojen de los porta objetos y se adhieren a uno nuevo con dos pequeñas láminas de cinta de enmascarar cada uno, para fijar las probetas a éste.
3. Luego se disponen dentro de la máquina de radiación (UVO-Cleaner®, modelo 42).

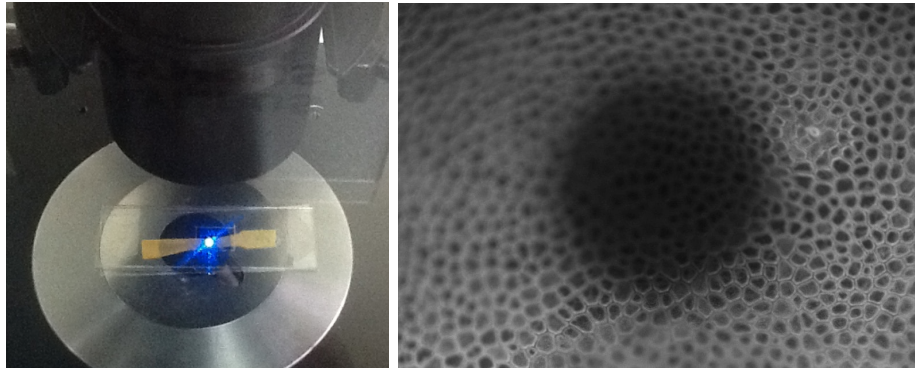


Figura 4.3: Derecha: muestra la maquina de radiación UVO-Cleaner®42. Izquierda: Se muestra las probetas de cutícula dispuestas para la irradiación

4. Se preparan seis muestras y se irradian durante diez minutos, luego se retira una de ellas y se repite el proceso de irradiación, hasta completar las seis muestras irradiadas con 10, 20, 30, 40, 50 y 60 minutos respectivamente.

4.4.2. Irradiación local con lampara de Hg en microscopio

Otro método de irradiación fue utilizando una lampara de Hg para fluorescencia con retro-microscopio (Olympus®IX-81), como en el método anterior, se dispone la probeta en un porta-objetos y se sujeta con una lamina de PDMS (Gel-Pak®, Gel-Film®PF-60-X4) dejando expuesta la región central de la muestra para ser iluminada con la lampara de mercurio del microscopio. Las muestras fueron expuestas durante 120 minutos, de manera tal que existiese un cambio apreciable bajo el microscopio, usando modo de fluorescencia.



(a) Irradiación con lámpara Hg con filtro UV en microscopio Olympus
 (b) Microscopía de fluorescencia probeta irradiada, se observa el rastro dejado por la radiación UV, ya que la probeta no muestra fluorescencia en esa región

Figura 4.4: Ataque con radiación UV a probeta con lámpara de Hg para fluorescencia - Retro-microscopio Olympus®IX-81

4.4.3. Irradiación con UV-LED Thorlabs®

Para la irradiación se usó también el montaje experimental con diodos UV-LED (UVTOP®LED365W Y LED341W, ambos marca ThorLabs®).

1. Una vez retirada la probeta de la matriz, se instala en la máquina de tracción (ver ??).
2. Se separan las mordazas de la máquina de tracción, de manera tal que la cutícula quede estirada, cuidando de no superar una tensión de $0,05[N]$
3. Una vez instalada la probeta se marca el centro de ésta para luego enfocar ahí el centro de la luz UV.
4. Se enciende el UV-LED con el driver T-Cube LEDD1B y se lleva a su máxima potencia.
5. Para lograr la máxima eficiencia y una región de irradiación lo más pequeña posible, se enfoca el *spot* con ayuda de un papel blanco lo más cerca posible de la probeta, ya que el *spot* es invisible sobre la cutícula de tomate.
6. Se registra el tiempo para controlar el tiempo de radiación y se detiene al momento de apagar el UV-LED.



Figura 4.5: 1. Generador de pulsos (1[ms], ciclo de trabajo de 1%); 2. T-Cube Thorlabs®; 3. UV-LED UVTOP con ventana en montura S1LEDM Thorlabs®

7. Para cambiar el montaje, esto es, desinstalar la fuente de radiación UV con su línea óptica; e instalar la cámara y el objetivo de microscopio, se debe cuidar de no cambiar el eje óptico del montaje, ya que así el centro de la muestra (marcado anteriormente) queda justo en el centro del campo de visión de la cámara.

4.5. Ensayo de tracción

El ensayo de tracción consiste en estudiar la deformación de una probeta en función de su requerimiento físico o esfuerzo, para este ensayo se cuenta con una máquina de tracción (Deben Mini Tensile Tester, 200N compression & horizontal bending stage).

1. Una vez lista la probeta que se someterá al ensayo, se retiran los tornillos que fijan las tenazas de sujeción de la máquina de tracción.
2. Se enciende la unidad amplificadora y el computador, luego se inicia el software Deben Microtest que viene incluido con la máquina.
3. Una vez reconocido el puerto al cual está conectada la interface de la máquina se presiona el botón “close jaws” que acerca las dos tenazas de sujeción a la mínima distancia entre ellas.

4. Se cortan cuatro trozos de lámina de PDMS del tamaño de la pieza superior de las tenazas de sujeción.
5. Se aplica una pequeña cantidad de cera de vacío sobre el lugar en la máquina de tracción donde debe ir la muestra y se adhiere uno de los trozos de PDMS.
6. Luego se dispone la probeta, de manera tal que el final de esta coincida con la orilla del trozo de PDMS, se puede agregar cera de vacío si fuese necesario, esto se hace para evitar que al momento de traccionar la probeta, ésta resbale.
7. Finalmente se cubre la sección de la muestra que estará en las tenazas de sujeción con una última lamina de PDMS y se fija la pieza superior de las tenazas con los tornillos. Esta última pieza es una que cuenta con un estriado, de manera tal que evita que la lamina de PDMS resbale.
8. Se repite desde el paso 5 para la otra tenaza, sin importar que la probeta quede más larga que el espacio que separa las tenazas.
9. Una vez dispuesta la probeta en la máquina de tracción se procede a separar las tenazas con el comando “open jaws” de manera tal que la probeta quede casi completamente plana, pero teniendo cuidado de que no quede tensa. La apertura se detiene con el comando “STOP”.
10. Con el comando “Set Loadcell zero offset” se calibra la celda de carga (de 200[N]) para dejarla en cero.
11. Luego en el campo “Go to” se selecciona la opción “N” y se escribe el valor 0,01[N], se da el comando “Go to”.
12. Con el pie de metro se mide la distancia interior entre las tenazas y se ingresa ese dato en el campo “Span” de la opción “Sample details”.
13. En este paso la máquina se encuentra lista para comenzar el ensayo. Las condiciones del ensayo varían según necesidad, en este caso, cuando no se mencione nada al respecto se asumen las siguientes configuraciones:
 - Mode: TENSILE.
 - Xcale: mm (Absolute).

- Sampletime: 200ms.
- Motor Speed: 1.5 mm/min.
- Gain: X50.

Es posible adquirir de imágenes, a través de una cámara y un computador, durante el ensayo de tracción, para el posterior estudio de deformación local de la muestra. Puesto que la máquina de tracción entrega la deformación global de la probeta es necesario obtener datos de deformación local. Para ello el montaje cuenta con un arreglo óptico de microscopio, iluminación y cámara, para adquirir fotogramas durante el experimento. además se desarrolló una rutina en NI LabVIEW® para el manejo de la adquisición de las imágenes. Para la adquisición de imágenes :

1. Se debe iniciar NI LabVIEW y abrir la rutina desarrollada (ver Anexo ??).
2. Abierta la ventana de control de la rutina se introducen las variables de entrada, esto es, el nombre de dispositivo con que LabVIEW reconoce la cámara, generalmente “CAM01”, para averiguar cuál es el nombre con que LabVIEW reconoce la cámara se debe abrir “Measurement & Automation Explorer” (MAX) donde figuran los controladores de la cámara y sus configuraciones básicas. También se deben determinar la velocidad de muestreo en *FPS*, la carpeta donde se archivarán los fotogramas y el encabezado de los archivos de imagen.
3. Una vez configuradas las variables de entrada se ejecuta el comando “Run” entonces el sistema se encuentra preparado para la adquisición de imágenes.
4. Se presiona la tecla “Grabar” y así comienza la adquisición.
5. Para detener la grabación se presiona el mismo botón de “Grabar” en el panel de comandos de manera y tal que éste aparece como desactivado.

Capítulo 5

Resultados

Los resultados de los ensayos de tracción realizados se clasifican en dos grandes grupos:

- Cutículas secas (S): que se refiere a cutículas que fueron sometidas al ensayo sin más que la humedad ambiente, que típicamente tubo un valor de 35 % HR.
- Cutículas mojadas (M): a las que se les aplicó agua en su superficie hidrofílica una vez montada la cutícula en la máquina de tracción. Este estudio se hizo por dos motivos principales: El tomate en su estado natural, en su parte interior mantiene un ambiente saturado de agua, por lo que esta condición se asemeja más a la cutícula envolviendo el tomate. Por otro lado, en la bibliografía se hace alusión al drástico cambio que sufre el comportamiento mecánico de la cutícula cuando esta es sometida a cambios de humedad (??)

La siguiente sub-clasificación tiene que ver con la intervención de la cutícula ya sea sin intervenir (sin irradiar) irradiandola completamente (Irrad.), irradiando localmente (Irr. Local) o bien perforándola (Perforada) mecánicamente.

Primero se presentan todos los ensayos en un mismo gráfico para tener una visión global de los experimentos realizados.

Al comparar algunas de las cutículas mojadas e irradiadas globalmente con cutículas mojadas sin irradiar, se observa lo siguiente:

A continuación se presenta un gráfico que resulta del calculo del campo de deformación, a partir de un fotograma de un ensayo de tracción, realizado sobre una muestra

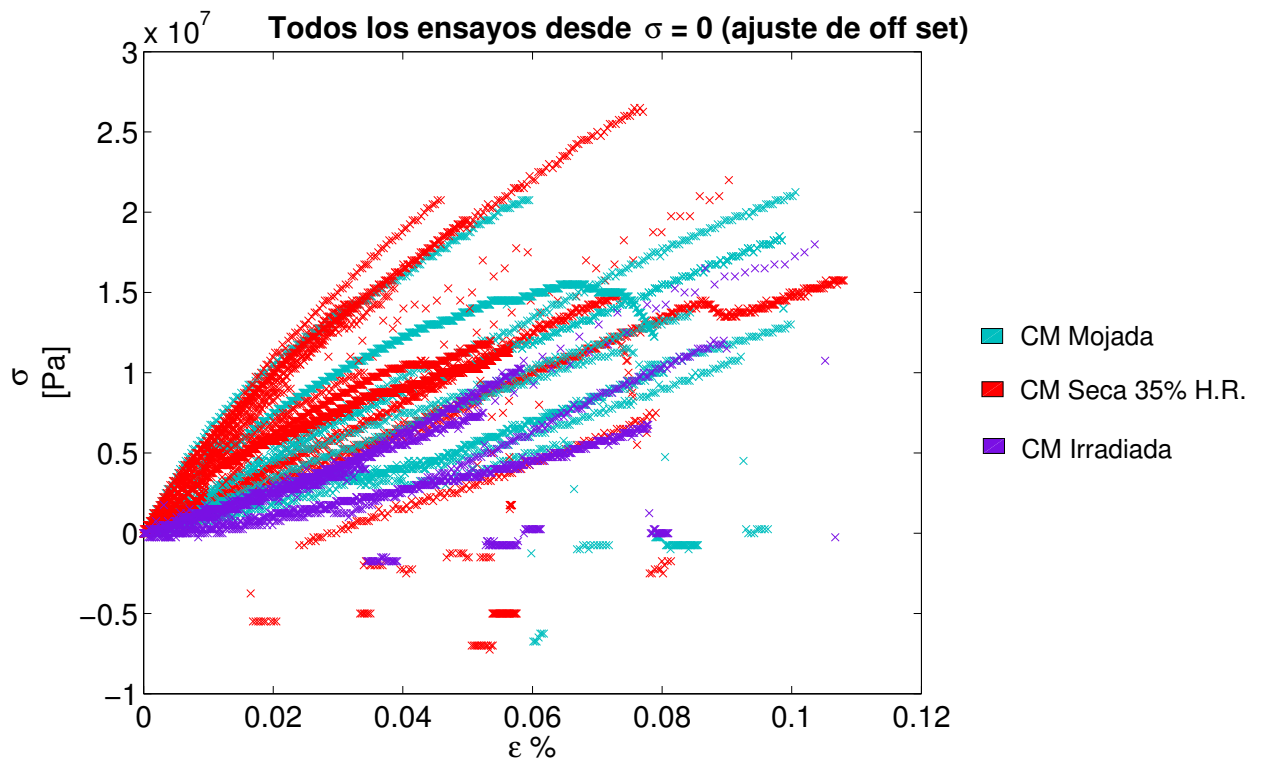


Figura 5.1: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en [Pa] de todos los ensayos de tracción realizados partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset.

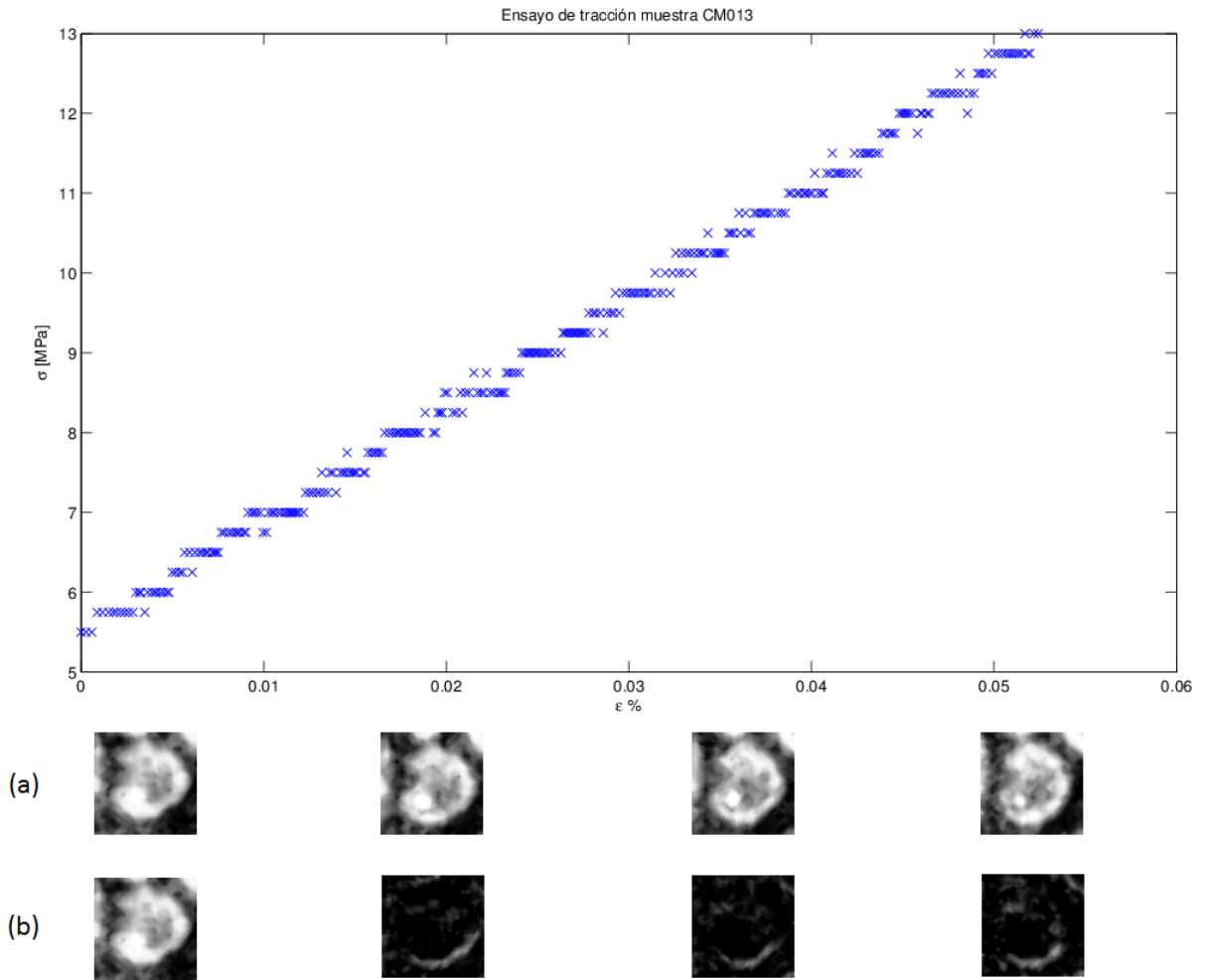


Figura 5.2: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[MPa]$ de la muestra CM013, donde se muestra las distintas etapas de deformación de una celda de la cutícula (a) y la diferencia de cada etapa con la primera (b).

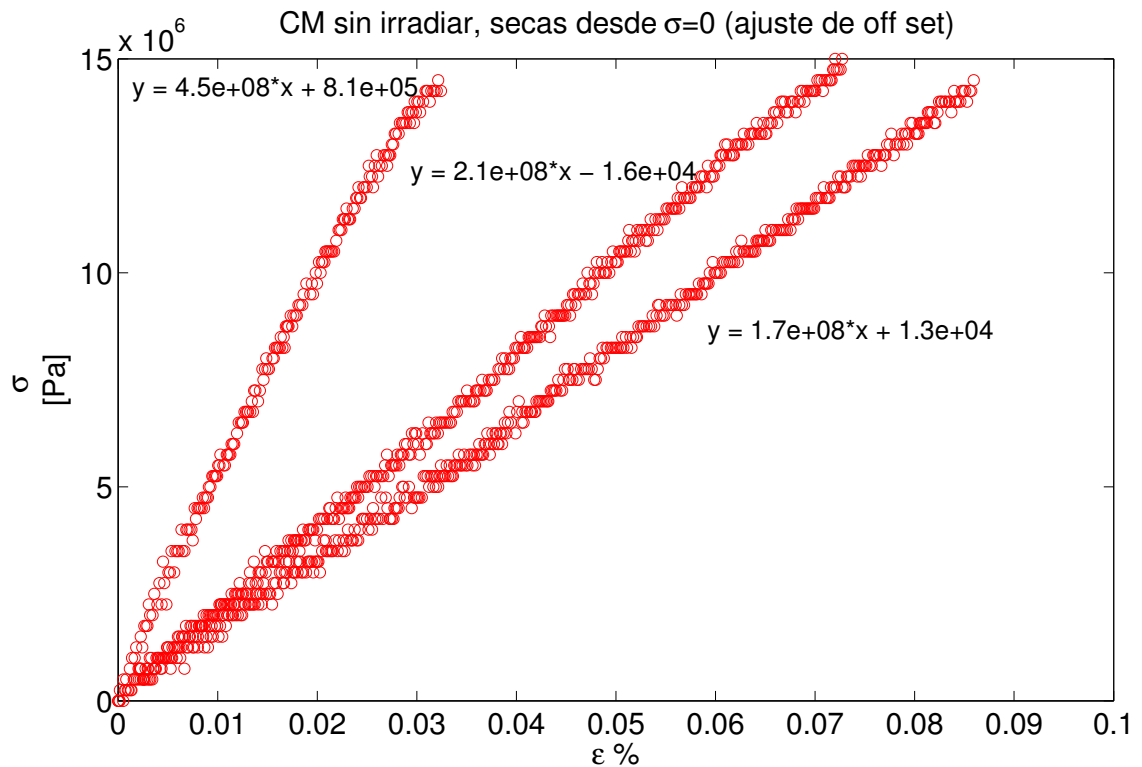


Figura 5.3: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas sin irradiar, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset. El módulo elástico promedio es de $(1,4 \pm 0,5) \times 10^8 [Pa]$.

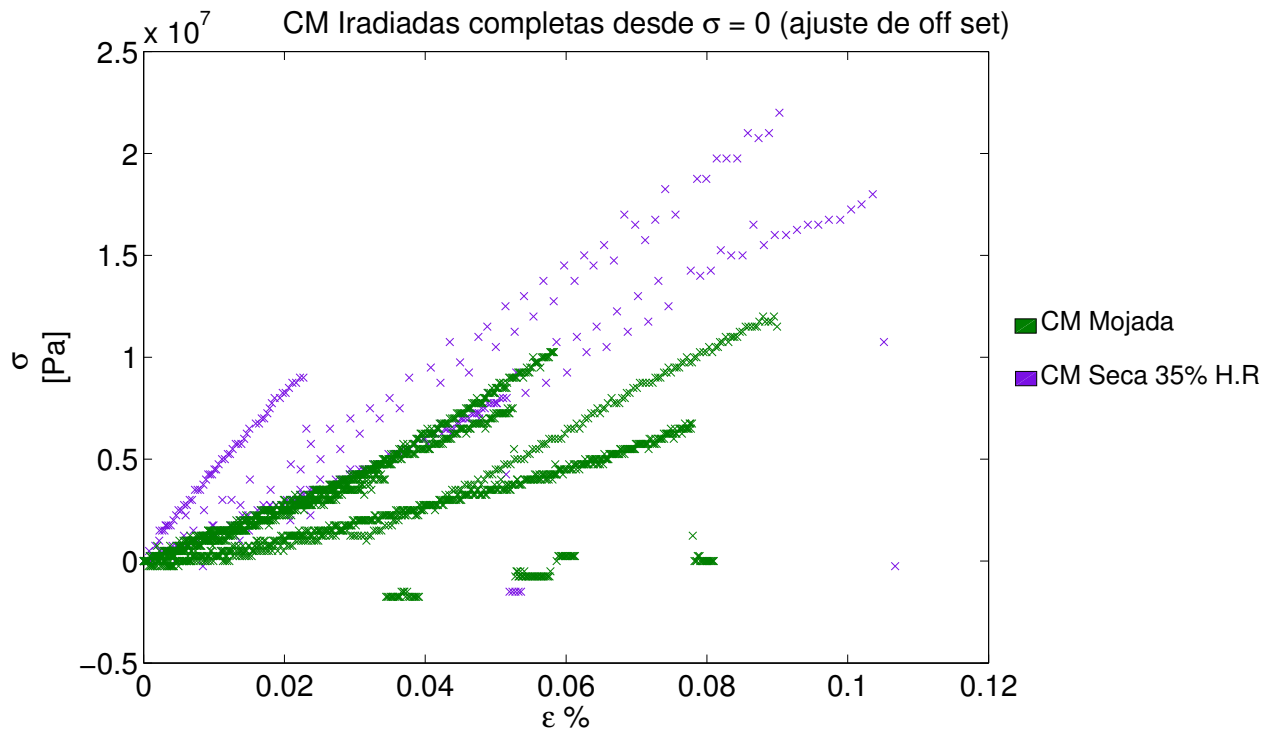


Figura 5.4: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas y mojadas, irradiadas completa y homogéneamente, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset.

El módulo elástico promedio para las muestras secas es de $(2,4 \pm 1,3) \times 10^8 [Pa]$

y $(1,3 \pm 0,4) \times 10^8 [Pa]$ para las probetas mojadas.

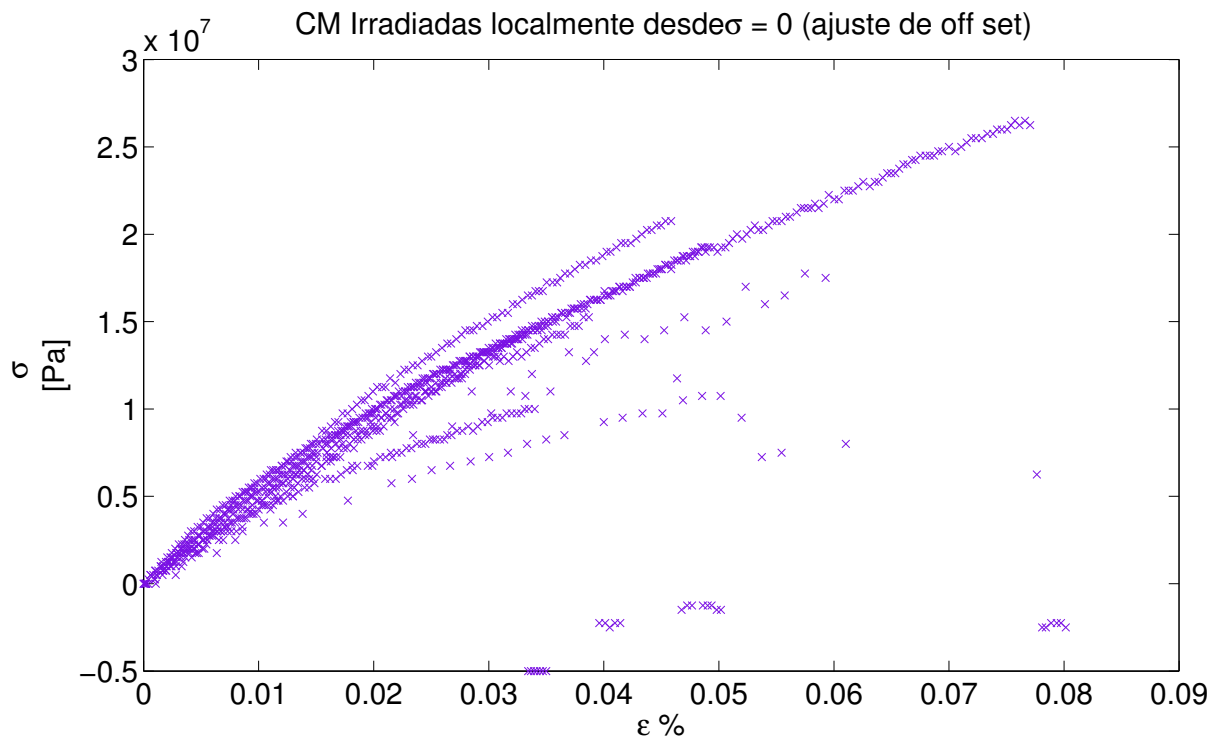


Figura 5.5: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en [Pa] de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas irradiadas localmente, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset. El módulo elástico promedio es $(2,8 \pm 0,7) \times 10^8$ [Pa]

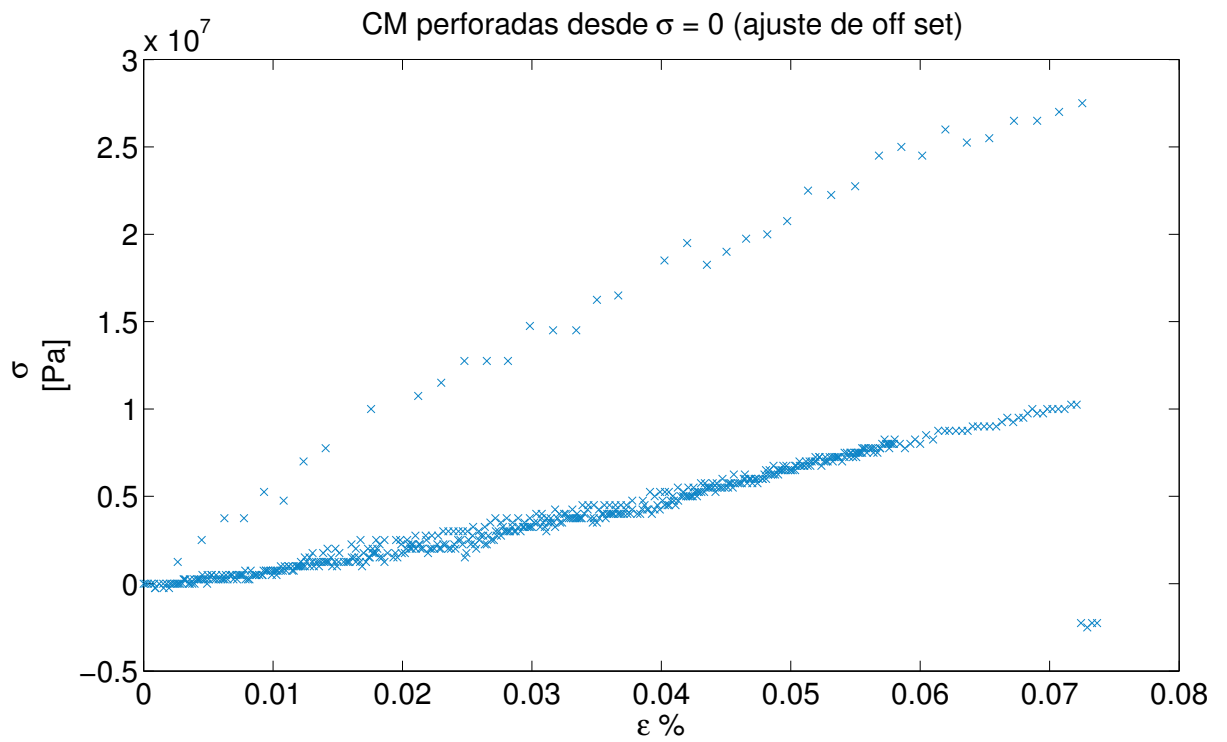


Figura 5.6: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en $[Pa]$ de los ensayos de tracción realizados a cutículas secas perforadas localmente, partiendo desde esfuerzo y elongación cero mediante corrección de offset. El módulo elástico promedio es $(2,1 \pm 1,4) \times 10^8 [Pa]$

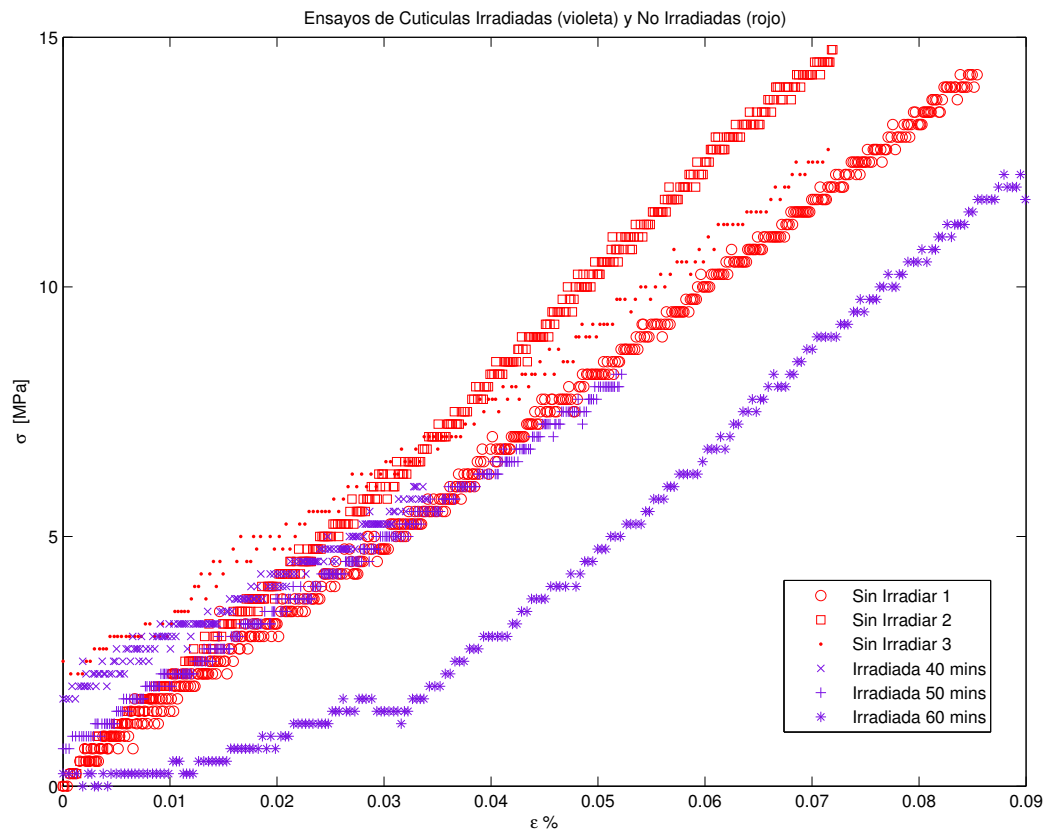


Figura 5.7: Gráfico de esfuerzo-deformación de cutículas irradiadas globalmente y cutículas sin irradiar

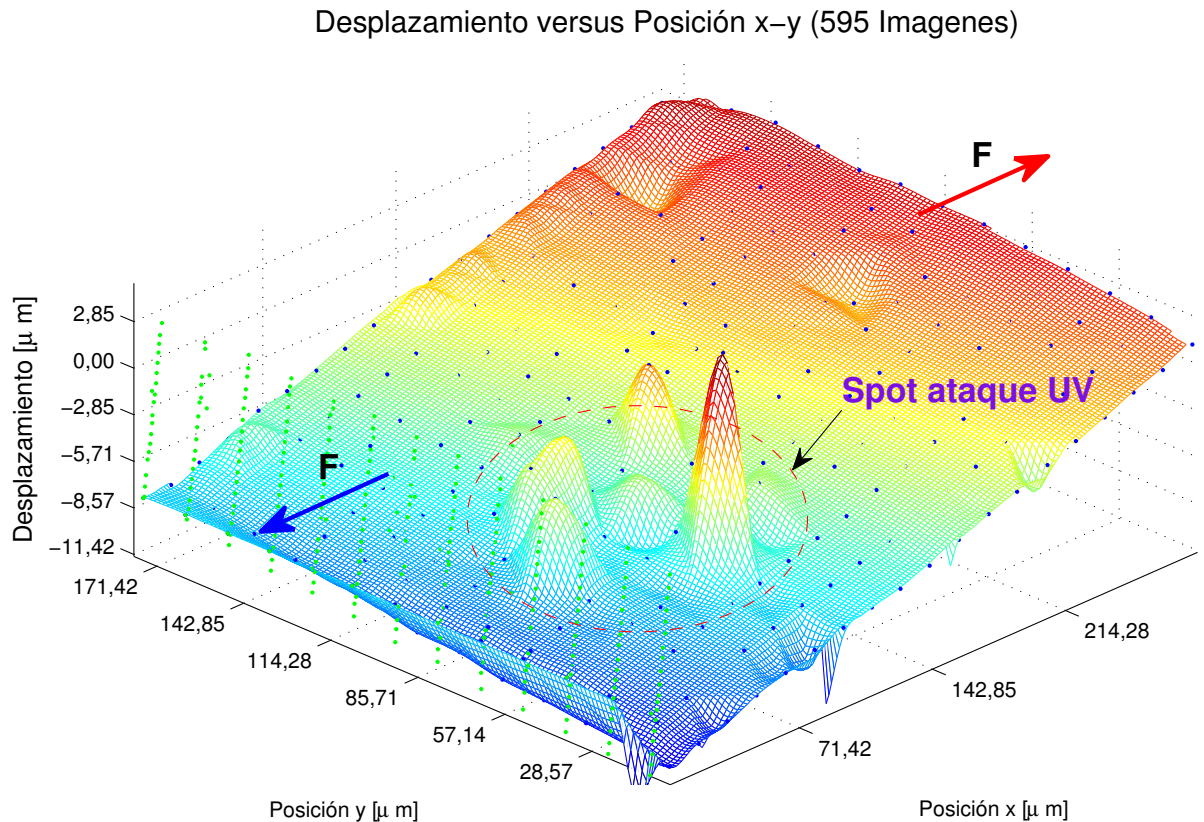


Figura 5.8: Gráfico del campo de deformación de una cutícula irradiada localmente, donde se muestra la ubicación del área de ataque o 'spot' y el sentido de las fuerzas de tracción, se puede notar claramente una deformación anómala en la región de ataque.

irradiada localmente con un diodo LED UV de longitud de onda media $365[nm]$ durante 72 horas.

Finalmente, se muestra un gráfico que resume los resultados de los módulos elásticos mostrados anteriormente y clasificados de la misma manera, a la izquierda de la línea segmentada, se muestran los resultados obtenidos con cutículas mojadas, y a la derecha, las cutículas con humedad ambiente.

Se puede observar en el gráfico 5.9 un error importante en las mediciones del módulo elástico debido a la dispersión en el espesor de las probetas, que no permite una comparación concluyente, por esta razón se decide hacer un experimento no destructivo sobre una cutícula en particular sin irradiar y luego irradiada, este ensayo consiste en

diez ciclos de tracción y compresión de la cutícula sin irradiar y se estudian solo los regímenes de tracción, luego se repiten otros diez ciclos, pero esta vez con la cutícula irradiada. Los resultados obtenidos son los siguientes:

De los resultados anteriores 5.10 y 5.11 se obtiene el siguiente gráfico resumen:

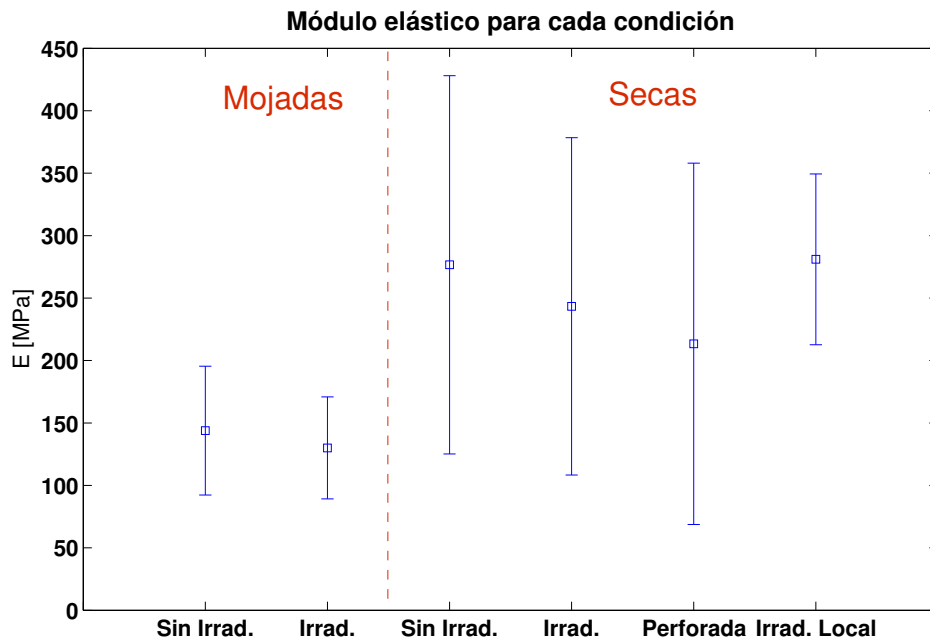


Figura 5.9: Se puede observar en este gráfico los módulos elásticos promedio con su error de los ensayos mostrados anteriormente y clasificados de la manera ya mencionada, de izquierda a derecha: Cutículas mojadas (M) sin irradiar ($E = (1,4 \pm 0,5) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas mojadas (M) irradiadas completamente ($E = (1,3 \pm 0,4) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) sin irradiar ($E = (2,7 \pm 1,5) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) irradiadas completamente ($E = (2,4 \pm 1,3) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) irradiadas localmente ($E = (2,8 \pm 0,7) \times 10^8 [Pa]$); Cutículas secas (S) perforadas ($E = (2,1 \pm 1,4) \times 10^8 [Pa]$).

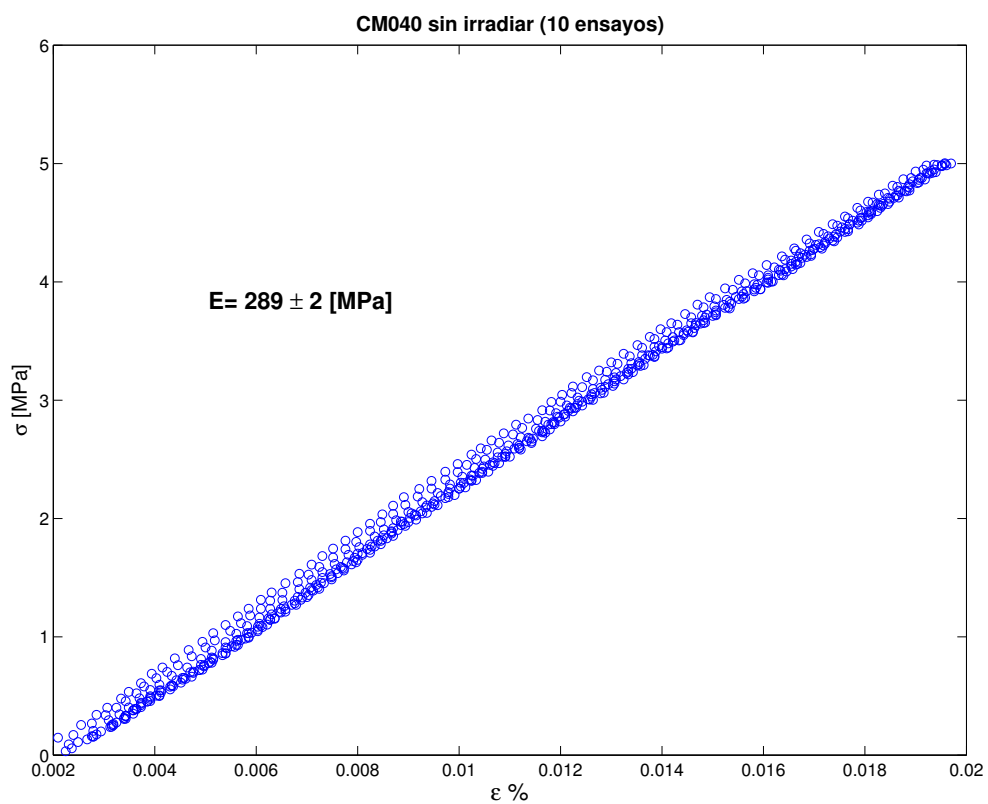


Figura 5.10: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en [Pa] de los 10 ensayos de tracción realizados a una cutícula seca sin irradiar.

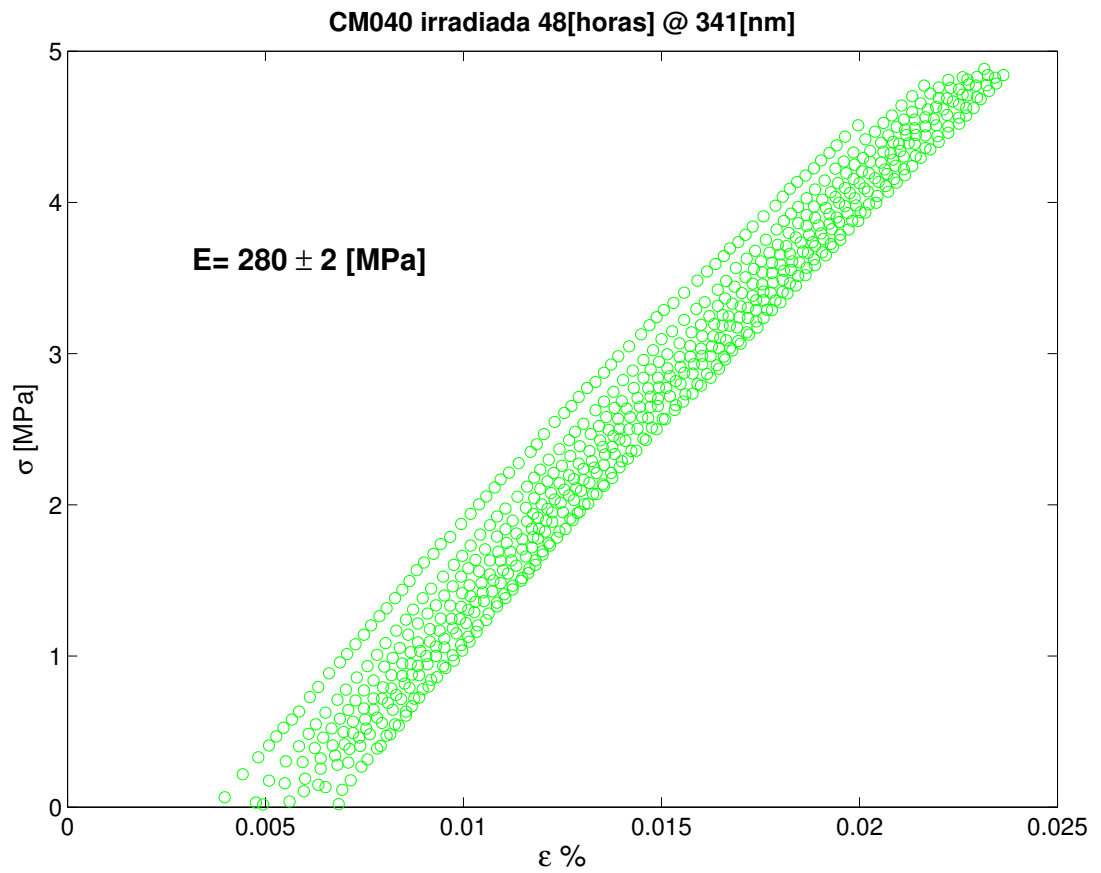


Figura 5.11: Gráfico de elongación relativa normalizada versus esfuerzo en [Pa] de los 10 ensayos de tracción realizados a una cutícula seca irradiada durante 48 horas con una longitud de onda de 341[nm].

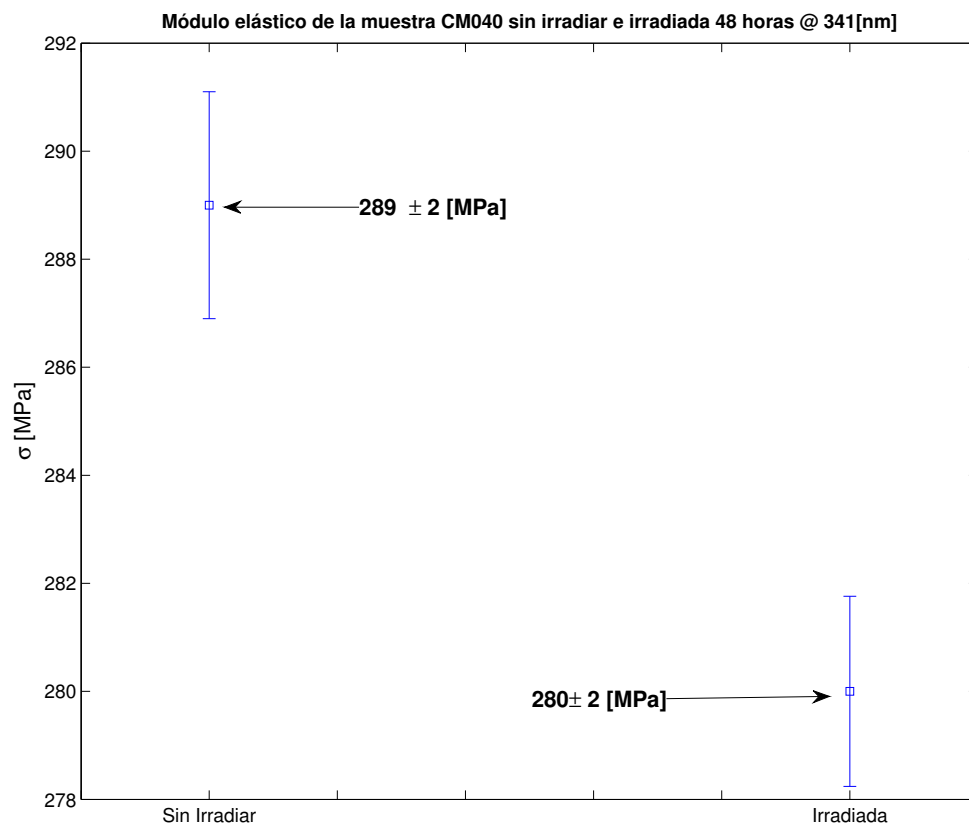


Figura 5.12: Gráfico de comparación del módulo elástico de la probeta CM040 sin irradiar e irradiada.

Capítulo 6

Discusión y Conclusión

De los resultados mostrados en el capítulo anterior se puede inferir lo siguiente:

- La medición del módulo elástico de la membrana cuticular del tomate a humedad ambiental sin irradiar es de $(2,7 \pm 1,5) \times 10^8 [Pa]$ para varias muestras, en el caso de una probeta aleatoria en particular (CM040) el módulo elástico es de $(2,89 \times 10^8 \pm 2,15 \times 10^6) [Pa]$
- El módulo elástico varía en un 48,15 % cuando la membrana cuticular es embebida en agua.
- Al someter las cutículas a radiación Ultra Violeta de manera global, estas varían su módulo elástico promedio en 7,14 % en el caso de cutículas mojadas y en un 11,11 % en el caso de cutículas secas. Se obtiene también, un mejor resultado en el caso del ensayo no destructivo, donde se disminuye considerablemente el error de la medición, debido a la independencia de la dispersión en los espesores de las muestras. Este resultado arrojó un cambio en el módulo elástico de un 3,11 %.
- En el caso de probetas perforadas, se ve un decaimiento en el módulo elástico global, sin embargo, esto no es un cambio en la propiedad elástica de la membrana cuticular, sin un cambio en la sección transversal de la probeta, disminuyendo el área y por lo tanto, aumentando el esfuerzo de tracción bajo una misma fuerza. Esto se hizo justamente para estudiar el caso de las cutículas irradiadas localmente, debido a que este experimento simula un sector de la cutícula con módulo elástico nulo.

- Para las cutículas irradiadas localmente, no se observa un cambio en el modulo elástico en el ensayo ingeneril, sin embargo, se puede ver claramente un efecto local (gráfico 5.8) disminuyendo tanto el módulo elástico, como el esfuerzo de fractura, haciendo que en el análisis de seguimiento de partículas, exista una decorrelación en las imágenes debido a la ruptura local de la CM.
- El experimento no destructivo resultó ser un mejor método gracias a la disminución de los errores sistemáticos además de independizar la medida de las diferencias que existen entre las muestras (espesor, tamaño de celdas, etc.).

6.1. Conclusión

Se concluye que la radiación Ultra Violeta, en particular UVA (320-400[nm]), SI AFECTA LAS PROPIEDADES MECÁNICAS DE LA CUTICULA DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum*) disminuyendo su modulo elástico entre un 3,11 % a un 11,11 % cuando las dosis son del orden de $0,1295 [Wm^{-2}]$ durante un tiempo entre 48 a 72 [horas], lo que puede traer consecuencias en la calidad del producto final, y por consiguiente en su valor comercial.

6.2. Perspectivas

Este estudio propone como perspectivas de investigación lo siguiente:

- Estudiar el comportamiento mecánico de la CM, haciendo ataques con radiación UV mientras el tomate esta en sus distintas etapas de crecimiento en la planta, y así estudiar si el cambio en estas propiedades altera la forma del tomate maduro.
- Estudiar si el tomate vivo cuenta con los mecanismos para regenerar la cutícula y restaurar sus propiedades mecánicas.
- Desarrollar un método simple y rápido para medir el espesor de las probetas.
- Estudiar los mecanismos que tiene la cutícula para paliar los efectos de la radiación UV, ya sea fuoreciendo, dispersando la radiación, etc.

- Estudiar la dispersión de tamaños de las moléculas que componen la CM, para así analizar cuales serían las estructuras afectadas por las distintas longitudes de onda.

Apéndice A

Elasticidad

Para contextualizar el presente estudio, es necesario introducir ciertas nociones de elasticidad lineal, para ello, en esta sección, se mostrarán los conceptos básicos a utilizar en esta tesis.

A.1. Tensor de deformaciones

Se entiende como deformación efecto que produce un esfuerzo en un cuerpo antes de fracturarse, este efecto se traduce en un cambio de distancia entre los puntos que lo conforman. Se denomina \vec{r} al vector posición de un punto cualquiera del sólido respecto al origen, dicho vector puede estar expresado en cualquier tipo de coordenadas, donde el número de coordenadas dependerá de las dimensiones que interesan en el experimento. Luego de la deformación el vector posición del punto estará denotado por \vec{r}' , por lo que el vector de desplazamiento se denotará $\vec{u} = \vec{r}' - \vec{r}$, en términos de las coordenadas es:

$$u_i = x'_i - x_i \quad (\text{A.1})$$

Si tiene \vec{u} en función de las coordenadas, entonces la deformación del cuerpo queda completamente determinada.

Ahora si se plantea el vector que separa a dos puntos próximos en el cuerpo:

$$d\vec{l} = \sqrt{dx_1^2 + dx_2^2 + dx_3^2} \quad (\text{A.2})$$

que luego de la deformación resultará:

$$dl' = \sqrt{dx_1'^2 + dx_2'^2 + dx_3'^2} \quad (\text{A.3})$$

Usando la regla general para sumatorias, es decir, omitiendo los signos de suma sobre los índices vectoriales y tensoriales; por todo par de índices repetidos en una expresión dada, se entenderá, en todas partes, sumas sobre los valores 1,2 y 3 ¹. Se puede escribir:

$$dl^2 = dx_i^2 \quad (\text{A.4})$$

$$dl'^2 = dx_i'^2 = (dx_i + du_i)^2 \quad (\text{A.5})$$

Al sustituir $du_i = \frac{\partial u_i}{\partial x_k} dx_k$ resulta:

$$dl'^2 = dl^2 + 2 \frac{\partial u_i}{\partial x_k} dx_i dx_k + \frac{\partial u_i}{\partial x_k} \frac{\partial u_i}{\partial x_l} dx_k dx_l \quad (\text{A.6})$$

La sumatoria en el tercer término del segundo miembro de la expresión anterior se extiende sobre los subíndices i y k quedando:

$$\frac{\partial u_i}{\partial x_k} dx_i dx_k = \frac{\partial u_i}{\partial x_l} dx_i dx_k \quad (\text{A.7})$$

intercambiando los subíndices i y l en el tercer término, se obtiene la siguiente expresión para dl'^2 :

$$dl'^2 = dl^2 + 2u_{ik} dx_i dx_k \quad (\text{A.8})$$

Donde el tensor u_{ik} se define como

$$u_{ik} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_k}{\partial x_i} + \frac{\partial u_i}{\partial x_l} \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \right) \quad (\text{A.9})$$

Este tensor recibe el nombre de **tensor de deformación** y se trata de un tensor simétrico, es decir:

$$u_{ik} = u_{ki} \quad (\text{A.10})$$

Este tensor es diagonalizable en cualquier punto del sólido, es decir, sus valores fuera de la diagonal serán nulos, si se elige un sistema de ejes coordenados ad hoc (ejes principales del tensor). Los ejes principales se representan de la siguiente manera: $u_{ii} = u^{(i)}$.

Si el tensor de deformación está diagonalizado, en algún punto, el elemento de longitud en un punto muy próximo estará dado por:

$$dl'^2 = (\delta_{ik} + 2u_{ik} dx_i dx_k) = (1 + 2u^{(1)}) dx_1^2 + (1 + 2u^{(2)}) dx_2^2 + (1 + 2u^{(3)}) dx_3^2 \quad (\text{A.11})$$

¹En esta tesis se tratarán problemas de deformaciones en dos dimensiones, por lo que la suma puede ser sobre los valores 1 y 2

Como se observa en la expresión anterior, cada deformación es independiente de las otras dos deformaciones perpendiculares, ya que cada término es independiente de los otros dos. La longitud dx_i se convierte en $dx'_i = \sqrt{1 + 2u^{(i)}}dx_i$, por lo que $\sqrt{1 + 2u^{(i)}} - 1$ es el alargamiento relativo $\left(\frac{dx'_i - dx_i}{dx_i}\right)$ a lo largo del i -ésimo eje principal. Para pequeñas deformaciones, sin perder generalidad, los términos de segundo orden se desprecian, por lo que el tensor de deformación resulta:

$$u_{ik} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_k}{\partial x_i} \right). \quad (\text{A.12})$$

Las deformaciones relativas a lo largo de los ejes principales de tensor, una vez despreciados los términos de orden superior, resultan

$$\sqrt{1 + 2u^{(i)}} - 1 \approx u^{(i)} \quad (\text{A.13})$$

que son, directamente los valores principales del tensor u_{ik} .

Considerese un elemento de volumen infinitesimal dV antes de la deformación y otro dV' después de la deformación, eligiendo los ejes coordenados tales que el tensor de deformación es diagonal, por lo que

$$dV' = dV(1 + u^{(1)})(1 + u^{(2)})(1 + u^{(3)}) \quad (\text{A.14})$$

despreciando los términos de orden superior, se obtiene:

$$dV' = dV(1 + u^{(1)} + u^{(2)} + u^{(3)}) \quad (\text{A.15})$$

Como la traza de un tensor es invariante ante cambios de coordenadas, se puede escribir:

$$dV' = dV(1 + u_{ii}) \quad (\text{A.16})$$

y se cumple también que la traza de u_{ik} es igual al cambio relativo de volumen.

$$\frac{dV' - dV}{dV}. \quad (\text{A.17})$$

A.2. Tensor de tensiones

Junto con la deformación del cuerpo aparecen fuerzas restauradoras que buscan llevar al cuerpo a su estado de equilibrio inicial, sin embargo, también deben aparecer

fuerzas que logren anular la fuerza resultante, ya que el cuerpo en estado de deformación se encuentra en un nuevo equilibrio, en otras palabras, por cada fuerza restauradora, aparece una fuerza igual y en sentido contrario, efecto que produce las llamadas **tensiones internas**. Dichas tensiones se encuentran a nivel molecular, por lo que tienen un pequeñísimo radio de acción, ya que afectan solamente a la vecindad de la molécula en cuestión, y por lo tanto, dichas tensiones son del orden de un radio molecular. Por el contrario, la teoría de elasticidad, al ser una teoría macroscópica, solo considera distancias grandes comparadas con las distancias moleculares. El radio de acción de las fuerzas moleculares, será para la teoría de elasticidad, igual a cero, es decir, al centrarse en las tensiones de una molécula, dichas tensiones actuarán, a nivel macro, solo superficialmente.

Si se considera una fuerza total actuando sobre un elemento de volumen, se puede escribir dicha fuerza como $\int \vec{F} dV$, como se dijo anteriormente, las deformaciones en cada eje, eligiendo el sistema de referencia apropiado, son independientes unas de otras y por tanto también lo son las fuerzas que aparecen por éstas deformaciones. De lo anterior se puede escribir la fuerza en componentes $\int F_i dV$ y la fuerza resultante como una integral de superficie, ya que:

$$F_i = \frac{\partial \sigma_{ik}}{\partial x_{ik}} \quad (\text{A.18})$$

Así, la fuerza ejercida sobre cualquier volumen puede expresarse como una integral sobre toda la superficie que encierra el volumen ²:

$$\int F_i dV = \int \frac{\partial \sigma_{ik}}{\partial x_k} dV = \oint \sigma_{ik} df_k, \quad (\text{A.19})$$

donde df_i son las componentes del vector elemento de superficie $d\vec{f}$. Para determinar la fuerza total se debe integrar usando las coordenadas x'_i de los puntos del cuerpo deformado y correspondientemente en la expresión para F_i en A.18, también. Sin embargo, al considerar deformaciones pequeñas, las derivadas respecto de x_i y x'_i difieren solo en los términos de orden superior, por lo que sin cometer error, se pueden considerar las coordenadas x_i .

El tensor σ_{ik} recibe el nombre de **tensor de tensiones**. Como se muestra en la expresión A.19 $\sigma_{ik} df_k$ es la i -ésima componente de la fuerza que actúa sobre el elemento

²Teorema de Green

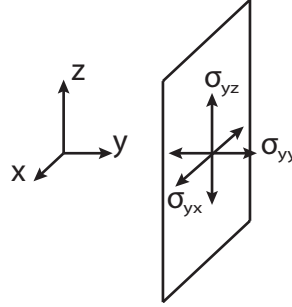


Figura A.1: Componentes del tensor de tensiones, relacionando la geometría con la notación establecida. Se muestra a lo largo del eje y los elementos σ_{yx} , σ_{yy} y σ_{yz} del tensor

de superficie $d\vec{f}$. tomando elementos de superficie en los planos xy , yz , zx , se observa aquí que la componente σ_{ik} del tensor de tensiones es la i -ésima componente de la fuerza que acta sobre la unidad de rea perpendicular al eje x_k . Por ejemplo, la fuerza sobre la unidad de rea perpendicular

Al respecto del signo de la fuerza $\sigma_{ik}df_k$, se debe aclarar que la integral de superficie A.19 es la fuerza que acta sobre el volumen encerrado en esa superficie, ejercido por las partes del cuerpo que lo rodean. Así como también, la fuerza que ejerce el volumen sobre dicha superficie es igual y de signo contrario, entonces la fuerza ejercida por las tensiones internas sobre toda la superficie del cuerpo es:

$$- \oint \sigma_{ik}df_k, \quad (\text{A.20})$$

donde la integral es sobre toda la superficie del cuerpo y $d\vec{f}$ tiene la dirección normal a la superficie y sentido hacia afuera del cuerpo.

A.3. Deformaciones longitudinales de placas

En este caso la deformacin tiene lugar en el mismo plano que define la placa, si la placa es suficientemente delgada, la deformación se considera uniforme en todo el espesor. El tensor de deformaciones, en este caso, es solo funcin de dos coordenadas (x e y si es que la placa se encuentra en este plano), las condiciones de borde son $\sigma_{ik}n_k = 0$, o bien:

$$\sigma_{xz} = \sigma_{yz} = \sigma_{zz} = 0. \quad (\text{A.21})$$

Apéndice B

Especificaciones Técnicas del LED341W UV-Top de Thorlabs

Part 2. Specifications for an LED341W

2.1. Electrical Specifications

	Typical	Maximum Ratings
Power Dissipation		150 mW
Reverse Voltage		6.0 V
DC Forward Current		20 mA
Forward Voltage @ 20 mA	5.5 V	7.5 V
Reverse Current $V_r = -5$ V		100 μ A
Pulsed Current (1 ms pulse with 1% duty cycle)		100 mA
Operating Temperature		-30 °C to 50 °C
Storage temperature Range		-30 °C to 100 °C

Note: All maximum measurements specified are at 25 °C.

2.2. Optical Specifications

	Typical
Center Wavelength	340 nm \pm 10 nm
FWHM	15 nm
Half Viewing Angle	60°
Total Optical Power	0.33 mW @ 20mA

Note: Peak center wavelength measurement tolerance is +/- 2 nm.

2.6. Typical Spectral Intensity Distribution

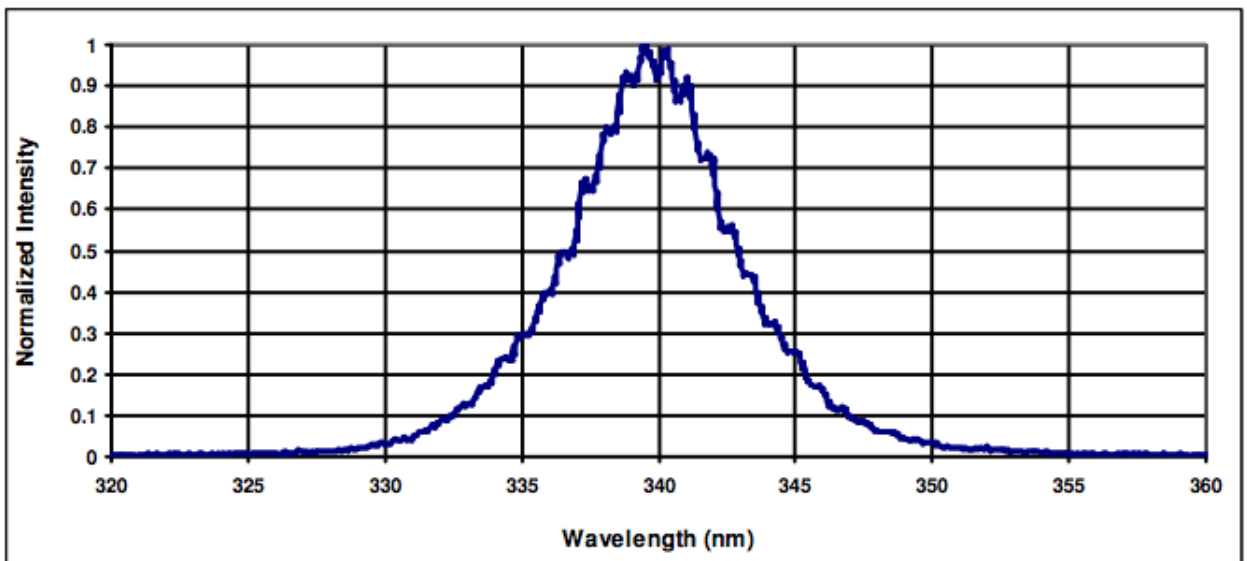


Figura B.1: Gráfico del espectro de emisión del LED341W

Bibliografía

- [1] A. K. Harris, P. Wild and D. Stopak, *Science* (1980), vol. 208, pp. 177
- [2] Armitage, D. A., et. al., *J. Chem. Educ.* (June 1973), vol. 50, pp. 434
- [3] Juliet Lee, Michelle Leonard, Tim Oliver, Akira Ishihara, and Ken Jacobson, Traction Forces Generated by Locomoting Keratocytes, *Journal of Cell Biology* (1994), vol. 127, pp. 1957-1964
- [4] Nathalie Q. Balaban, Ulrich S. Schwarz, Daniel Riveline, Polina Goichberg, Gila Tzur, Ilana Sabanay, Diana Mahalu, Sam Safran, Alexander Bershadsky, Lia Ad-dadi, and Benjamin Geiger, Force and focal adhesion assembly: a close relationship studied using elastic micropatterned substrates, *Nature Cell Biology* (2001), vol. 3, pp. 466-472
- [5] L.D. Landau and E. M. Lifshitz, volume 7, *Theory of Elasticity*, third edition, "Chapter 2: Equilibrium Equations", pp. 22
- [6] L.D. Landau and E. M. Lifshitz, volume 7, *Theory of Elasticity*, third edition, "Chapter 14: Deformación de placas", pp. 74
- [7] J-Ch. Géminard, R. Bernal and Francisco Melo, Wrinkle Formation in axi-symmetrically stretched membranes, *Eur. Phys. J. E.* (2004), vol. 15, pp. 117
- [8] Roberto Bernal, Chantal Tassius, Jean-Christophe Géminard, and Francisco Melo, Wrinkles Formation in Semi-Spherical Membranes, in preparation
- [9] Frank Jülicher, Force and Motion Generation of Molecular Motors: A Generic Description, arXiv:physics/9908054 v1 28 Aug 1999
- [10] Nobutaka Hirokawa, Cross-linker System between Neurofilaments, Microtubules, and Membranous Organelles in Frog Axons Revealed by the Quick-freeze, Deep-etching Method, *Journal of Cell Biology* (1982), vol. 94, pp. 129-142
- [11] B.J. Schnapp and T.S. Reese, Cytoplasmic Structure in Rapid-frozen Axons, *Journal of Cell Biology* (September 1982), vol. 94, pp. 667-679
- [12] T. J. Dennerll, H. C. Joshi, V. L. Steel, R. E. Buxbaum and S. R. Heidemann. Tension and Compression in the Cytoskeleton of PC-12 Neurites II: Quantitative Measurements. *The Journal of Cell Biology* (1988), vol. 107, pp. 665-674

- [13] P. Lamoureux, R. E. Buxbaum and S. R. Heidemann. Direct Evidence that Growth Cones Pull. *Nature* (1989), vol. 340, pp. 159-162
- [14] Timothy J. Dennerll, Phillip Lamoureux, Robert E. Buxbaum. And Steven R. Heidemann. The Cytomechanics of Axonal Elongation and Retraction. *The Journal of Cell Biology* (1989), vol. 109, pp. 3073-3083
- [15] Fridoom J. Ahmad, Jessica Hughey, Torsten Wittmann, Anthony Hyman, Marion Greaser and Peter W. Baas, Motor protein regulate force interaction between microtubules and microfilaments in the axon, *Nature Cell Biology* (2000), vol. 2, pp. 276-280
- [16] Peter W. Baas and Fridoom J. Ahmad, Force generation by cytoskeletal motor proteins as a regulator of axonal elongation and retraction, *TRENDS in Cell Biology* (2001), vol. 11 No 6, pp. 244-249
- [17] Jonathon Howard, *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*, “Chapter 3: Mass, Stiffness, and Damping of proteins”, pp. 39
- [18] Kensal E. van Holde, W. Curtis Johnson and P. Shing Ho, *Principles of Physical BioChemistry*, “Chapter 15: Chemical equilibria involving macromolecules”, pp. 587
- [19] Kazuo Obara, Koji Nobe, Hiromi Nobe, Michael S. Kolodney, Primal De Lanerolle and Richard J. Paul. Effects of Microtubules and Microfilaments on $[Ca^{2+}]_i$ and Contractility in a Reconstituted Fibroblast Fiber. *Am J Physiol Cell Physiol* (2000), vol. 279, C785-C796
- [20] L.D. Landau and E. M. Lifshitz, volume 7, *Theory of Elasticity*, third edition, “Chapter 20: Small deflections of rods”, pp. 76
- [21] L.D. Landau and E. M. Lifshitz, volume 6, *Fluid Mechanics*, second edition, “Chapter 11: The drag force in potential flow past a body”, pp. 26
- [22] J. Teichman and L. Mahadevan. The viscous catenary. *J. Fluid Mech.* (2003), vol. 478, pp. 71-80
- [23] Y.C. Fung, *Biomechanics*, second edition, “Chapter 9: Skeletal Muscle”, pp. 399