



Revista Iberoamericana de Tecnología

Postcosecha

ISSN: 1665-0204

rebasa@hmo.megared.net.mx

Asociación Iberoamericana de Tecnología

Postcosecha, S.C.

México

Pérez-Aparicio, Jesús; Zapata-Soberá, Luz; Lafuente-Rosales, Victoria; Toledano-Medina, M. Angeles
ALMACENAMIENTO DE NARANJAS cv. "Salustiana" Y cv. "Valencia" Y SU INFLUENCIA EN LA
CALIDAD DEL ZUMO (III)

Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 9, núm. 2, 2008, pp. 113-120

Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C.

Hermosillo, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81315076004>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ALMACENAMIENTO DE NARANJAS cv. "Salustiana" Y cv. "Valencia" Y SU INFLUENCIA EN LA CALIDAD DEL ZUMO (III)

Jesús, Pérez-Aparicio⁽¹⁾, Luz Zapata-Soberá⁽¹⁾, Victoria Lafuente-Rosales⁽¹⁾ y M. Angeles Toledano-Medina⁽¹⁾

(1) IFAPA Centro de Palma del Río, Avda. Félix Rodríguez de la Fuente s/ n, 14700 Córdoba, España , jesus.perez.aparicio@iuntaandalucia.es Tfno: 957719684, Fax:957719695

Palabras clave: zumo de naranja-atmósfera controlada-almacenamiento prolongado

RESUMEN

Dos variedades de naranja, var. "Salustiana" y var. "Valencia", se conservaron en distintas condiciones de temperatura (T^a), humedad relativa (HR), y atmósfera controlada (AC). Las naranjas var. "Salustiana" se mantuvieron durante 93 días en tres cámaras frigoríficas en las siguientes condiciones: ~4°C-70%RH-4%O₂-2,5%CO₂, ~6°C-~85%RH-21%O₂-4%CO₂, ~4°C-~85%RH-21%O₂-4%CO₂. Las naranjas var. "Valencia" se mantuvieron en tres cámaras frigoríficas durante 154 días en cajas de tamaño industrial empleando las siguientes condiciones de T^a, HR y AC: ~3°C-~85%RH-21%O₂-2,5%CO₂, ~3°C-~85%RH-21%O₂-0,6%CO₂, y ~3°C-~85%RH-21%O₂-1%CO₂. En esta nueva experiencia el porcentaje de CO₂ fue reduciéndose a lo largo del periodo de conservación. Durante el almacenamiento el zumo exprimido en una industria de zumo procedente de las diferentes muestras se analizó para determinación de sólidos solubles, acidez, rendimiento y diferencia de color. Los sólidos solubles disminuyeron a HR bajas y la acidez disminuyó con cambios bruscos y continuos de los niveles de CO₂. El rendimiento fue menor al final del periodo de almacenamiento y la diferencia de color aumentó conforme se prolongaba la conservación. Se presentan resultados de ambas experiencias.

STORAGE OF cv. "Salustiana" AND cv. "Valencia" ORANGES AND ITS INFLUENCE ON THE JUICE QUALITY

Keywords: orange juice – controlled atmosphere – long-term storage

ABSTRACT

Two types of orange, cv "Salustiana" and cv "Valencia", were stored under different temperature (T), relative humidity (RH), and controlled atmosphere (CA) conditions. "Salustiana" oranges were stored in three cold store rooms during 93 days under the following conditions: ~4°C-70%RH-4%O₂-2,5%CO₂, ~6°C-~85%RH-21%O₂-4%CO₂, and ~4°C-~85%RH-21%O₂-4%CO₂. "Valencia" oranges were stored in three cold store rooms during 154 days into industrial type of boxes under new cold storage (T, RH, CA) conditions: ~3°C-~85%RH-21%O₂-2,5%CO₂, ~3°C-~85%RH-21%O₂-0,6%CO₂, and ~3°C-~85%RH-21%O₂-1%CO₂. In this new model the percentage of CO₂ was decreased during the storage. During the storage each sample was squeezed in a juice industry where brix degrees, acidity, orange yield for juice and difference of color were determined. Soluble solids decreased under low-level RH and the acidity decreased with suddenly changes in the concentration of CO₂. The orange yield for juice was lesser at the end of the storage and the difference of color increased during the storage. The results from both works are showed.

INTRODUCCIÓN

La naranja dulce es un fruto no climatérico y por consiguiente durante la maduración y senescencia su tasa de respiración y niveles de producción de etileno son bajos. El momento de recolección condiciona por tanto su vida útil y calidad final (Kader, 1999) con cambios en la coloración, pérdida de firmeza, aumento de la concentración de azúcares, descenso de almidón, reducción de acidez libre y otros cambios físicos y químicos. Estos fenómenos se pueden evitar durante períodos de tiempo variables con el control de la temperatura, humedad y composición atmosférica de la cámara frigorífica.

El almacenamiento en atmósfera controlada puede reducir la tasa de respiración prolongando la duración del almacenamiento.

Niveles altos de CO₂ reducen el desarrollo de microorganismos por su carácter fungistático y protegen de la alteración por frío. Según Arpaia y Kader (2006), concentraciones del 10% de CO₂ han resultado eficaces en el control fúngico aunque no suelen ser aplicadas porque generan mal sabor en el zumo de naranja debido a metabolitos de la fermentación. Otro efecto provocado cuando se aumenta la concentración de CO₂ es la pérdida de ácido ascórbico y retención de vitamina A (Thompson, 2003). También se asocian cantidades altas de CO₂ con una mayor retención de acidez en la fruta en períodos largos de almacenamiento (Kays, 1991). A su vez niveles bajos de O₂ reducen la actividad metabólica del fruto y retardan los fenómenos de senescencia. Kader y col. (1989) recomendaron concentraciones del 5% de CO₂ y del 15% de O₂ en naranjas *Valencia*. Existen numerosos estudios de conservación con naranjas. Abad *et al.* (2003) almacenaron naranjas de la variedad Navel Powell a 5°C durante 30 y 45 días, y Delta y Midnight a 5°C durante 60 días con una semana adicional a 20°C sin obtener alteraciones por frío aunque sí perdida de firmeza, incremento en la producción de etanol y descenso en la acidez del zumo. Los sólidos solubles aumentaron en

cv. Delta y permanecieron constantes en las restantes variedades.

En estudios recientes se aplican períodos de almacenamiento combinados a diferentes temperaturas bien para reducir efectos indeseables en la piel del fruto (daño por frío) o bien para aumentar la calidad del zumo.

Meier *et al.* (2004), compararon dos tipos de conservación y determinaron cantidades de etanol y acetaldehído como indicadores de calidad de la fruta. Almacenaron naranjas *Valencia* a 2°C durante 60 días sin preacondicionar y con acondicionamientos previos a 36°C durante 24 y 48 horas seguido de 5°C durante 30 días. Posteriormente simularon la comercialización de los frutos a 20°C, 7 días. La cantidad de etanol y envejecimiento del fruto fue menor en las naranjas almacenadas a 2°C sin acondicionamiento. Martínez-Jávega (2004) preacondicionó naranjas a temperaturas entre 34-36°C reduciendo las alteraciones debidas al frío pero los niveles de etanol en el jugo de la naranja aumentaron proporcionando mal sabor y olor desgradable al fruto. Schirra *et al.* (2004) almacenaron naranjas de pulpa roja 40 días en frío (1°C y 90-95% de HR) precedidos de: a.- almacenamiento a 8°C, 3 semanas; b.- baño previo de agua caliente (50°C/3 minutos); c.- corrientes de aire caliente a 37°C/48 horas. Tras este periodo las naranjas se sometieron a 20°C durante semana. El tratamiento de cuarentena en frío mató huevos y larvas procedentes del campo. Sin embargo, se observaron daños por frío, restando calidad al fruto. La aplicación de acondicionados previos con calor (b y c) redujeron los niveles de daño por frío y enfermedades durante el periodo post-cuarentena, pero la calidad de las naranjas disminuyó.

El objetivo de este estudio fue la obtención de información procedente de la conservación prolongada de naranjas de las variedades *Salustiana* y *Valencia* destinadas a la fabricación de zumo y su optimización utilizando diferentes condiciones de atmósfera controlada, temperatura y humedad. Se consideraron parámetros fisicoquímicos del zumo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó con dos variedades de naranja: "Salustiana" y "Valencia" recogidas en condiciones de madurez avanzada (Marzo de 2004 y Junio de 2005 respectivamente). Se procesaron en el IFAPA (Centro de Palma del Río) según el diagrama de flujo mostrado en la Figura 1. En ambos ensayos se siguió el mismo esquema de manipulado excepto la aplicación de cera, la cual no se realizó en el segundo ensayo.

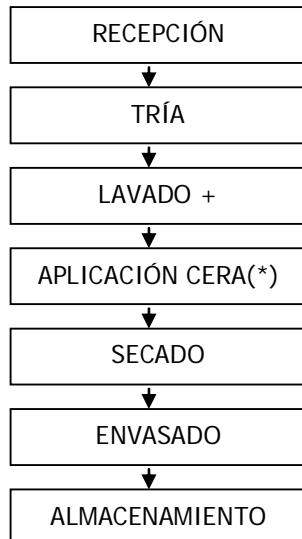


Figura 1. Diagrama de flujo de la manipulación de las naranjas. (*)La aplicación de cera sólo se realizó en el ensayo 1.

Las cajas utilizadas en ambos ensayos fueron diferentes: en el primero se emplearon cajas de polietileno (470x395x1470mm) colocadas en columnas de 12 y 14 cajas con la misma disposición en las cuatro cámaras frigoríficas utilizadas. Sin embargo en el segundo ensayo se emplearon cajas de tamaño industrial, con capacidad de 350 kg, dispuestos en columnas de a dos y con idéntica disposición en las cámaras (ver Figura 2). En ambos ensayos se usaron tres cámaras frigoríficas. El número de cajas por cámara frigorífica fue de 270 en el primer ensayo mientras que en el segundo ensayo cada cámara contenía 9 cajas subdivididas en celdas mediante mallas. En cada control la muestra obtenida era el contenido de una celda por caja.



Figura 2. Muestras apiladas en las cámaras frigoríficas

La atmósfera de cada cámara frigorífica se configuró utilizando sensores calibrados para volátiles orgánicos (C_2H_4O), O_2 y CO_2 . Para la determinación de volátiles orgánicos (C_2H_4O) se utilizó un transmisor *Dräger Polytron 2* con sensor de C_2H_4O , el CO_2 se controló con transmisor y detector *Dräger Politron IR CO₂* y el O_2 con transmisor *Dräger Polytron TX* con sensor tipo O_2 -LS. Los parámetros fijados en las cámaras en cada ensayo fueron los mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de las cámaras frigoríficas. Salustiana: C11-C13; Valencia: C21-C23. (*) El % de CO_2 fue disminuyendo durante el almacenamiento

Parámetros	C	C	C	C	C	C
	11	12	13	21	22	23
O_2 residual (%)	4	15	20	20	20	20
CO_2 residual (%)	3	3	3	2,5(*)	0,8(*)	1(*)
Temperatura (°C)	4	5	4	3	3	3
Humedad	90	90	95	90	90	90

Durante el periodo de conservación se realizaron 7 controles en el primer ensayo durante 93 días los días 0, 27, 43, 58, 72, 85 y 93 del almacenamiento y 8 controles durante 154 días los días 0, 27, 67, 89, 110, 125, 138 y 154 del almacenamiento en el segundo

ensayo. En el primer ensayo, por control se evaluaron 45 muestras (cajas) por cámara (3 cámaras = 135 muestras). En el segundo ensayo se evaluaron 9 muestras por cámara (3 cámaras = 27 muestras) y control. La extracción de las cajas fue aleatoria pudiendo proceder de cualquier posición en cada columna de cajas. Las muestras se llevaron a la industria Zumos Pascual S.A. donde se exprimieron y con el zumo obtenido se usaron los siguientes equipos: refractómetro digital ATAGO RX- 5000 para determinación de grados Brix, titrator CRISON v. 5 para determinación de acidez, y colorímetro QUEST HUNTER LAB.

Los datos se analizaron con MATLAB 6.1, *Statistical Toolbox*. Se obtuvieron los valores medios y el error típico de la media (ETM) agrupados por cámara frigorífica según la variable representada. La diferencia de color se calculó mediante la expresión del índice de diferencia de color (Luo y col. 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evolución de brix, acidez y colorimetría en el zumo obtenido de las muestras.

Las Figuras 3 (a-e) y 4 (a-e) muestran los niveles de CO₂ (a), O₂ (b), temperatura (c), humedad relativa (d), y C₂H₄O (e) en las 3 cámaras de ambos ensayos durante el periodo de estudio. La producción de volátiles orgánicos (C₂H₄O) se puede tomar de forma indirecta para conocer la respuesta de la fruta a las condiciones soportadas. Porat et al.

(1999) afirman que cantidades altas de etileno pueden provocar aumento de daños por frío, aumento de podredumbres y pérdidas o ausencia de sabor. Así niveles altos de volátiles orgánicos (C₂H₄O) correlacionan con situaciones de stress soportado por la fruta (Apelbaum y Yang, 1981; Morgan y Drew, 1997; Yang y Hoffman, 1984). La mayor producción de volátiles orgánicos obtenida en la cámara 1 (Figura 3 (e)) se explica porque estuvo sometida a un porcentaje muy bajo de HR (70%). Esto unido a la reducida concentración de O₂ pudo ser a su vez la causa de la estimulación y acumulación de volátiles orgánicos (acetaldehído, etanol y otros) en la cámara uno del primer ensayo coincidiendo con lo obtenido por otros autores (Pesis y

Avissar, 1989; Dangyang y Kader, 1990). Asimismo la Temperatura soportada (Figura 3(c)) también aumenta la transpiración y la producción de volátiles orgánicos lo que explica una mayor producción de volátiles (C₂H₄O) en la cámara 2 que en la cámara 3 reforzado a su vez por menores concentraciones de O₂ en aquella (15%). El mismo efecto se puede comprobar observando las alzas de temperatura en el gráfico (c) y su efecto en la producción de volátiles (C₂H₄O). Los picos y valles que muestran las gráficas (a) y (b) de la Figura 3 se corresponden con los controles realizados; al abrirse las cámaras para extraer las muestras las condiciones de atmósfera retornaban a valores de aire atmosférico. En el segundo ensayo con naranjas de variedad *Valencia* se optó por usar niveles decrecientes en la concentración de CO₂ en las tres cámaras como se muestra en el gráfico de la Figura 4 (a). Aunque no se encontraron experiencias similares con naranjas en peras y para evitar los efectos de pardeamiento de la pulpa por CO₂ es práctica utilizada (Holdsworth, 1988).

Los niveles de producción de volátiles orgánicos (C₂H₄O) fueron bajos en comparación a la experiencia anterior (Figura 4(e)). Además se utilizaron temperaturas muy bajas (0°C) en la cámara 1 durante un periodo amplio del almacenamiento (Figura 4 (c)).

La figura 5 (a-c) muestra los resultados obtenidos en el zumo de las muestras de cada cámara del ensayo 1 (*var. Salustiana*) y la Figura 6 (a-d) muestra los resultados obtenidos en el análisis del zumo del ensayo 2 (*var. Valencia*). El análisis de Brix en el primer ensayo al final del almacenamiento resultó entre 11,2 y 11,45 en las cámaras 2 y 4 siguiendo un perfil más o menos plano. La cámara 1 manifestó un acusado descenso en los 40 primeros días de almacenamiento y las diferencias se mantuvieron a lo largo del almacenamiento. Estos resultados se pueden explicar si consideramos la HR. Una HR muy baja (70%) de forma permanente parece provocar un descenso significativo en los grados Brix del zumo probablemente por colapso o necrosis celular. En cambio la temperatura podría explicar los resultados del control 3 (43 días) en la cámara tres ya que

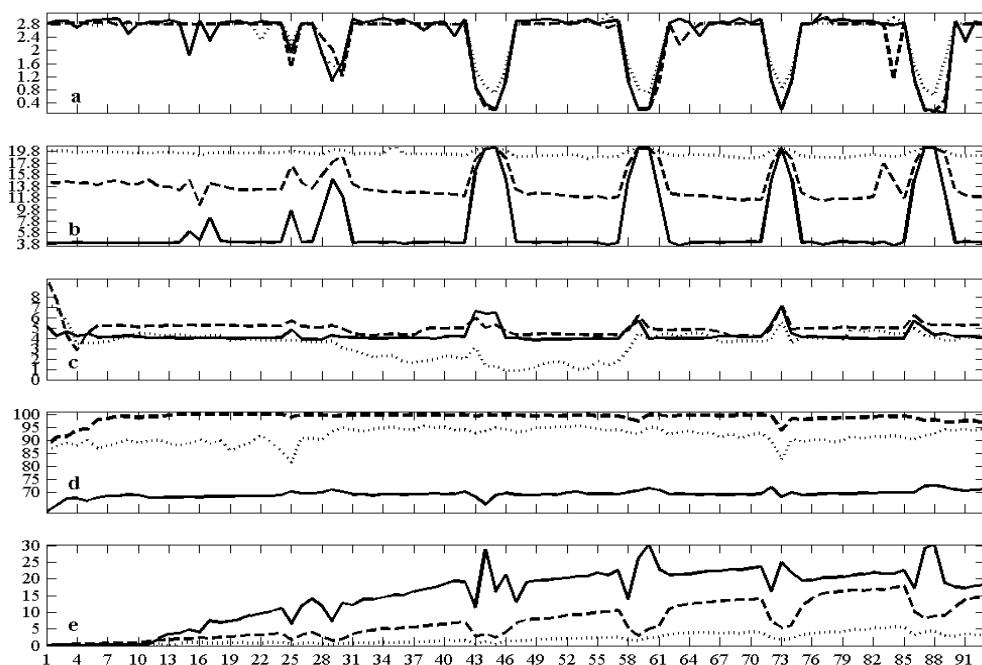


Figure 3. a: Porcentaje de CO₂; b: Porcentaje de O₂; c: de RH; e: Producción de C₂H₄O ($\mu\text{l}\cdot\text{l}^{-1}$); en las cámaras (1) —, (2) --- y (3) Los valores representan la media de las lecturas por día. Temperatura (°C); d: Porcentaje

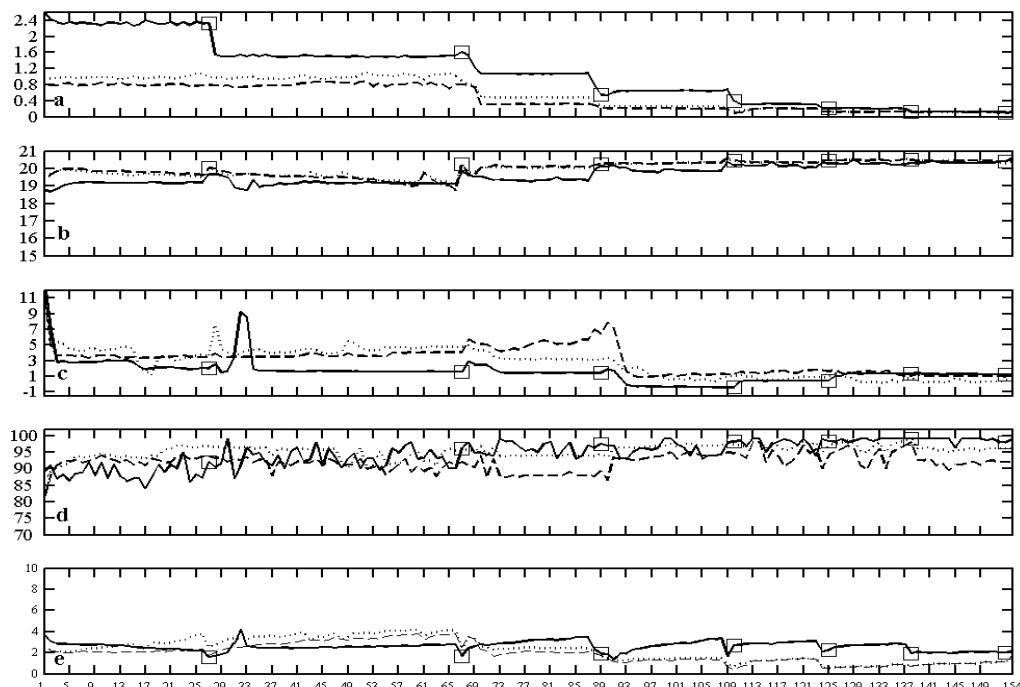


Figure 4. a: Porcentaje de CO₂; b: Porcentaje de O₂; c: Temperatura (°C); d: Porcentaje de RH; e: Producción de C₂H₄O ($\mu\text{l}\cdot\text{l}^{-1}$); en las cámaras (1) — (2) --- (3) Los valores representan la media de las lecturas por día.

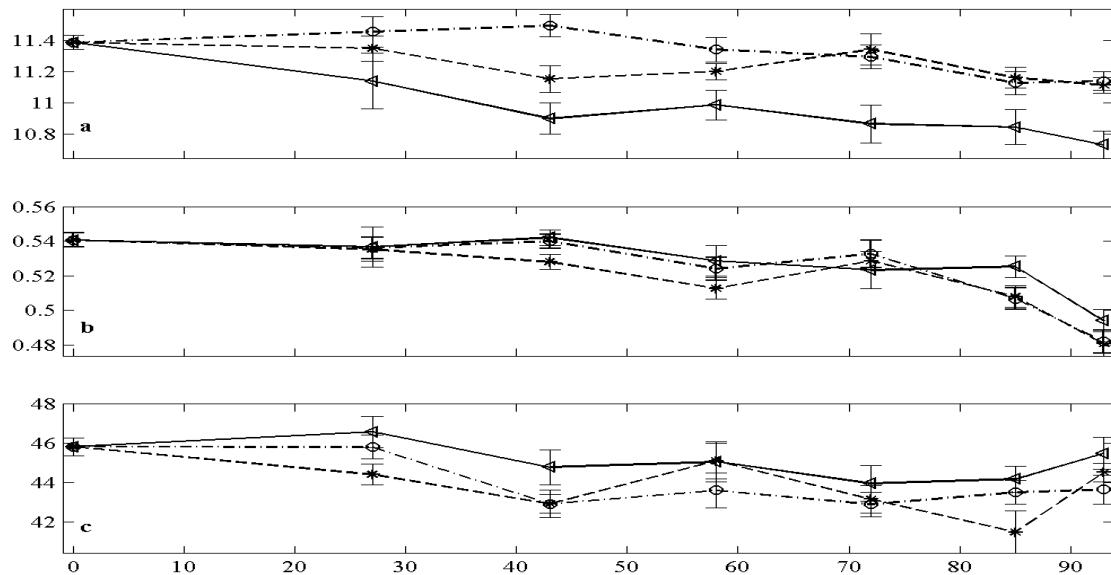


Figure 5.a: Sólidos solubles (^oBrix); **b:** Acidez; **c:** Rendimiento; en cámaras (1)◀— (2)*--- (3)○---. Los valores representados son media de 45 muestras ± ETM (error típico de la media).

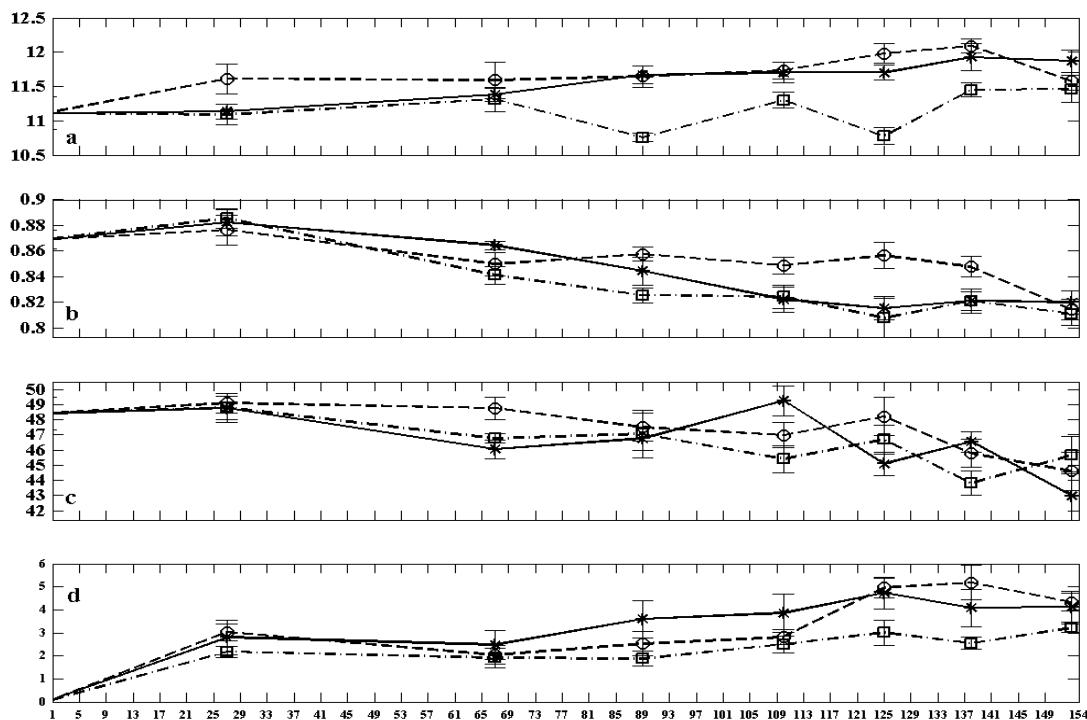


Figure 6.a: Sólidos solubles (^oBrix); **b:** Acidez; **c:** Rendimiento; **d:** Diferencia de color; en cámaras (1)◀— (2)*--- (3)○---. Los valores representados son media de 45 muestras ± ETM (error típico de la media).

según diferentes autores temperaturas bajas provocan subida en la concentración de sólidos solubles. Esta cámara sufrió un descenso significativo de temperatura y continuado desde el día 27 al 43. Este mecanismo podría responder a una respuesta defensiva al frío incrementando su tolerancia al mismo mediante un descenso en el punto de congelación (Levitt, 1980; Green 1983). Una hipótesis alternativa es formulada por otros autores que afirman que la acumulación de carbohidratos se debe a un efecto secundario a cambios metabólicos provocados por el frío (Tognelli *et al.*, 1990).

Los resultados en el segundo ensayo parecen completar esta posibilidad, en condiciones de temperatura muy baja en la cámara uno se explica el aumento en grados brix del zumo obtenido en los sucesivos controles durante el almacenamiento (ver Figura 6 (a)).

La acidez titrable de los zumos (ver Figuras 5 y 6 (b)) descendió en ambos ensayos realizados acorde a los resultados comúnmente obtenidos por otros autores aunque las cámaras mostraron una conducta desigual especialmente en el ensayo dos posiblemente debido a los cambios en el porcentaje de CO₂.

El rendimiento obtenido fue similar en todas las cámaras siguiendo un perfil evolutivo ligeramente en descenso hacia el final del periodo controlado. La diferencia de color de los zumos en el segundo ensayo aumentó con el tiempo almacenado especialmente en las cámaras 1 y 2 probablemente relacionado con el mayor contenido en sólidos solubles obtenido en el zumo de estas cámaras.

En el segundo ensayo se realizó un almacenamiento dirigido también a no generar malos sabores en el zumo, para ello se mantuvieron niveles atmosféricos de oxígeno residual y se adoptaron tres perfiles decrecientes de CO₂ en el tiempo. A pesar de la duración del almacenamiento (154 días) el zumo mantuvo niveles de brix crecientes y la acidez del zumo en la cámara 2 no descendió en exceso. Otros autores argumentan la influencia del CO₂ en la acidez del fruto

señalando aumentos en atmósferas ricas en CO₂. Los resultados obtenidos parecen mostrar nuevas pruebas a dicho concepto pues en el ensayo uno niveles constantes de CO₂ en todas las cámaras pudieron estar relacionados con la similitud en los perfiles de acidez del zumo. En el ensayo dos en cambio, la acidez del zumo fue significativamente distinta en las diferentes cámaras correspondiéndose con los niveles de CO₂ mantenidos en cada cámara. En esta ocasión descensos bruscos en los niveles de CO₂ parecieron relacionarse con descensos en la acidez del zumo.

CONCLUSIONES

La refrigeración en atmósfera modificada de naranjas para zumo durante largos períodos de tiempo puede ofrecer ventajas al fabricante, debiendo tener en cuenta la variedad de naranja utilizada y a un coste limitado si usa condiciones basadas en la concentración de CO₂.

El uso de cera, al tratarse de naranjas para fabricación de zumo puede obviarse no ofreciendo resultados superiores a su empleo, evitando además la migración de sabores extraños al jugo.

A concentraciones reducidas de O₂ (4%), durante períodos prolongados de tiempo (93 días) y HR excesivamente baja (70%) se origina un manchado intenso de color parduzco oscuro en el fruto. Los niveles de CO₂ afectan también a la acidez del zumo. Niveles altos y constantes de CO₂ mantienen la acidez del zumo. Descensos bruscos en la concentración de CO₂ reducen la acidez del zumo. A su vez los grados brix del zumo parecen relacionarse con la temperatura y la actividad metabólica del fruto o emisiones altas de volátiles.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por Grupo Leche Pascual S.A en el marco de un Convenio de I+D firmado con IFAPA el 1-III-2004, para el desarrollo del proyecto "Optimización del proceso de almacenamiento en cámara de naranjas frescas para su posterior procesado

para zumo". Los autores del presente trabajo expresan su más sincero agradecimiento a todos los que de alguna forma han participado en su consecución y especialmente a D. Marco Antonio Delgado, D. Víctor Garijo López, D. Juan Grau Romano, D. Carlos Hernando, D. Pablo Floriano, D. Enrique Moya y Dña. Matilde Carmona.

BIBLIOGRAFIA

- Abad, I., Martínez-Jávega, J.M., Salvador, A., Navarro, P. 2003. Aplicación de frío a nuevas variedades de mandarinas y naranjas. Levante Agrícola, especial postcosecha.
- Apelbaum, A., Yang, S.F., 1981. Biosíntesis of stress ethylene induced by water déficit. *Plant Physiol.* 68, 594-596.
- Arpaia, M.L.; Kader, A.A. 2006. Orange. Postharvest technology. University of California, Davis, CA.
- CIE. 1995. Technical report: Industrial colour-difference evaluation, CIE Pub. 116. Vienna: Central Bureau of the CIE.
- Dangyang, K., Kader, A.A. 1990. Tolerance of "Valencia" Oranges to controlled atmospheres, as determined by physiological responses and quality attributes.
- Green DG. 1983. Soluble sugar changes occurring during cold hardening of spring wheat, fall rye and alfalfa. *Canadian Journal of Plant Science.* 63: 415-420.
- Holdsworth, S.D. 1988. Conservación de Frutas y Hortalizas. Acribia, S.A. Zaragoza. 151 pp.
- Kader, A.A.; Zagory, D.; Kerbel, E.I. 1989. Modified atmosphere packaging of fruit and vegetables. *Food Science Nutritional.* 28(1). pp: 1-30.
- Kader, A.A. 1999. Fruit maturity, ripening and quality relationships. Proc. Int. Symp. On Effect of Pre- and Post Harvest Factors on Storage of Fruit.
- Kays, S. 1991. Posharvest physiology of perishable plant products. Reinhold, New York, Van Nstrand.
- Levitt J. 1980. Responses of plants to environmental stress. vol. I : Chilling, freezing and high temperature stress. New York: Academic Press.
- Luo, M. R., G. Cui, and B. Rigg. 2001. The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000. *Color Research and Application* 26: 340-350.
- Martínez-Jávega, J.M. 2004. Tratamientos postcosecha en mandarinas y naranjas. *Vida rural,* 11. pp: 60-64.
- Meier, G. E., Ponte, E., Vázquez, D. E. 2004. Contenido de acetaldehído y etanol en naranjas y mandarinas durante la postcosecha. *Ría,* 33 (1): 135-150. INTA.
- Morgan, P.W., Drew, M.C., 1997. Ethylene and plant responses to stress. *Plant Physiol.* 100, 620-630.
- Pesis, E., Avissar, I. 1989. The post-harvest quality of orange fruits as affected by pre-storage treatments with acetaldehyde vapour or anaerobic conditions. *J. Hort. Sci.* 64: 107-113.
- Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goren, R., Droby, S. 1999. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of "Shamouti" oranges. *Postharvest Biology and Technology,* 15, pp. 155-163.
- Schirra, M., Mulas, M., Fadda, A., Cauli, E. 2004. Cold quarantine responses of blood oranges to postharvest hot water and hot air treatments. *Postharvest Biology and Technology.,* 31, 191-200.
- Thompson, A.K. 2003. Almacenamiento en atmósfera controlada de frutas y hortalizas. Ed. Acribia S.A. 273 pp.
- Tognetti JA, Salerno GL, Crespi M, Pontis HG. 1990. Sucrose and fructan metabolism of different wheat cultivars at chilling temperatures. *Physiologia Plantarum IS:* 554-559.
- Yang, S.F., Hoffman, N.E., 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35, 155-189.