

Universidad Pública de Navarra
ESCUELA TECNICA SUPERIOR DE
INGENIEROS AGRONOMOS

Nafarroako Unibertsitate Publikoa
NEKAZARITZAKO INGENIARIEN GOI MAILAKO
ESKOLA TEKNIKOA



EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ATMÓSFERAS
MODIFICADAS EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ARAZÁ
(*Eugenia stipitata* McVaugh), NARANJILLA (*Solanum quitoense*
Lam.) Y TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.)

Presentado por
WILMA MARIBEL LLERENA SILVA
aurkeztua

MÁSTER EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD EN LAS INDUSTRIAS
AGROALIMENTARIAS

Junio, 2018 / *Urtea, hilabetea*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Pública de Navarra y cada uno de los profesores que fueron parte de esta experiencia, se ha convertido en una parte importante de mi formación académica y profesional.

A la Fundación Carolina y al Banco de Santander por su valioso aporte y todas las facilidades brindadas para mi estancia en la UPNA.

A la Universidad Técnica de Ambato y al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), por contribuir con gran parte del trabajo plasmado en esta memoria.

A Montse Navarro por su paciencia, generosidad y apoyo incondicional, ha sido muy grato trabajar bajo tu dirección. Personas como tú inspiran a continuar por el camino de la investigación...

A Iván Samaniego, que ha sido una parte importante de mi formación académica y profesional, porque gran parte de lo que soy profesionalmente se lo debo a Ud. Gracias infinitas por el apoyo y el tiempo dedicado a este trabajo.

A Ignacio Angós, por confiar siempre en mí, por tu amistad, tu generosidad y apoyo, otra parte de mi formación profesional te la debo a ti. Porque donde quiera que te encuentres sé que puedo contar contigo...

A Jessy, Jonathan, David, Melissa, Magali y Pedro porque este trabajo también lleva parte de su tiempo y esfuerzo.

A Víctor Otero infinitas gracias por todo el apoyo, sobre todo por tu amistad y por siempre darme ánimos.

A mi madre hermosa y a mi tía Fanny que con su amor me mantienen en pie día a día, gracias por darme el impulso para alcanzar todas mis metas.

A mi familia por el apoyo y las palabras de aliento...

A Mary, Maribel, Adry y Sergio por todas las experiencias compartidas, los voy a extrañar.

RESUMEN

Por su exquisito aroma y sabor, el arazá, naranjilla y tomate de árbol tienen un alto potencial de crecimiento en el mercado internacional. Para mantener su calidad, se emplearon tratamientos con atmósferas modificadas (AM) por ser efectivos para conservar fruta fresca. Sin embargo, se desconoce su efecto sobre la capacidad antioxidante (CA).

A partir de trabajos previos se escogieron las combinaciones gaseosas que mantuvieron de mejor manera los antioxidantes de estas frutas: en tomate de árbol 2,5/2,5% y 80/10% O₂/CO₂ y en arazá y naranjilla 2,5/5,0% O₂/CO₂. En estas cuatro muestras posteriormente se determinó la CA por ABTS y DPPH.

En ABTS se observó los valores más altos de CA respecto al DPPH. La capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) del arazá estuvo correlacionada con su contenido de flavonoides ($r > 0,8360$) y polifenoles ($r > 0,7252$). En naranjilla ($r > 0,8188$) y el tomate de árbol 2,5/2,5% O₂/CO₂ ($r > 0,7365$) los polifenoles y flavonoides presentaron correlaciones significativas con el DPPH. Por el contrario, el tomate de árbol 80/10% O₂/CO₂ mostró una mejor correlación ($r > 0,7259$) con la CA medida por ABTS.

A partir de un análisis de correlación canónica se pudo observar que los el contenido de polifenoles totales es el responsable de la CA de las tres frutas, mostrando correlaciones fuertes (0,9716) con la CA medida por DPPH.

Finalmente se pudo observar que los tratamientos con AM permiten mantener la CA de las tres frutas hasta el décimo día de ensayo, dentro de los valores obtenidos por otros autores.

Palabras clave: Contenido polifenólico, ABTS, DPPH, correlación, conservación de frutas frescas

ABSTRACT

For the exquisite aroma and flavor, the arazá, naranjilla and tamarillo have a high growth potential in the international market. To maintain its quality, treatments with modified atmospheres (AM) were used because it is effective in preserving fresh fruit. However, the effect on antioxidant capacity (CA) is unknown.

From previous work, the gaseous combinations that best maintained the antioxidants of these fruits were chosen: in tamarillo 2,5/2,5% and 80/10% O₂/CO₂ and in arazá and naranjilla 2,5/5,0% O₂/CO₂. In these four samples the CA was later determined by ABTS and DPPH methods.

In ABTS, the highest CA values were observed with respect to DPPH. The antioxidant capacity (ABTS and DPPH) of the arazá was correlated with flavonoid ($r > 0,8360$) and polyphenols ($r > 0,7252$) contents. In naranjilla ($r > 0,8188$) and tamarillo 2,5/ 2,5% O₂ / CO₂ ($r > 0,7365$) polyphenols and flavonoids showed significant correlations with DPPH. In contrast, the tamarillo 80/10% O₂/CO₂ showed a better correlation ($r > 0,7259$) with the CA measured by ABTS.

From a canonical correlation analysis it was observed that the polyphenols are the antioxidants responsible for the CA of the three fruits, showing strong correlations (0.9716) with the CA measured by DPPH.

Finally, it was observed that the treatments with AM allow maintaining the CA of the three fruits until the 10 days of analysis, similar values were obtained by other authors.

Keywords: polyphenolic content, ABTS, DPPH, correlation, conservation of fresh fruits.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Páginas
AGRADECIMIENTOS	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
CAPITULO I. ANTECEDENTES	1
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Arazá	1
1.2. Naranja	1
1.3. Tomate de árbol.....	2
1.4. Factores que afectan a la calidad de la fruta.....	2
1.4.1. Factores ambientales y condiciones del cultivo.....	2
1.4.2. Cosecha o recolección	3
1.4.3. Índice de madurez.....	3
1.4.4. Postcosecha	5
1.5. Conservación de frutas frescas	6
1.5.1. Atmósferas modificadas	6
1.6. Capacidad antioxidante	7
1.6.1. Capacidad antioxidante ABTS	8
1.6.2. Capacidad antioxidante DPPH.....	8
CAPÍTULO II. OBJETIVOS	10
2. Objetivo General	10
2.1.1. Objetivos Específicos	10
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3. MATERIALES	11
3.1. Materia prima	11

3.2. Aplicación de atmósferas modificadas	11
3.3. Preparación de la muestra	11
4. MÉTODOS	12
4.1. Extracción	12
4.2. Capacidad antioxidante	12
4.2.1. Validación de los métodos	12
4.2.2. Cuantificación	14
4.3. Análisis estadístico	15
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
5. RESULTADOS	17
5.1. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS	17
5.1.1. Linealidad	17
5.1.2. Límites de detección y cuantificación	18
5.1.3. Exactitud	19
5.1.4. Precisión	20
5.2. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	21
5.2.1. Arazá	21
5.2.2. Naranjilla	23
5.2.3. Tomate de árbol	25
5.2.4. Correlaciones canónicas	29
5.2.5. Capacidad antioxidante por porción comestible de fruta	32
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	34
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas de arazá (<i>Eugenia stipitata</i> McVaugh) clon 003 cultivado en el cantón El Coca (Orellana, Ecuador)	3
Tabla 2. Características fisicoquímicas de naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> Lam.) variedad INIAP Quitoense 2009 cultivada en el cantón El Chaco (Napo, Ecuador)	4
Tabla 3. Características fisicoquímicas de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav.) variedad mora ecuatoriano cultivada en el cantón Patate (Tungurahua, Ecuador).....	5
Tabla 4. Evaluación de regresión lineal de las curvas de calibración de Trolox para la validación de los métodos de capacidad antioxidante por ABTS y DPPH.	17
Tabla 5. Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC) de la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH.	18
Tabla 6. Resultados del estudio de precisión de los métodos para la determinación de capacidad antioxidante en muestra liofilizada de pulpa de arazá, naranjilla y tomate de árbol.....	20
Tabla 7. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de arazá almacenado en atmósfera modificada 2,5/5,0% O ₂ /CO ₂	23
Tabla 8. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de naranjilla almacenada en atmósfera modificada 2,5/5,0% O ₂ /CO ₂	25
Tabla 9. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de tomate de árbol almacenado en atmósfera modificada 2,5/2,5% O ₂ /CO ₂	26
Tabla 10. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de tomate de árbol almacenado en atmósfera modificada 80/10% O ₂ /CO ₂	28
Tabla 11. Capacidad antioxidante expresada en mg de Trolox•100g ⁻¹ (BH) de porción comestible de arazá, tomate de árbol y naranjilla conservados en atmósferas modificadas.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico).....	8
Figura 2. Principio de medición de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.....	9
Figura 3. Trompeta de Horwitz.....	14
Figura 4. Curvas de calibración promedio para la determinación de la capacidad antioxidante por ABTS (A) y DPPH (B).....	18
Figura 5. Recuperación de los componentes bioactivos responsables de la capacidad antioxidante por ABTS (A, C, E) y DPPH (B, D, F) en muestras liofilizadas de arazá (■, barras color verde), naranjilla (■, barras color amarillo) y tomate de árbol (■, barras color rojo) en función de los ciclos de extracción	19
Figura 6. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (2,5/5,0% O ₂ /CO ₂) en la capacidad antioxidante de arazá por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (▲) y control (Δ).	21
Figura 7. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (2,5/5,0% O ₂ /CO ₂) en la capacidad antioxidante de naranjilla por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (◆) y control (◇).	24
Figura 8. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (2,5/2,5% O ₂ /CO ₂) en la capacidad antioxidante de tomate de árbol por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (●) y control (○).	26
Figura 9. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (80/10% O ₂ /CO ₂) en la capacidad antioxidante de tomate de árbol por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (■) y control (□).	27
Figura 10. Análisis de correlación canónica entre la capacidad antioxidante medida por ABTS y DPPH y el contenido fenólico total de arazá, naranjilla y tomate de árbol	29

CAPITULO I. ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES

Las frutas exóticas ecuatorianas tienen un alto potencial de crecimiento en el mercado internacional (Asia, Europa y Estados Unidos) debido a su exquisito aroma y sabor diferenciado (PROEcuador, 2014). En Ecuador y otros países productores el valor económico de arazá, naranjilla y tomate de árbol son limitados, puesto que son raramente exportados y la mayor parte de la producción se destina al consumo local (Fernández-Trujillo *et al.*, 2011; Schotsmans, 2011)

1.1. Arazá

El arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), presenta dos subespecies *Stipitata* (Brasil, Ecuador y Perú) y *Sosoria* (Perú). Se desarrolla en suelos con buen drenaje, francos, profundos y ácidos (pH de 4,5 a 5,5). Requiere de un clima con temperaturas entre 18 y 30 °C y precipitaciones pluviales de 1500 a 4000 mm·año⁻¹ (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), 2014). En Ecuador, la mayor parte de su cultivo se realiza de forma silvestre sin fines comerciales.

El fruto es una baya carnosas de forma esférica (4 - 12 cm de diámetro), está cubierto de una fina pubescencia y es de color amarillo cuando alcanza la madurez organoléptica. El peso varía de 100 a 200 g, con un rendimiento promedio del 60 % (Hernández *et al.*, 2009). La pulpa del arazá es de color amarillo, ácida y de acuerdo a varios estudios es una excelente fuente de compuestos bioactivos capaces de proteger al cuerpo del daño causado por el estrés oxidativo. Estos compuestos son las vitaminas C y E, terpenos volátiles y polifenoles (Neri-Numa *et al.*, 2013).

1.2. Naranjilla

La Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) es una fruta nativa del trópico Andino, en Ecuador se cultiva entre los 1200 y 2300 m.s.n.m a temperaturas entre 16 y 22 °C con una humedad relativa superior al 80 %. Para su cultivo requiere de suelos ricos en materia orgánica franco-arenosos o franco-arcillosos (pH: 5,5 - 6,5) (Acosta *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2016).

En las primeras etapas de desarrollo del fruto, la corteza es de color verde y está cubierta de "espinas". Cuando alcanza la madurez fisiológica la piel del fruto se limpia y adquiere un color naranja. Las variedades nativas y los híbridos mejorados como la variedad INIAP-Quitoense 2009 se caracterizan por el color

verde de su pulpa; sin embargo, el híbrido mejorado presenta bajos niveles oxidativos y sabor agridulce (Silva *et al.*, 2016). La naranjilla es fuente de minerales, vitamina C, carotenoides (β -caroteno, luteína y zeaxantina), estos compuestos contribuyen en la prevención de enfermedades degenerativas (Acosta *et al.*, 2009).

1.3. Tomate de árbol

El tomate de árbol o tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) es una especie subtropical originaria de los Andes. En Ecuador se cultiva en climas templados y fríos (16 a 22 °C) de la región andina (1100 - 2300 m.s.n.m.). Para su cultivo requiere de suelos fértiles con buen drenaje (Riofrío, 2010).

El tomate de árbol tiene forma ovoide o elipsoide (puntiagudo), piel lisa y dependiendo de la variedad el color de piel y pulpa pueden ser: rojas, amarillas y moradas (Osorio *et al.*, 2012; Schotsmans, 2011). El fruto de la variedad Mora Ecuatoriana es ovalado (4,6 y 7 cm de diámetro y de 5,5 a 8 cm de longitud) tiene piel roja oscura, pulpa amarilla y semillas de color rojo oscuro (Espin *et al.*, 2016). La pulpa es ácida (pH 3,5) y dulce (9,4 a 13,6 °Brix) (Schotsmans, 2011). El tomate de árbol es rico en antocianinas, ácidos hidroxicinámicos, y carotenoides (Espin *et al.*, 2016).

1.4. Factores que afectan a la calidad de la fruta

Los procesos de cosecha y postcosecha realizados en forma inadecuada generan pérdidas de hasta un 50% de la producción, por presencia de lesiones mecánicas y físicas (Gonzalez-Aguilera *et al.*, 2010; Schotsmans, 2011) debido a diversos factores que afectan su calidad como se detalla a continuación:

1.4.1. Factores ambientales y condiciones del cultivo

Los factores ambientales son factores precosecha que condicionan las condiciones de desarrollo y el comportamiento postcosecha del fruto. La temperatura de crecimiento, la luz, la humedad del aire y las condiciones de cultivo están estrechamente relacionados con el desarrollo del fruto, la duración del ciclo celular, la fotosíntesis y la respiración (Benkeblia *et al.*, 2011). Estos factores van a influir en la respuesta de estos frutos a temperaturas altas y bajas después de la cosecha y en el almacenamiento. Por lo que, son responsables de desórdenes fisiológicos como: escaldaduras, oscurecimiento del fruto, daño por frío, marchitamiento y maduración no uniforme (Kader y Yania, 2011).

1.4.2. Cosecha o recolección

La recolección de la fruta debe realizarse en las primeras horas del día, no es recomendable cosechar en días lluviosos o muy soleados ya que provoca daños como ablandamiento, rajaduras, fermentación, deterioro por hongos y deshidratación.

El arazá, la naranjilla y el tomate de árbol se recolectan de forma manual, empleando tijeras de podar para cortar el pedúnculo, sin quitar el cáliz. Esta práctica evita la deshidratación y el ingreso de patógenos por la base del fruto, retrasando el deterioro y la senescencia (Brito *et al.*, 2012).

1.4.3. Índice de madurez

El índice de madurez (IM) tiene gran influencia sobre el comportamiento postcosecha, si las frutas son recolectadas antes o después de su punto óptimo son más propensas a daños fisiológicos. Antes de la madurez fisiológica son susceptibles a daño mecánico y carecen de sabor, aroma y color. Por el contrario, las frutas excesivamente maduras pierden firmeza por deshidratación y tienden a fermentar. A nivel comercial, el IM se determina en función de la distancia entre el punto de recolección y el centro de acopio (Kader y Yania, 2011). El arazá debe recolectarse a partir de los 35 a 38 días desde el cuajado del fruto en estado de madurez grado 3 y 4 o pintón (Mena, 2010), cuando el fruto presenta las características fisicoquímicas detalladas en la Tabla 1.










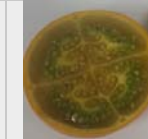
Tabla 1. Características fisicoquímicas de arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) clon 003 cultivado en el cantón El Coca (Orellana, Ecuador)

Parámetro fisicoquímicos	ESTADOS DE MADUREZ		
	VERDE	PINTÓN	MADURO
			
Peso (g)	91,01 ± 7,76	119,11 ± 36,26	102,35 ± 18,09
Longitud (cm)	5,62 ± 0,26	6,04 ± 0,70	5,54 ± 0,34
Diámetro (cm)	6,00 ± 0,17	6,60 ± 0,87	6,77 ± 0,32
Firmeza (N)	4,00 ± 0,24	3,00 ± 0,29	1,79 ± 0,42
Luminosidad (L*)	39,14 ± 2,27	47,06 ± 4,10	47,15 ± 6,14
Tono (h°)	43,14 ± 2,13	55,47 ± 5,04	55,65 ± 10,64
Croma (C*)	108,54 ± 1,20	98,08 ± 2,93	87,91 ± 3,77
pH	3,10 ± 1,18	3,09 ± 0,10	3,40 ± 0,56
Sólidos solubles	4,38 ± 0,47	4,39 ± 0,31	5,12 ± 1,08
Acidez titulable	2,80 ± 0,32	2,81 ± 0,38	2,36 ± 0,38
Índice de madurez	1,60 ± 0,09	1,60 ± 0,14	2,20 ± 0,72

Fuente: Sánchez (2017)

La naranjilla se cosecha en estado de madurez grado 3 (Tabla 2), cuando ha alcanzado el 50 % de su color amarillo (Brito *et al.*, 2012).







Tabla 2. Características fisicoquímicas de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) variedad INIAP Quitoense 2009 cultivada en el cantón El Chaco (Napó, Ecuador)

PARÁMETRO FISICOQUÍMICOS	ESTADOS DE MADUREZ				
	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4	GRADO 5
					
					
Peso (g)	76,41 ± 26,89	93,42 ± 18,55	106,72 ± 27,06	127,52 ± 16,3	139,83 ± 48,1
Longitud (cm)	4,80 ± 0,68	5,01 ± 0,55	5,42 ± 0,54	5,62 ± 0,32	5,90 ± 0,84
Diámetro (cm)	4,89 ± 0,73	5,42 ± 0,32	5,69 ± 0,52	6,00 ± 0,22	6,37 ± 0,75
Firmeza (N)	20,71 ± 1,67	18,89 ± 1,73	19,70 ± 1,41	17,85 ± 1,39	17,57 ± 0,95
Luminosidad (L*)	25,63 ± 2,47	33,23 ± 1,46	50,65 ± 1,06	54,06 ± 1,28	54,77 ± 0,51
Tono (h°)	34,80 ± 3,67	56,87 ± 2,33	87,41 ± 1,72	93,26 ± 2,12	81,23 ± 11,07
Croma (C*)	108,68 ± 4,01	101,71 ± 0,77	78,23 ± 1,5	72,91 ± 1,29	64,41 ± 1,34
pH	3,94 ± 0,03	3,80 ± 0,04	3,73 ± 0,1	3,91 ± 0,06	4,16 ± 0,07
Sólidos solubles	6,12 ± 0,66	7,74 ± 0,17	7,84 ± 0,51	7,46 ± 0,76	8,70 ± 0,42
Acidez titulable	1,72 ± 0,20	1,88 ± 0,09	2,13 ± 0,37	2,40 ± 0,09	2,46 ± 0,13
Índice de madurez	3,57 ± 0,38	4,12 ± 0,25	3,77 ± 0,62	3,10 ± 0,31	3,54 ± 0,25

Fuente: Guevara (2017)

De acuerdo a la normativa ecuatoriana NTE INEN 1909: 2009 (2009), el tomate de árbol se recolecta cuando alcanza la madurez fisiológica (maduro) a partir de un IM grado 5 y 6 (Tabla 3).

Tabla 3. Características fisicoquímicas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) variedad mora ecuatoriano cultivada en el cantón Patate (Tungurahua, Ecuador)

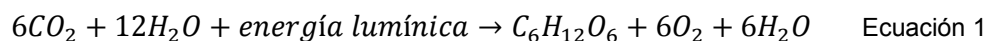
Parámetro fisicoquímicos	ESTADOS DE MADUREZ		
	VERDE	PINTÓN	MADURO
			
			
Peso (g)	96,96 ± 16,92	105,74 ± 22,02	152,25 ± 18,82
Longitud (cm)	6,80 ± 0,72	7,14 ± 0,46	8,54 ± 0,23
Diámetro (cm)	5,37 ± 0,44	5,50 ± 0,34	6,26 ± 0,23
Firmeza (N)	22,33 ± 4,85	17,17 ± 4,63	15,65 ± 4,15
Luminosidad (L*)	41,14 ± 7,86	31,28 ± 8,24	20,55 ± 6,67
Tono (h°)	31,68 ± 7,71	49,58 ± 8,51	49,78 ± 6,75
Croma (C*)	90,86 ± 12,72	44,53 ± 8,92	36,66 ± 9,85
pH	3,59 ± 0,19	3,57 ± 0,11	3,48 ± 0,08
Sólidos solubles	6,89 ± 1,15	10,11 ± 1,40	11,07 ± 0,98
AT (% ácido cítrico)	1,23 ± 0,17	1,59 ± 0,07	1,88 ± 0,07
IM (SST/AT)	5,42 ± 1,07	6,54 ± 0,63	5,88 ± 0,40

Fuente: Alcocer Pérez (2018)

1.4.4. Postcosecha

La tecnología postcosecha busca optimizar la calidad y reducir las pérdidas en frutas frescas. Después de la recolección, se detienen los procesos fotosintéticos y continúan los procesos metabólicos asociados a la respiración, obteniendo así la energía necesaria para llevar a cabo sus procesos bioquímicos (Kader y Yania, 2011; Schotsmans, 2011).

Durante la respiración aeróbica se produce la descomposición oxidativa (Ecuación 1) de las reservas orgánicas (hidratos de carbono, lípidos y ácidos orgánicos) de la fruta en moléculas de CO₂ y agua, con liberación de energía (Fonseca *et al.*, 2002).



La oxidación de la glucosa, conduce a dos rutas metabólicas de la respiración: la glucólisis y la respiración celular. En las células eucariotas, la glucólisis ocurre en el citoplasma y la respiración (ciclo de Krebs y transporte de electrones) en la mitocondria (Fonseca *et al.*, 2002).

El cambio en la intensidad respiratoria ocurre desde el crecimiento hasta la senescencia. La tasa respiratoria indica la rapidez con la cual se producen los cambios en la composición química de las frutas frescas y se expresa como la

concentración de oxígeno (O₂) consumido o dióxido de carbono (CO₂) producido por unidad de masa y tiempo (mg•kg⁻¹•h⁻¹) y en moles de CO₂ producido o moles O₂ consumido (Angós, 2008; Barreiro y Sandoval, 2006).

El comportamiento postcosecha permite identificar dos grupos de fruta: climatéricas y no climatéricas. Las frutas climatéricas (arazá y naranjilla) luego de ser recolectadas continúan con su proceso de maduración y producen altos niveles de etileno con un aumento repentino en la respiración aeróbica. Por el contrario, las frutas no climatéricas (tomate de árbol) son incapaces de continuar su proceso de maduración después de la cosecha, produciendo cantidades muy pequeñas de etileno (Kader y Yania, 2011).

El arazá es una fruta que presenta un patrón climatérico con una elevada tasa respiratoria (200 mg•kg⁻¹•h⁻¹ a 20 °C) con un pico de producción de etileno de 50 µL•kg⁻¹•h⁻¹ (Fernández-Trujillo et al., 2011). La naranjilla es una fruta climatérica con una tasa respiratoria relativamente baja, incluso durante el pico climatérico (Acosta *et al.*, 2009). El tomate de árbol es un fruto no climatérico que produce pequeñas cantidades de etileno, con una tasa de respiración de 0.19 a 0.25 µ mol CO₂•kg⁻¹•s⁻¹ a 4 °C (Schotsmans, 2011).

1.5. Conservación de frutas frescas

1.5.1. Atmósferas modificadas

El mayor reto de la tecnología postcosecha es optimizar la calidad y reducir las pérdidas en frutas frescas (Gonzalez-Aguilera *et al.*, 2010; Kader y Yania, 2011). Estos requerimientos condujeron al desarrollo de tecnologías de envasado y almacenamiento como las atmósferas modificadas (AM) y las atmósferas controladas (AC) (Yang y Wang, 2014).

Las aplicación de AM en frutas facilita el transporte y almacenamiento puesto que reduce la incidencia del daño por frío, pérdida de firmeza, pérdida de peso y deshidratación. Además, retrasan el desarrollo del color, mantienen los niveles de ácidos orgánicos, evitando la producción y acción del etileno (Fernández-Trujillo *et al.*, 2011; Gonzalez-Aguilera *et al.*, 2010; Hernández *et al.*, 2009).

En las frutas tropicales y subtropicales los cambios de color están asociados con la presencia de pigmentos (compuestos fenólicos) derivados del metabolismo secundario de las plantas como: las antocianinas, la clorofila, los carotenoides, los flavonoides y los polifenoles (Benkeblia *et al.*, 2011).

Los compuestos fenólicos son considerados como antioxidantes naturales porque protegen múltiples órganos de la oxidación celular provocada por los radicales libres (Alam *et al.*, 2013; Granato *et al.*, 2018). Los radicales libres son

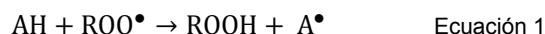
responsables de causar un gran número de enfermedades como: cáncer, enfermedades cardiovasculares y hepáticas, aterosclerosis, trastornos neuronales, Alzheimer, deterioro cognitivo, Parkinson, colitis ulcerosa y envejecimiento (Alam *et al.*, 2013).

Un antioxidante es una sustancia presente en las frutas o alimentos que en concentraciones muy bajas respecto al sustrato oxidable inhibe o disminuye los efectos adversos de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS / RNS). Por lo tanto, no todos los reductores implicados en una reacción química son antioxidantes; solo aquellos compuestos que son capaces de proteger al objetivo biológico (membranas celulares) de la oxidación, manteniendo su función fisiológica normal (Karadag *et al.*, 2009).

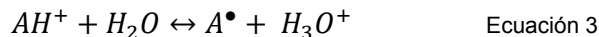
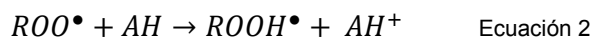
1.6. Capacidad antioxidante

En investigación se emplean diferentes métodos para determinar la capacidad antioxidante de las frutas (Alam *et al.*, 2013). La selección de los métodos se hace en base a la polaridad de los componentes (hidrosolubles y liposolubles), la fuente de radicales (exógena o endógena) y el mecanismo para neutralizar la acción nociva de las especies reactivas (transferencia de átomos de hidrógeno, transferencia de electrones individuales y capacidad para quelar metales de transición) (Granato *et al.*, 2018).

Los métodos de transferencia de radicales de hidrogeno (método ORAC) miden la capacidad de un antioxidante (AH) para eliminar los radicales libres (ROO•) mediante la donación de un átomo de hidrógeno que estabiliza el radical peroxilo (Granato *et al.*, 2018), como se detalla en la Ecuación 2.



Los métodos basados en la transferencia de electrones individuales (método ABTS, DPPH y FRAP) miden la capacidad de los antioxidantes (AH) de transferir un electrón para reducir los radicales libres (Ec. 3), los metales pro-oxidantes (Fe^{2+} y Cu^{2+} ; Ec. 4) y los carbonilos (Ec. 5) (Karadag *et al.*, 2009).



La respuesta de los antioxidantes a diferentes fuentes de radicales u oxidantes puede ser diferente. Por lo que, según varios autores existe la necesidad de proporcionar un protocolo que involucre la medición de más de una propiedad antioxidante. En compuestos con actividades antioxidantes múltiples como los

polifenoles, su actividad dominante dependerá del medio y el tipo de antioxidantes. En el caso de los carotenoides se ha observado que estos no son buenos atenuadores de los radicales peroxilo como los compuestos fenólicos; sin embargo, estos son captadores excepcionales de oxígeno singlete (átomo de oxígeno en estado excitado) (Karadag *et al.*, 2009).

Por lo tanto, ningún ensayo individual refleja con precisión el mecanismo de acción de todas las fuentes de radicales o todos los antioxidantes en un sistema complejo (Prior *et al.*, 2005). Es así que, la actividad antioxidante en frutas y otros alimentos no se determina en base a un único método *in vitro*, siendo difícil comparar completamente un método con otro (Alam *et al.*, 2013).

1.6.1. Capacidad antioxidante ABTS

El método de capacidad antioxidante por el método del 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), se basa en la capacidad de eliminación del anión radical ABTS^{•+} en presencia de radicales peroxilo u otros oxidantes a su radical catiónico. En la etapa inicial, este compuesto se encuentra intensamente coloreado y al reaccionar con los compuestos bioactivos disminuye su color.

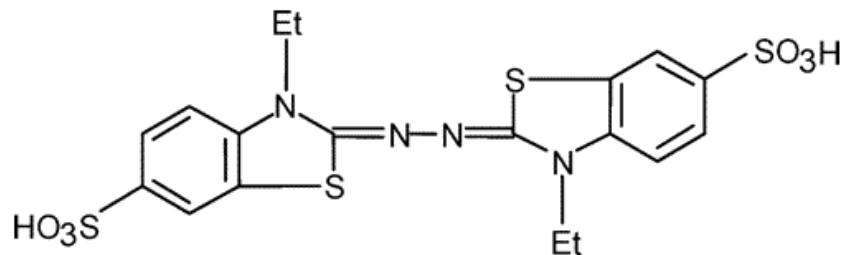


Figura 1. Estructura del 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

Fuente: Prior *et al.* (2005)

1.6.2. Capacidad antioxidante DPPH

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método del 2,3-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) se emplea un radical libre estable que por la deslocalización del electrón da lugar a su color violeta intenso (Alam *et al.*, 2013). Debido a la estabilidad del radical no necesita generarse la fuente de radicales, como en otros ensayos. Los resultados son altamente reproducibles y comparables con otros métodos de eliminación como el ABTS (Singh y Singh, 2008).

La adición de una sustancia antioxidante provoca la transferencia de un átomo de hidrogeno del DPPH dando lugar a la forma reducida, con la pérdida del color violeta observándose una disminución de la absorbancia (decoloración entre los 515 y 528 nm) (Alam *et al.*, 2013; Singh y Singh, 2008).

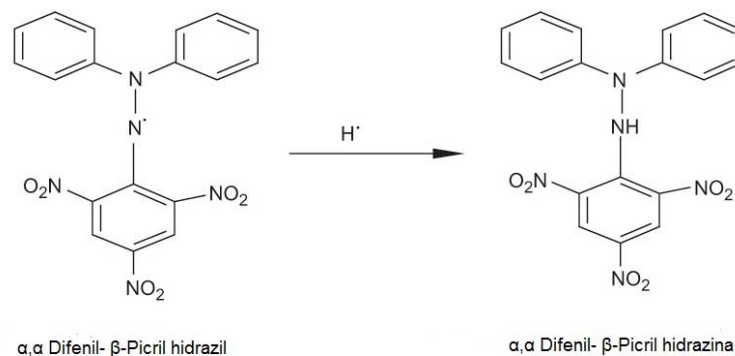


Figura 2. Principio de medición de la actividad antioxidante mediante el método DPPH.

Fuente: Singh y Singh (2008)

La actividad antioxidante se calcula determinando la disminución de la absorbancia a diferentes concentraciones y comparándola con la absorbancia en ausencia del compuesto. El DPPH solo es soluble en solventes orgánicos y puede presentar interferencias de la matriz y los solventes en la absorbancia; que en presencia de metanol y la acetona disminuye. Su aplicación es limitada para proteínas puesto que se precipitan en el medio alcohólico (Singh y Singh, 2008).

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

2. Objetivo General

Estudiar el efecto de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la capacidad antioxidante de arazá, naranjilla y tomate de árbol.

2.1.1. Objetivos Específicos

- Determinar la capacidad antioxidante en arazá, naranjilla y tomate de árbol utilizando los métodos ABTS y DPPH.
- Evaluar la correlación entre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en arazá, naranjilla y tomate de árbol
- Identificar el efecto de la composición de los gases de las atmósferas modificadas activas (mezcla de O₂, CO₂) sobre la capacidad antioxidante de arazá, naranjilla y tomate de árbol.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES

3.1. Materia prima

En base a las investigaciones previas realizadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) se identificaron las principales zonas productoras de arazá (clon 003), naranjilla (variedad INIAP Quitoense 2009) y tomate de árbol (variedad Mora Ecuatoriano), seleccionando las provincias de Napo (El Chaco), Orellana (El Coca) y Tungurahua (Patate). En estas localidades se escogió una finca representativa y se marcaron 50 árboles, a los que se aplicó un manejo agronómico estándar durante el periodo de estudio.

De los árboles marcados se recolectaron 15 kg de fruta en estado de madurez fisiológica, por cada tratamiento en atmósfera modificada. La recolección se realizó durante las primeras horas de la mañana, cortando los pedúnculos con ayuda de tijeras.

Las muestras se envasaron en cajas de cartón protegidas con malla de espuma y se acomodaron en hileras de una sola fila; el transporte se realizó inmediatamente hacia los laboratorios de la Universidad Técnica de Ambato y se inició el proceso de acondicionamiento.

3.2. Aplicación de atmósferas modificadas

En las tres frutas estudiadas se aplicaron cinco atmósferas modificadas, dos atmósferas tradicionales (2,5-2,5% O₂/CO₂; 2,5-5,0% O₂/CO₂) y tres mezclas gaseosas combinando atmósferas superoxigenadas y atmósferas ricas en anhídrido carbónico (80-10% O₂/CO₂; 80-20% O₂/CO₂ y 90-10% O₂/CO₂). La generación de las diferentes combinaciones gaseosas se realizó empleando un mezclador de gases KM100-3 FLOW (WITT Gasetechnik, Alemania) para esto se usó como suministro bombonas de gas a presión de oxígeno (pureza 99,5 %), nitrógeno (pureza 99,5 %) y anhídrido carbónico (pureza 99,9 %). El nitrógeno se empleó como gas de relleno.

3.3. Preparación de la muestra

Las muestras de los diferentes tratamientos fueron peladas, cortadas en rodajas y envasadas en bolsas de sellado hermético a -80 °C (Ultracongelador Binder UFV; Tuttlingen, Alemania), protegidas de la luz y el oxígeno. Posteriormente, la pulpa se llevó a liofilizar a -80°C y vacío de 0,1 Pa (Liofilizador, BioSafer; Nanjing, China). Las muestras secas fueron molidas y almacenadas en frascos con cierre

hermético a temperatura ambiente. En las diferentes muestras se determinaron los componentes bioactivos totales: antocianinas, carotenoides, flavonoides y polifenoles.

A partir del contenido de compuestos bioactivos se escogieron uno o dos tratamientos de las cinco atmósferas modificadas que preservaron de mejor manera los antioxidantes de las tres frutas (Cando, 2018; Chicaizas, 2018; Llive, 2018). En estas muestras se cuantificó la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH.

Los tratamientos seleccionados fueron:

- Arazá tratado con atmósfera 2,5-5,0% O₂/CO₂.
- Naranja tratada con 2,5-5,0% O₂/CO₂.
- Tomate de árbol tratado con atmósfera 2,5-2,5% O₂/CO₂ y atmósfera 80-10% O₂/CO₂.

4. MÉTODOS

4.1. Extracción

Para la extracción de los componentes fenólicos se pesaron 0,3 g de pulpa liofilizada y se añadieron 5 mL de una disolución de metanol, agua, ácido fórmico (70:30:0,1 %; v/v/v). El proceso de extracción se realizó durante cinco ciclos combinados de agitación (agitador-incubador VWR, USA) e inmersión en un baño de ultrasonidos (baño de ultrasonido Selecta; Barcelona, USA) durante 5 y 10 minutos, respectivamente. Posteriormente la muestra fue centrifugada durante 10 minutos a 4400 rpm (centrífuga Chermle Z320; Alemania). El extracto bruto de cada ciclo de extracción se recolectó en un matraz volumétrico y se enrasó a 25 mL con la disolución extractora (Espín y Samaniego, 2016). La disolución obtenida se empleó para la cuantificación de la capacidad antioxidante por los dos métodos propuestos.

4.2. Capacidad antioxidante

4.2.1. Validación de los métodos

Para la determinación de la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH se realizó la validación de los métodos experimentales en base a los siguientes criterios:

a) Linealidad

A través de la linealidad se determinó la capacidad de los métodos empleados para dar una respuesta proporcional a la concentración del analito. Para esto se

elaboraron curvas de calibración de Trolox durante 3 días en intervalos de 0 a 800 $\mu\text{M Trolox}\cdot\text{L}^{-1}$ en ABTS y de 0 a 500 $\mu\text{M Trolox}\cdot\text{L}^{-1}$ en DPPH. A partir de los valores de concentración definidos (X) y del promedio de las lecturas de absorbancia (Y) se obtuvieron las curvas de calibración.

La validación de las curvas se realizó en base a un estudio de regresión lineal, en el cual se determinaron parámetros como la pendiente (m), el coeficiente de correlación (r^2) y el intercepto (a). Para las concentraciones medidas ($\mu\text{M Trolox}\cdot\text{L}^{-1}$) se estableció como criterio de aceptación cualitativo un $r^2 \geq 0,99$; mientras que la validación estadística del modelo lineal se realizó mediante la prueba t-Student ($p < 0,05$). A partir de los resultados del estudio se determinó la desviación estándar de la pendiente (S_m) y de la ordenada (S_a), en función de los cuales se determinó los límites de confianza para la pendiente $m \pm t \cdot S_m$ y $a \pm t \cdot S_a$ (Sandoval, 2010).

b) Límites de detección y cuantificación

Para la determinación de los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) se realizaron seis mediciones del blanco o testigo reactivo (que estuvo compuesto por todos los reactivos menos la muestra), de acuerdo a las recomendaciones establecidas en la guía técnica de validación de métodos. A partir de estas mediciones se establecieron el promedio y la desviación estándar (DS). Para el cálculo del LD se estableció la absorbancia promedio del blanco más tres DS (blanco+3DS). En el caso del límite de cuantificación se expresó como la absorbancia promedio del blanco diez DS (blanco+10DS) la cantidad de analito que da una señal igual al blanco más tres veces la desviación estándar. El LD y el LC constituyen la cantidad mínima que puede detectar y cuantificar el método con exactitud y precisión (Sandoval, 2010).

c) Exactitud

La exactitud se evaluó como porcentaje de recuperación de los analitos en estudio. Para esto se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100% de los antioxidantes de las tres frutas siguiendo la metodología establecida para el estudio. En cada extracción se cuantificó la capacidad antioxidante y se estableció el porcentaje de recuperación dividiendo el resultado por extracción para el total por 100 (Espín y Samaniego, 2016).

d) Precisión

La precisión del método se evaluó a través de un ensayo de repetibilidad, para esto se analizó una muestra de cada fruta con cinco repeticiones, bajo las mismas condiciones de ensayo (analista, laboratorio y equipo) siguiendo la

metodología establecida para el estudio, en un mismo día. A partir de las mediciones se determinó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación (Sandoval, 2010). Con los resultados se verificó que el método tenga la precisión adecuada para el nivel de concentración medida ($\mu\text{M Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$) utilizando la ecuación de Horwitz ($\text{CV}_{\text{Horwitz}}$). Este parámetro es utilizado para la validación de ensayos interlaboratorios, y se relaciona el CV en función de la concentración del analito, como se muestra en la Figura 3, también conocida como trompeta de Horwitz (Sandoval, 2010).

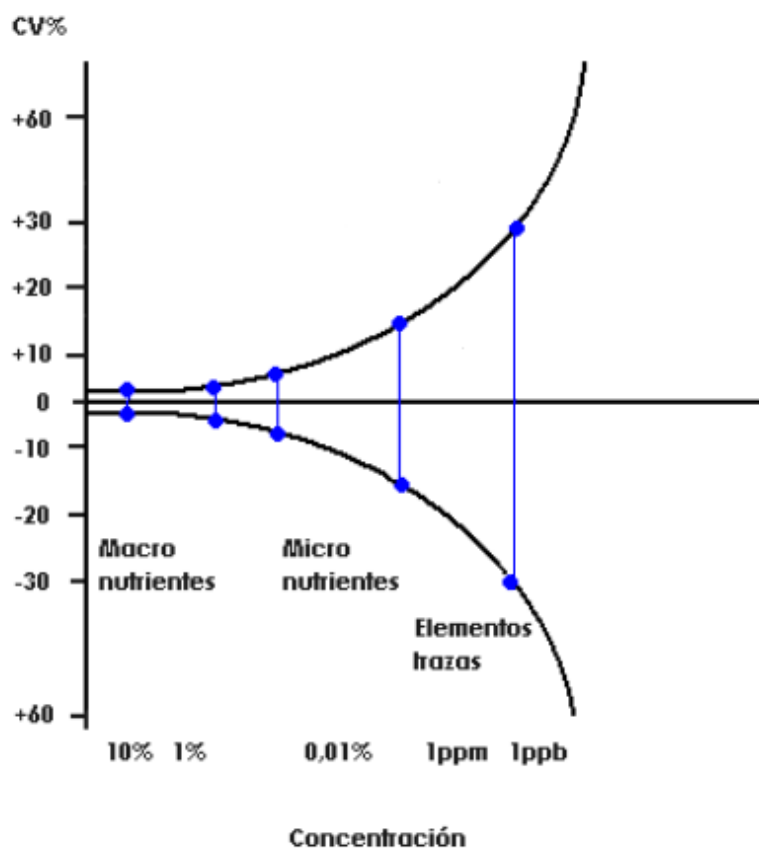


Figura 3. Trompeta de Horwitz
Fuente: Sandoval (2010)

Para las concentraciones evaluadas ($\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ o ppm) se aceptaron $\text{CV}_{\text{Horwitz}} \leq 16\%$ por considerarse elementos traza.

4.2.2. Cuantificación

a) Método del ABTS

La capacidad antioxidante por el método del ABTS se realizó siguiendo el método propuesto por Re *et al.* (1999). Para esto se preparó una fuente de

radicales empleando disolución de persulfato de potasio (2,45mM) y disolución de ABTS (7mM) en una relación 1:1 y se dejó reposar durante 16 horas a temperatura ambiente y oscuridad. A partir de la fuente de radicales se preparó una disolución de trabajo en una proporción 1:15 con disolución amortiguadora de fosfatos pH 7,0 (75 m mol•L⁻¹ fosfato de sodio monobásico 0,2 mol•L⁻¹ y fosfato de sodio dibásico 0,02 mol•L⁻¹). La disolución de trabajo se diluyó antes de cada ensayo hasta obtener una absorbancia de 1,1 ± 0,01 a 734 nm. Posteriormente, se mezclaron 200 µL de extracto metanólico de las frutas previamente diluido con 3800 µL de disolución de trabajo y se dejó reposar durante 45 minutos a temperatura ambiente y oscuridad.

La cuantificación de la capacidad antioxidante se realizó por espectrofotometría UV-VIS (Espectrofotómetro MultiscanGO Thermo Scientific, Massachusetts-EE.UU.) frente a una curva estándar de Trolox (0-800 µmol•L⁻¹). Los resultados se expresan como µM de Trolox equivalentes (µM TE•g⁻¹) de muestra seca.

b) Método del DPPH

La capacidad antioxidante por el método del DPPH se realizó siguiendo el método propuesto por Bobo-Garcia *et al.* (2015). Para esto se preparó una fuente de radicales empleando disolución de DPPH en metanol 80% y se almacenó en refrigeración y oscuridad. Posteriormente, se mezclaron 20 µL de extracto metanólico de cada muestra previamente diluido con 180 µL de la disolución de DPPH y se dejó reposar durante 40 minutos a temperatura ambiente y oscuridad.

La cuantificación de la capacidad antioxidante se realizó a 515 nm por espectrofotometría UV-VIS (Espectrofotómetro MultiscanGO Thermo Scientific, Massachusetts-EE.UU.) empleando placas multipocillo frente a una curva estándar de Trolox (50-500 µmol•L⁻¹).

Los resultados se expresan como µM Trolox equivalentes por gramo (µM TE•g⁻¹) de muestra seca.

4.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó con ayuda del Software Statgraphics Centurion XV.II (Statpoint Technologies Inc.; Virginia, EE.UU.).

En la primera fase se evaluó de forma individual, el efecto de la aplicación de las diferentes atmósferas modificadas sobre la capacidad antioxidante de arazá (2,5/5,0% O₂/CO₂), naranjilla (2,5/5,0% O₂/CO₂), y tomate de árbol (2,5/2,5% O₂/CO₂ y 80/10% O₂/CO₂), para esto se aplicó un diseño de un solo factor. Por una parte, se evaluó el efecto de la atmósfera modificada empleada sobre la

capacidad antioxidante de los frutos en comparación con un tratamiento control. Para luego determinar el efecto del tiempo de almacenamiento en la capacidad antioxidante de la muestra tratada y el control, por separado. Las diferencias estadísticas significativas halladas entre las medias se determinaron mediante un test de Tukey a un nivel de confianza del 95%.

La segunda fase de análisis consistió en un análisis de correlación canónica en el que se ingresó las variables en dos conjuntos. El primer conjunto estuvo compuesto por las concentraciones de antioxidantes totales de las frutas (antocianinas, carotenoides, flavonoides y polifenoles) y en el segundo conjunto agrupó los valores de capacidad antioxidante medida por ABTS y DPPH. Aquí se buscaron el número de correlaciones canónicas que sean significativamente diferentes de cero, a través de estas correlaciones se pudo establecer la relación existente entre el contenido de antioxidantes de las tres frutas con su capacidad antioxidante.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS

5.1. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS

La validación de las metodologías de extracción de los compuestos antioxidantes y la cuantificación de la capacidad antioxidante descritas en los apartados 4.2.1 y 4.2.2 presentaron los siguientes resultados:

5.1.1. Linealidad

Dentro de la validación del método se realizó el estudio de linealidad de las curvas patrón de Trolox, para esto se emplearon las medias de las absorbancias de las curvas elaboradas en tres días diferentes. El análisis estadístico de la linealidad se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Evaluación de regresión lineal de las curvas de calibración de Trolox para la validación de los métodos de capacidad antioxidante por ABTS y DPPH.

MUESTRA	PROMEDIO	
	ABTS	DPPH
Pendiente (m)	0,0007	0,0013
Ordenada al origen (Lo)	0,0671	0,0070
Desviación estándar de la pendiente	0,00002	0,00003
Desviación estándar de la ordenada	0,0076	0,0079
Error típico (Sy,x)	0,0107	0,0101
Coefficiente de determinación (R ²)	0,999	0,999
t _{student} calculado	48,14	50,38
t _{student} tablas	2,45	3,18
m (mínimo)	0,0007	0,0012
m (máximo)	0,0007	0,0013
Lo (mínimo)	0,0484	-0,0181
Lo (máximo)	0,0484	0,0322

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 4, las curvas patrón de Trolox desarrolladas para los métodos de ABTS y DPPH presentaron coeficientes de determinación (R²) de 0,999, lo que indica que existe una alta correlación entre la concentración de Trolox (X) y la absorbancia (Y) ($t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}}$). Por lo tanto, el 99,9 % de la variabilidad de los datos experimentales pudo ser explicada por los modelos de regresión obtenidos, mostrando un ajuste lineal adecuado (R² ≥ 0, 99) en todos los casos (Sandoval, 2010). En la Figura 4, se presenta las curvas de calibración promedio empleadas para la cuantificación de la capacidad antioxidante de las muestras en estudio.

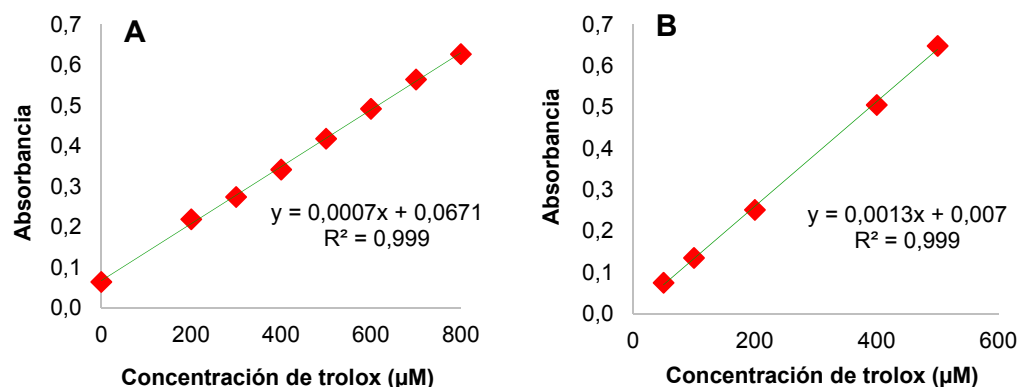


Figura 4. Curvas de calibración promedio para la determinación de la capacidad antioxidante por ABTS (A) y DPPH (B).

5.1.2. Límites de detección y cuantificación

Con la finalidad de determinar la concentración mínima de analito que puede detectar el equipo utilizado se estudiaron parámetros como el límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC). Como se puede observar en la Tabla 5, los valores de estos límites dependen de la magnitud de la señal analítica y el valor de las fluctuaciones estadísticas de la señal del blanco a un nivel de confianza dado. En el método de ABTS la absorbancia mínima que debe admitirse para que un valor sea considerado dentro de los límites de detección y cuantificación son 0,133 y 0,187; respectivamente. En DPPH las absorbancias para los LC y LD fueron 0,057 y 0,049; en ese orden.

Tabla 5. Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC) de la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH.

MUESTRA	PROMEDIO	
	ABTS	DPPH
Absorbancia del blanco (promedio) *	0,079	0,042
Absorbancia del blanco (desviación estándar)	0,018	0,002
Límite de cuantificación (LC)	0,259	0,067
Límite de detección (LD)	0,133	0,049
Límite de cuantificación ($\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$)	22,70	3,93
Límite de detección ($\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$)	7,76	2,78

* Los resultados se reportan como la media de 6 réplicas (n=6)

Para los métodos de ABTS y DPPH propuestos se obtuvieron LC de 22,70 y 3,93 $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Estos valores representan la cantidad mínima que puede ser determinada cuantitativamente sin que el CV (%) ni el porcentaje de error sean mayores al 16% (Sandoval, 2010).

En el LD instrumental se obtuvieron concentraciones de 7,76 y 2,78 $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ para ABTS y DPPH, en ese orden. Los valores obtenidos en el LD corresponden a la

cantidad mínima de analito que da una respuesta significativamente diferente al blanco o al ruido de una disolución que no contiene el analito (Sandoval, 2010).

5.1.3. Exactitud

Como parte de la validación de los métodos se evaluó el rendimiento del proceso de extracción (Figura 5). En esta etapa, se determinó el número de ciclos necesarios para recuperar el 100% de los antioxidantes presentes en cada muestra de fruta, al emplear una disolución metanólica (metanol/agua/ácido fórmico; 70/30/0,1 %; v/v/v).

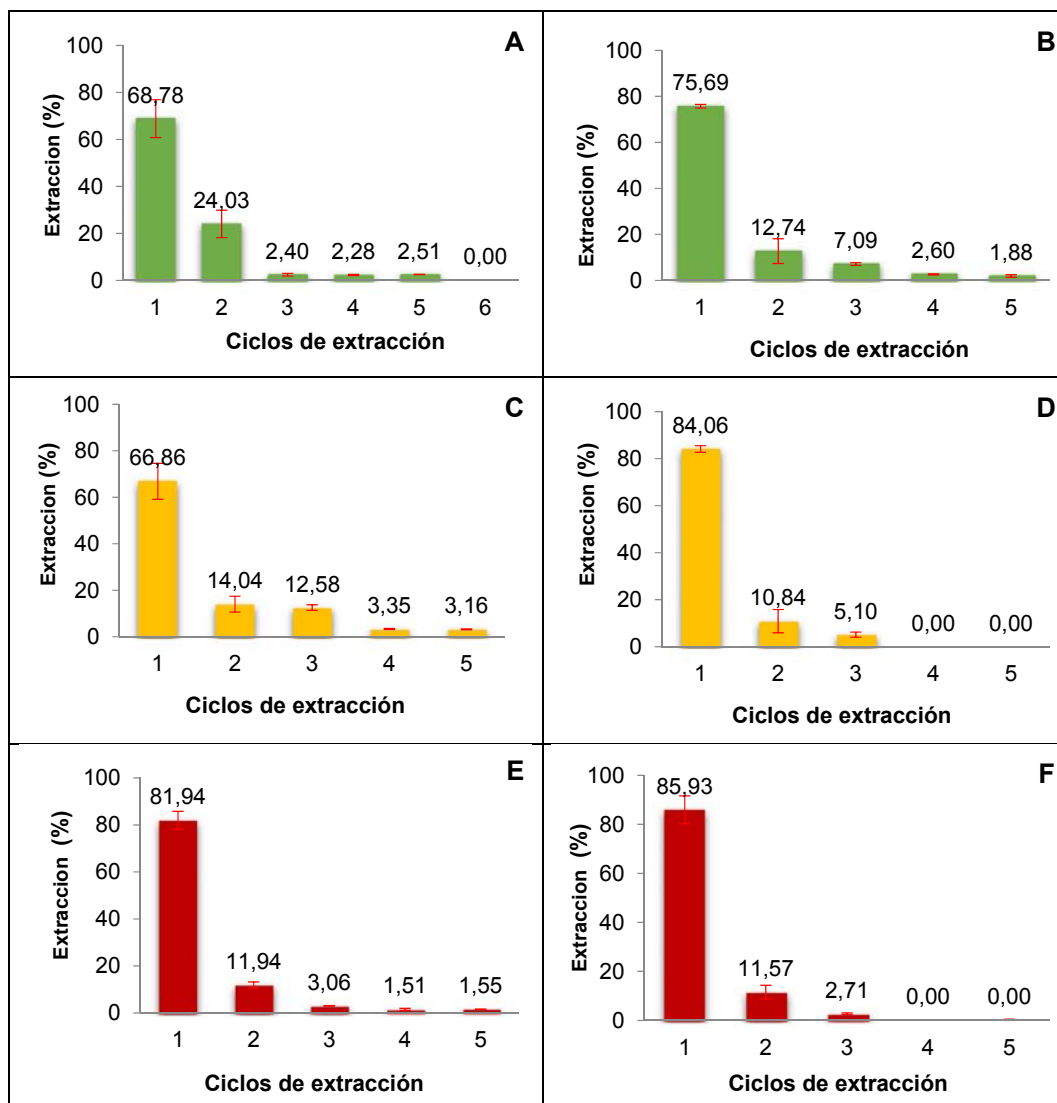


Figura 5. Recuperación de los componentes bioactivos responsables de la capacidad antioxidante por ABTS (A, C, E) y DPPH (B, D, F) en muestras liofilizadas de arazá (■, barras color verde), naranjilla (■, barras color amarillo) y tomate de árbol (■, barras color rojo) en función de los ciclos de extracción

De acuerdo a los resultados presentados en la Figura 5, se necesitan al menos cinco ciclos combinados de agitación (5 minutos), inmersión en baño ultrasónico (10 minutos) y centrifugación (10 minutos) para recuperar el 100% de los compuestos responsables de la capacidad antioxidante.

Los porcentajes de extracción obtenidos tras el primer ciclo de extracción variaron entre 66,86 y 85,93%, los valores más altos de recuperación corresponden a los componentes asociados a la capacidad antioxidante medida por DPPH (Figura 5-B, 5D y 5F), esto puede deberse a que este método está relacionado con los antioxidantes hidrófilos (polifenoles, flavonoides) predominantes en estas frutas, antioxidantes también solubles en medios alcohólicos (Karadag *et al.*, 2009).

5.1.4. Precisión

Una vez validado el proceso de extracción, se procedió a la validación de los métodos de cuantificación, para esto se realizaron ensayos de precisión de las técnicas espectrofotométricas en base a la repetibilidad. Se determinó la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH de una muestra liofilizada de cada fruta (arazá, naranjilla y tomate de árbol) con seis réplicas, como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados del estudio de precisión de los métodos para la determinación de capacidad antioxidante en muestra liofilizada de pulpa de arazá, naranjilla y tomate de árbol.

MUESTRA		Capacidad antioxidante (μM de Trolox \cdot g^{-1})	
		ABTS	DPPH
ARAZÁ	Promedio*	758,22	392,10
	Desviación estándar	50,01	9,67
	Coficiente Variación (%)	6,60	2,47
NARANJILLA	Promedio*	76,40	21,26
	Desviación estándar	1,33	1,35
	Coficiente Variación (%)	1,74	6,34
TOMATE DE ÁRBOL	Promedio*	161,04	47,82
	Desviación estándar	8,48	2,94
	Coficiente Variación (%)	5,27	6,15

* Los resultados se reportan como la media de 6 réplicas (n=6)

En vista de los resultados presentados en la Tabla 6, se puede demostrar que los dos métodos aplicados presentan coeficientes de variación entre 1,74 y 6,60%, estos valores estuvieron dentro de los rangos establecidos por Horwitz para concentraciones μM de Trolox \cdot g $^{-1}$ o ppm (Figura 3); este criterio admite coeficientes de variación (CvHorwitz) \leq 16% (Sandoval, 2010). Por lo tanto, los métodos de ABTS y DPPH implementados para espectrofotometría UV-Vis en

placas multipocillo presentan una precisión adecuada para la determinación de capacidad antioxidante de las tres frutas en estudio.

5.2. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Una vez adaptados y validados los métodos a las condiciones y equipos de los laboratorios de investigación de la Universidad Pública de Navarra se procedió a la determinación de la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH en arazá, naranjilla y tomate de árbol, como se detalla a continuación:

5.2.1. Arazá

De acuerdo a los resultados presentados en la Figura 6A, la aplicación de atmósferas modificadas produce un efecto sobre la capacidad antioxidante del arazá. En el caso de los valores obtenidos en ABTS, se observó que durante el periodo de tratamiento la capacidad antioxidante de la fruta se mantiene hasta el cuarto día de ensayo, presentando una ligera disminución a los 7 y 10 días de almacenamiento. Por el contrario, la capacidad antioxidante del tratamiento control fue menor el primer día de ensayo y alcanzó su máximo valor a los 4 días, para posteriormente disminuir. A pesar de las diferencias significativas ($p < 0,05$) encontradas entre la fruta tratada y el control los días 1 y 10; este parámetro no muestra diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los días 4 y 7.

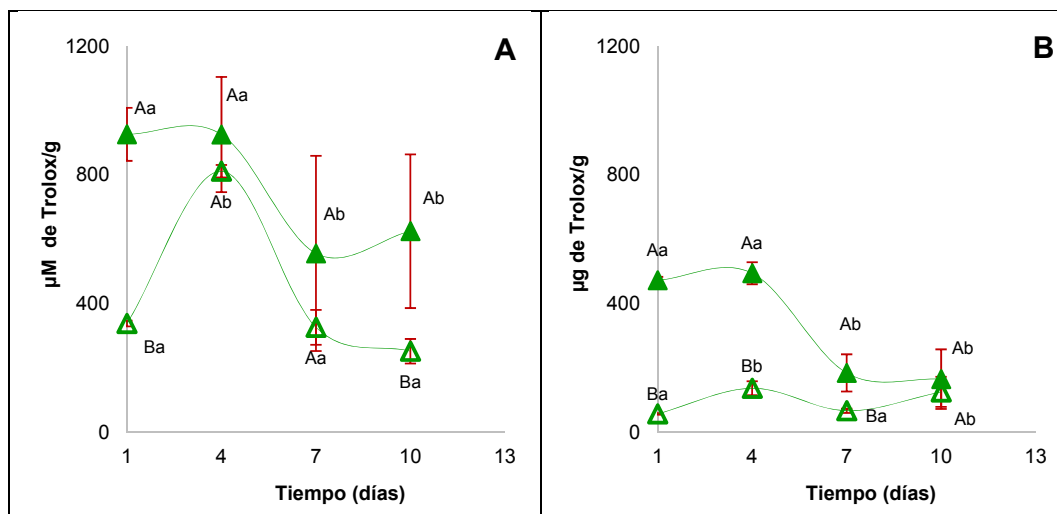


Figura 6. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (2,5/5,0% O_2/CO_2) en la capacidad antioxidante de arazá por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (▲) y control (△).

A, B: indican diferencias significativas entre el tratamiento con atmósfera modificada y el control

a, b, c: indican diferencias significativas entre los días de almacenamiento (Días 1, 4, 7 y 10)

n: Los resultados se reportan como la media de 2 réplicas medidas en duplicado

La capacidad antioxidante de la fruta tratada con atmósfera modificada medida por DPPH (Figura 6B), mostró un comportamiento similar al registrado por ABTS;

presentando los valores más altos hasta el cuarto día de tratamiento y una ligera disminución los días 7 y 10. Sin embargo, la capacidad antioxidante de la fruta almacenada con 2,5/5,0% O₂/CO₂ presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) frente al control hasta el séptimo día de ensayo.

De acuerdo a lo expuesto por Gonzalez-Aguilera *et al.* (2010) la mayor parte de tratamientos postcosecha empleados para prolongar la vida útil de la fruta, implican la alteración de sus condiciones naturales, por lo que, sufren un estrés biótico. Para estos autores el uso de atmósferas modificadas puede afectar la actividad metabólica de la fruta y modificar algunos procesos bioquímicos, provocando la activación de su sistema antioxidante, lo que incrementaría su contenido de compuestos fenólicos. Este incremento podría estar asociado con la mayor capacidad antioxidante del arazá almacenado en atmósferas modificadas respecto a la muestra control.

La rápida disminución de la capacidad antioxidante de la fruta se debe a que el arazá es una fruta climatérica extremadamente perecedera, con una vida útil de menos de 5 días a temperatura ambiente (20 °C) (Hernández *et al.*, 2009). Su alta perecibilidad se debe a que este fruto presenta un alto contenido de humedad, bajo contenido de sólidos solubles totales y no posee tejido de sostén, lo que le hace susceptible al daño mecánico y fisiológico (Peña *et al.*, 2011).

Al presentar un corto periodo de vida útil, el arazá permite observar el efecto de las atmósferas modificadas en la capacidad antioxidante desde el inicio del tratamiento hasta la senescencia. Según el estudio publicado por Cuellar *et al.* (2013) la capacidad antioxidante de la fruta está asociada con el estado de madurez, en arazá en estado verde se encuentra los valores más altos y estos tienden a disminuir conforme alcanza la madurez organoléptica. El trabajo publicado por estos autores confirman los resultados obtenidos en este estudio, puesto que se observó los valores más altos de capacidad antioxidante los primeros días de ensayo (días 1 y 4) cuando la fruta se encontraba en estado pintón (Tabla 1) y a partir de los días 7 y 10 disminuye, conforme avanza el periodo de maduración.

Con la finalidad de establecer la relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del arazá medidos por ABTS y DPPH se realizó un análisis de correlación de Pearson (Tabla 7). Los valores de los contenidos fenólicos empleados en el estudio de correlación fueron tomados del trabajo realizado por Cando (2018), quien evaluó el efecto de la cinco tipos de atmósferas modificadas en la composición fenólica de arazá.

Tabla 7. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de arazá almacenado en atmósfera modificada 2,5/5,0% O₂/CO₂

ANTIOXIDANTES	Coeficiente de correlación de Pearson (r)	
	ABTS	DPPH
Carotenoides totales	-0,4686	-0,5580
Flavonoides totales	0,9507*	0,8360*
Polifenoles totales	0,9637*	0,7252*

* Estadísticamente significativo ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95%

Como se muestra en la Tabla 7, la capacidad antioxidante del arazá (ABTS y DPPH) mostró una correlación positiva y estadísticamente significativa ($p < 0,05$) con el contenido de flavonoides totales y polifenoles totales; sin embargo, los carotenoides mostraron correlaciones negativas frente a esta parámetro. Los coeficientes de correlación más altos estuvieron asociados con los valores de capacidad antioxidante medidos por ABTS ($r = 0,9507$ y $0,9607$), seguidos por DPPH ($r = 0,8370$ y $0,7252$).

El arazá presenta un alto contenido de componentes fenólicos, por lo que, su poder antioxidante presenta una correlación directa con la fracción hidrófila de los compuestos bioactivos de la fruta, que incluye los polifenoles, flavonoides y vitaminas hidrosolubles. La alta correlación (r cercano a 1) en ABTS y el DPPH asociada a estos compuestos se debe a sus distintas características redox. (Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Cuellar *et al.*, 2013).

5.2.2. Naranja

A diferencia de los resultados obtenidos en arazá, la aplicación de atmósferas modificadas (2,5/5,0% O₂/CO₂) provocó un comportamiento distinto en naranja. Como se muestra en la Figura 7A, las muestras conservadas en la mezcla gaseosa mostraron una menor capacidad antioxidante (ABTS) que sus respectivas muestras control, presentando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) durante los 10 días de ensayo. Por el contrario, al evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante de la fruta, se observó que tanto para la muestra tratada como para el control no existieron cambios significativos ($p < 0,05$) en el periodo de estudio.

La capacidad antioxidante medida por DPPH (Figura 7B), de las frutas tratadas con atmósferas modificadas fue inferior que la de los tratamientos control hasta el cuarto día de ensayo, y a partir del séptimo día no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$). La falta de diferencias significativas encontradas los días 7 y 10 se debe a que, mientras la fruta conservada en atmósferas modificadas presentó un ligero incremento de su capacidad antioxidante, el tratamiento control empezó a disminuir.

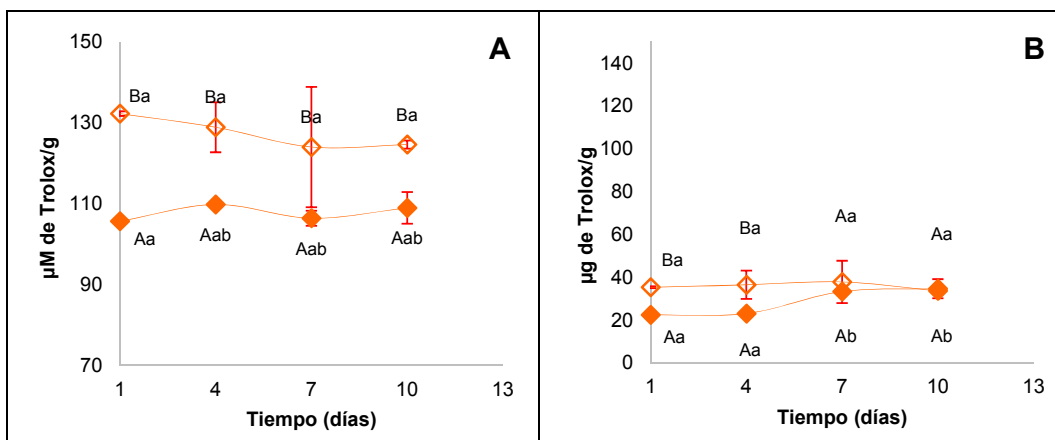


Figura 7. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (2,5/5,0% O₂/CO₂) en la capacidad antioxidante de naranjilla por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (◆) y control (◇).

A, B: indican diferencias significativas entre el tratamiento con atmósfera modificada y el control

a, b, c: indican diferencias significativas entre los días de almacenamiento (Días 1, 4, 7 y 10)

n: Los resultados se reportan como la media de 2 réplicas medidas en duplicado

Los ligeros cambios observados en la capacidad antioxidante de la fruta pueden deberse a que las naranjillas tratadas con atmósferas modificadas y en temperaturas de refrigeración (7°C), pueden mantenerse en un estado de madurez fisiológica hasta 50 días. Por lo que, en un periodo corto de tiempo (10 días) los cambios pueden ser despreciables (Arango *et al.*, 1999). De igual manera, los cambios observados en la muestra control pueden deberse a que la naranjilla fue cosechada en estado de madurez fisiológica y se almacenó en refrigeración. Según el estudio realizado por Acosta *et al.* (2009), solo los frutos fisiológicamente maduros presentan una alta perecibilidad (6-8 días) cuando se almacenan a temperatura ambiente.

Para determinar la relación entre el contenido fenólico de la naranjilla y su capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) se tomó como referencia los resultados obtenidos por Llive (2018), donde se evaluó el efecto de la aplicación de cinco atmósferas modificadas sobre los componentes bioactivos de esta fruta.

Al igual que en el arazá, se observó que los valores más altos de capacidad antioxidante de la naranjilla correspondieron a las mediciones realizadas por ABTS. Sin embargo, al determinar los coeficientes de correlación de Pearson (Tabla 8) se observó que para esta fruta, existe una correlación significativa ($p < 0,05$) asociada a la capacidad antioxidante medida por DPPH.

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 8, existe una correlación muy alta entre el contenido de polifenoles totales ($r=0,9109$) y la capacidad antioxidante de la fruta (DPPH); aunque algo menor, se puede apreciar una correlación muy alta asociada a los carotenos y flavonoides de la fruta. Para Vasco *et al.* (2008) la alta correlación de la capacidad antioxidante medida por

DPPH, indica que los antioxidantes de la naranjilla tienen una alta eficiencia antiradical.

Tabla 8. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de naranjilla almacenada en atmósfera modificada 2,5/5,0% O₂/CO₂

ANTIOXIDANTES	Coeficiente de correlación de Pearson (r)	
	ABTS	DPPH
Carotenoides totales	0,3166	0,8258*
Flavonoides totales	-0,4945	0,8188*
Polifenoles totales	0,1661	0,9109*

* Estadísticamente significativo ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95%

Según Mertz *et al.* (2009) la actividad antioxidante y pro-oxidante de la naranjilla es el resultado de la interacción de sus componentes hidrosolubles libres (ácidos orgánicos, vitamina C), algunos compuestos fenólicos hidrosolubles y carotenoides, confirmando los resultados obtenidos en este estudio.

5.2.3. Tomate de árbol

El tomate de árbol, es una fruta subtropical no climatérica que se diferencia del arazá y la naranjilla, en que después de la recolección su proceso respiratorio se detiene. Es así que en este fruto se observó que tratamientos con atmósferas modificadas clásicas (2,5/2,5% O₂/CO₂) y atmósferas superoxigenadas y ricas en CO₂ (80/10% O₂/CO₂) pueden emplearse para mantener sus características fisicoquímicas y organolépticas durante el periodo de estudio.

a) Atmósfera 2,5/2,5% O₂/CO₂

En tomate de árbol tratado con atmósferas clásicas se observó que la capacidad antioxidante medida por ABTS (Figura 8A) no se ve afectada por la presencia de esta mezcla gaseosa, no hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre la fruta tratada y el control. Sin embargo, al comparar la capacidad antioxidante medida por DPPH (Figura 8B), se observaron diferencias significativas entre la fruta tratada y el control en el cuarto y décimo día de ensayo.

De acuerdo a los resultados presentados en la Figura 8, el uso de atmósferas modificadas en este tipo de frutos ayuda a mantener su capacidad antioxidante, puesto que esta tiende a incrementándose con el tiempo. Según Pongjaruvat (2007) y Schotsmans (2011) el enfriamiento del tomate de árbol por debajo de 7 °C disminuye el deterioro fisiológico. Para estos autores el almacenamiento a 4 °C desacelera el metabolismo de la fruta y el deterioro del tallo, prolongando la vida útil hasta por seis semanas.

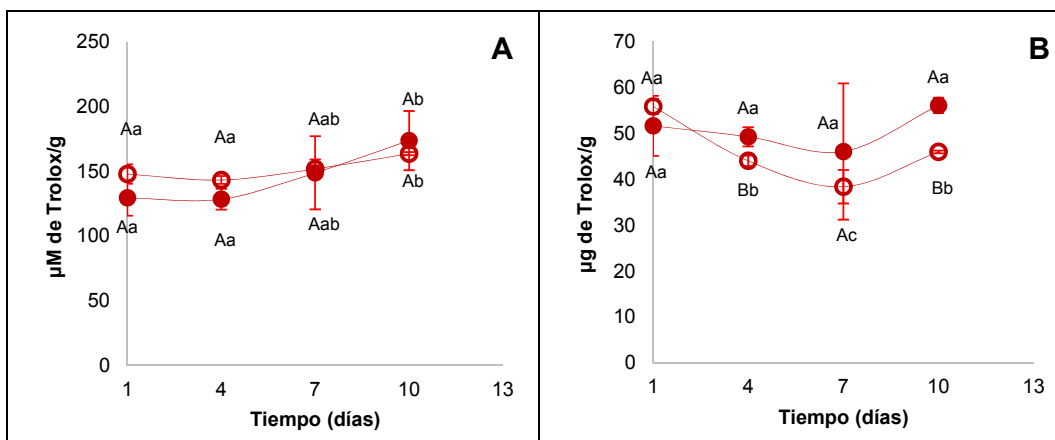


Figura 8. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (2,5/2,5% O₂/CO₂) en la capacidad antioxidante de tomate de árbol por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (●) y control (○).

A, B: indican diferencias significativas entre el tratamiento con atmósfera modificada y el control

a, b, c: indican diferencias significativas entre los días de almacenamiento (Días 1, 4, 7 y 10)

n: Los resultados se reportan como la media de 2 réplicas medidas en duplicado

Existe muy poca información acerca de la aplicación de atmósfera modificadas en tomate de árbol. Y de acuerdo al estudio realizado por Schotsmans (2011) la aplicación de este tipo de tratamiento retrasa la decoloración del tallo, pero no mejora la calidad del fruto. Sin embargo, en el estudio realizado previo a la selección de estas muestras (Chicaizas, 2018), se ha demostrado que la aplicación de atmósferas modificadas adecuadas permiten conservar los componentes bioactivos del tomate de árbol. A partir de estas concentraciones de antioxidantes y la capacidad antioxidante, se realizaron los análisis de correlación de Pearson (r), como se muestra en la Tabla 9.

Al igual que en la naranjilla, se ha observado que los componentes fenólicos del tomate de árbol están altamente correlacionados con la capacidad antioxidante medida por DPPH (Tabla 9), siendo estadísticamente significativos para antocianinas ($r=0,793$), flavonoides ($r=0,736$) y polifenoles ($r=0,8767$). Sin embargo, los valores más altos de capacidad antioxidante fueron los registrados por ABTS.

Tabla 9. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de tomate de árbol almacenado en atmósfera modificada 2,5/2,5% O₂/CO₂

ANTIOXIDANTES	Coeficiente de correlación de Pearson (r)	
	ABTS	DPPH
Antocianinas totales	0,2252	0,7930*
Carotenoides totales	0,5641	0,6589
Flavonoides totales	0,2412	0,7365*
Polifenoles totales	0,1463	0,8767*

* Estadísticamente significativo ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95%

De acuerdo al trabajo realizado por Vasco *et al.* (2008), la correlación entre los compuestos fenólicos totales y los métodos de capacidad antioxidante dependen del solvente de extracción, el carácter hidrófilo o hidrofóbico de los compuestos, la muestra y el tipo de componentes fenólicos, lo que significa que diferentes compuestos fenólicos reaccionan de diferentes maneras en estos ensayos.

b) **Atmósfera 80/10% O₂/CO₂**

Continuando con la evaluación del efecto de la aplicación de atmósferas modificadas en la capacidad antioxidante de tomate de árbol, se observó que en este tipo de frutas (no climatéricas) puede ser útil tanto el uso de atmósferas gaseosas superoxigenadas y ricas en CO₂, como el uso de atmósferas clásicas (2,5/2,5% O₂/CO₂). Como puede verse en la Figura 9, las muestras tratadas con 80/10% O₂/CO₂ presentaron un comportamiento similar a los frutos tratados con atmósferas clásicas. La capacidad antioxidante determinada por ABTS, no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) respecto al tratamiento control, manteniéndose constante a lo largo del tratamiento (10 días). Así también, la capacidad antioxidante medida por DPPH no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre la muestra tratada y el control hasta el cuarto día de ensayo; sin embargo, los días 7 y 10 ya se observó un ligero cambio de la fruta conservada con la mezcla gaseosa respecto al control.

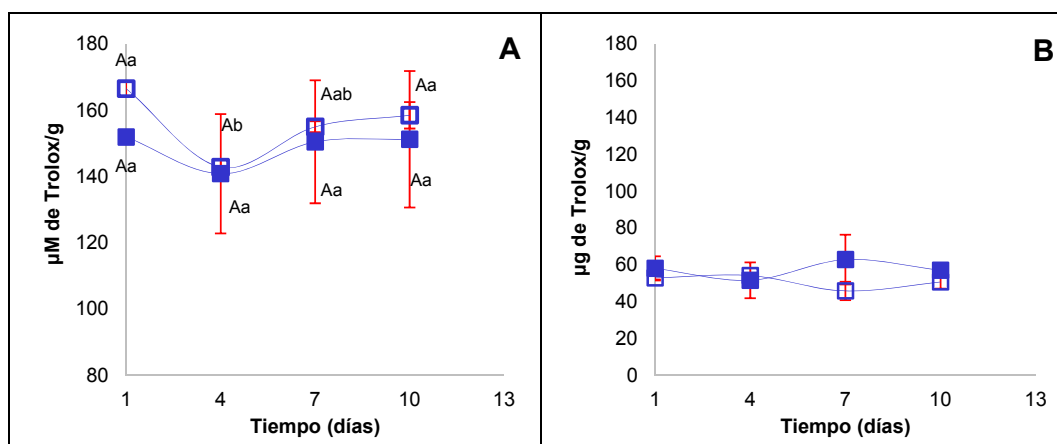


Figura 9. Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas (80/10% O₂/CO₂) en la capacidad antioxidante de tomate de árbol por ABTS (A) y DPPH (B). Tratamiento (■) y control (□).

A, B: indican diferencias significativas entre el tratamiento con atmósfera modificada y el control

a, b, c: indican diferencias significativas entre los días de almacenamiento (Días 1, 4, 7 y 10)

n: Los resultados se reportan como la media de 2 réplicas medidas en duplicado

El tomate de árbol es una fruta no climatérica que es incapaz de continuar su proceso de maduración luego de la recolección del fruto. De tal manera, que los cambios observados por efecto de la aplicación de atmósferas modificadas en este tipo de bayas no está relacionado con el incremento de su tasa respiratoria,

como en el caso del arazá y la naranjilla (Benkeblia *et al.*, 2011; Schotsmans, 2011). En el tomate de árbol el intercambio gaseoso dependerá en gran medida de la morfología de la piel y las características internas del fruto, por donde el gas ingresa por difusión. En este tipo de frutos la cutícula puede actuar como barrera al intercambio gaseoso, no hallándose así, diferencias significativas frente al tratamiento control (Vijay y Rakesh, 2014).

Debido a la poca información existente, respecto a la conservación de tomate de árbol se tomó como referencia el trabajo realizado por Zheng *et al.* (2003). Estos autores observaron que la aplicación de atmósferas superoxigenadas y ricas en CO₂, pueden mejorar la capacidad antioxidante de frutas no climatéricas como arándano, frambuesa y fresas. De igual manera, en trabajos previos establecieron que existe una relación lineal entre el contenido polifenoles totales, antocianinas y la capacidad antioxidante (ORAC) en algunos tipos de bayas.

En la Tabla 10, se presentan los estudios de correlación de Pearson entre el contenido fenólico de tomate de árbol conservado en atmósfera 80/10% O₂/CO₂ y la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH. Al igual que en apartado anterior, los contenidos de antioxidante totales (antocianinas, carotenoides, flavonoides y polifenoles) se tomaron del trabajo presentado por Chicaizas (2018).

Tabla 10. Coeficiente de correlación de Pearson (*r*) entre la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH y los compuestos fenólicos de tomate de árbol almacenado en atmósfera modificada 80/10% O₂/CO₂

ANTIOXIDANTES	Coeficiente de correlación de Pearson (<i>r</i>)	
	ABTS	DPPH
Antocianinas totales	0,7259*	0,5429
Carotenoides totales	0,7010	0,2120
Flavonoides totales	0,7944*	0,2024
Polifenoles totales	0,7259*	0,5429

* Estadísticamente significativo ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95%

Como puede observarse en la Tabla 10, la capacidad antioxidante de tomate de árbol evaluada por el método de ABTS presentó correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con el contenido de antocianinas ($r = 0,7259$), flavonoides ($r = 0,7944$) y polifenoles ($r = 0,7259$). A pesar de su alto grado de correlación ($r = 0,7010$), los carotenoides no mostraron un efecto significativo sobre la capacidad antioxidante de la fruta. Por el contrario, la capacidad antioxidante medida por DPPH no mostró una correlación estadísticamente significativa ($p > 0,05$) con alguno de los compuestos bioactivos de esta fruta.

Los resultados obtenidos demuestran que el tipo de atmósfera modificada que se aplique para el tratamiento postcosecha de tomate de árbol, puede afectar a los componentes fenólicos y la capacidad antioxidante del fruto. Al aplicar

atmósferas clásicas (2,5/2,5% O₂/CO₂) se observó que existe una alta correlación entre estos componentes y la capacidad antioxidante medida por DPPH. Mientras que las atmósferas con 80/10% O₂/CO₂ están correlacionadas con la capacidad antioxidante medida por ABTS.

Según Zheng *et al.* (2003), en arándano la capacidad antioxidante (ORAC) se le atribuye a los polifenoles presentes en el fruto, puesto que son considerados como agentes antioxidantes fuertes.

5.2.4. Correlaciones canónicas

Al realizar el análisis de correlación de Pearson (r) se observó que dependiendo del tipo de fruta existe una mayor o menor correlación de los distintos grupos de compuestos antioxidantes con los valores de capacidad antioxidante determinadas por ABTS o por DPPH, y en algunos casos no existe correlación significativa con uno de los métodos empleados. Por tanto, se consideró necesario evaluar el efecto del contenido de antioxidantes de las tres frutas en la capacidad antioxidante determinada por los dos métodos utilizados (ABTS y DPPH) de manera simultánea. Para esto se empleó un análisis de correlación canónica (Figura 10) cuyo objetivo es buscar las relaciones entre dos grupos de variables; el primer grupo de variables consideradas son los antioxidantes de las frutas y segundo el grupo formado por los resultados de capacidad antioxidante.

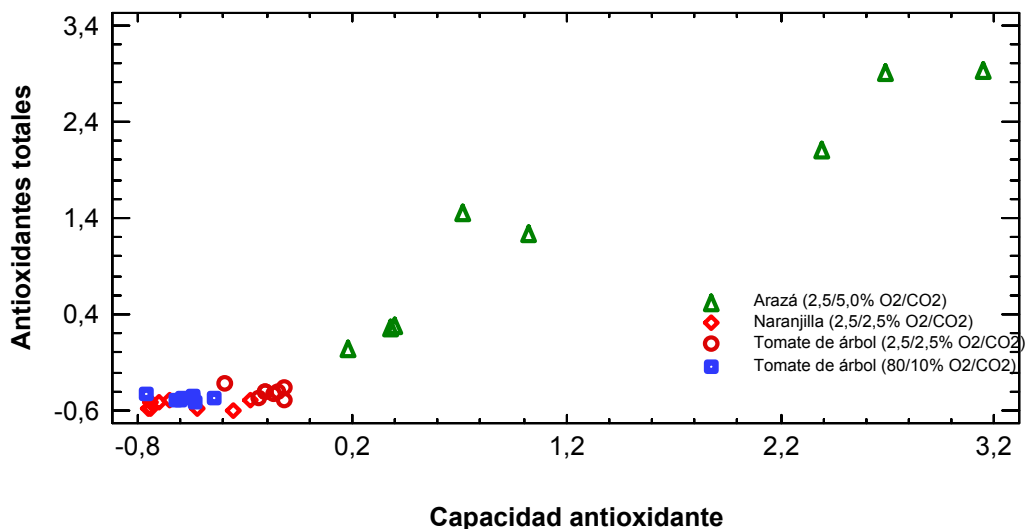


Figura 10. Análisis de correlación canónica entre la capacidad antioxidante medida por ABTS y DPPH y el contenido fenólico total de arazá, naranja y tomate de árbol

De acuerdo a los resultados presentados en la Figura 10, existe una alta correlación entre el contenido de antioxidantes totales (antocianinas,

carotenoides, flavonoides y polifenoles) y la capacidad antioxidante medida por ABTS y DPPH. La primera correlación canónica encontrada es estadísticamente significativa ($p=0,000$), con una magnitud de 0,9716; considerándose particularmente fuerte. Las ecuaciones canónicas (Ecuación 6 y 7) asociadas fueron expresadas la siguiente manera:

$$CA = -0,0096 \cdot AT - 0,1794 \cdot CT - 0,1492 \cdot FT + 0,8014 \cdot PT \quad \text{Ecuación 6}$$

$$AT = 0,1253 \cdot ABTS + 0,8867 \cdot DPPH \quad \text{Ecuación 7}$$

Los coeficientes de las ecuaciones canónicas muestran como la variable denominada antioxidantes totales (AT) está definida fundamentalmente por el contenido en polifenoles totales de las frutas mientras que, la variable capacidad antioxidante (CA) viene definida por las determinaciones obtenidas con el método DPPH.

A nivel general, se puede plantear que en base a la capacidad antioxidante de las frutas se pueden diferenciar dos grupos muy marcados. El primer grupo está compuesto por el arazá cuya capacidad antioxidante se debe principalmente al contenido de polifenoles totales; mientras que el segundo grupo lo componen la naranjilla y el tomate de árbol. Esto podría deberse a que el arazá es una fruta que ha sido reconocida por su alta actividad antioxidante; en pruebas in vitro se ha observado que es efectivo en la eliminación de radicales, neutralización de la acción nociva de las especies reactivas y transferencia de radicales hidrógeno, presentando valores muy altos de capacidad antioxidante por distintos métodos: ABTS ($435,31 \mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$), FRAP ($245,67 \mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$), ORAC ($260,76 \mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$) y TEAC ($118,53 \mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$) (Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Lizcano *et al.*, 2010). Según Neri-Numa *et al.* (2013) y Barros *et al.* (2017) estas propiedades antioxidantes de la fruta se debe a la presencia de altos contenidos de ácido gálico, ácido ascórbico, miricetina, quercetina, ácido cinámico y trazas de ácido vainílico, kaempferol y naringenina.

El segundo de grupo de frutas compuesto por la naranjilla conservada en atmósferas modificadas con 2,5/5,0% O₂/CO₂ y el tomate de árbol conservado en con atmósferas clásicas (2,5/2,5% O₂/CO₂) y ricas en oxígeno y CO₂ (80/10% O₂/CO₂) presentaron una menor correlación canónica con su capacidad antioxidante que el arazá. Para Vasco *et al.* (2008) la baja eficiencia antiradical y la baja capacidad antioxidante de estas frutas se puede deber a que sus compuestos fenólicos son antioxidantes débiles o están unidos a otras moléculas como los carbohidratos, que reducen considerablemente su actividad antioxidante.

Los polifenoles predominantes en la naranjilla son los ácidos mono y dicafeoil quínicos, pertenecientes a los ácidos hidroxicinámicos; siendo predominante el ácido monocafeoil quínico, un fenol simple de baja actividad antioxidante (Mertz *et al.*, 2009), reportándose valores de 93,09 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$ en ABTS, 51,66 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$ para FRAP, 24,42 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$ en DPPH y 125,13 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$ en ORAC (Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Mertz *et al.*, 2009; Vasco *et al.*, 2008).

El tomate de árbol (variedad Mora Ecuatoriano) es rico en antocianinas como pelargonidina 3-*o*-rutinosido y delphinidina 3-*o*-rutinosido, ácidos hidroxicinámicos como el ácido rosmarínico y el ácido 3-*o*-cafeoilquínico. Para algunos autores, además de los polifenoles, la capacidad antioxidante del tomate de árbol está asociada a compuestos como la delphinidina 3-*o*-rutinosido, debido a que se considera que esta antocianina es altamente eficiente en la captura del radical ABTS (Espin *et al.*, 2016; Mertz *et al.*, 2009). Respecto al tomate de árbol se han publicado varios trabajos acerca de capacidad antioxidante empleando distintos métodos, los valores obtenidos variaron dependiendo del método, la procedencia de la muestra y el estado de madurez: ABTS (70,00 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$), DPPH (34,99 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$), FRAP (15-163,27 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$) y ORAC (123,28 a 202 $\mu\text{MTrolox}\cdot\text{g}^{-1}$) (Espin *et al.*, 2016; Mertz *et al.*, 2009; Schotsmans, 2011; Vasco *et al.*, 2008).

De igual manera, es importante resaltar que estas frutas (arazá, naranjilla y tomate de árbol) también son ricas en otros antioxidantes como la vitamina C y los carotenoides que pueden contribuir en su capacidad antioxidante. Sin embargo, la vitamina C no fue cuantificada. En el caso de los carotenoides, no se observó una correlación significativa o correlaciones fuertes entre estos compuestos debido a que para su extracción se requiere de solventes de carácter hidrofóbico o apolar como el hexano; lo que permitiría medir la capacidad antioxidante de carácter lipofílico de estas frutas (Mertz *et al.*, 2009). Para Barros *et al.* (2017) la capacidad antioxidante total de fruta y las correlaciones positivas, responden proporcionalmente a los métodos y técnicas utilizadas.

La importancia de la cuantificación de la capacidad antioxidante de las frutas radica en los efectos beneficiosos que estas aportan a la salud. Por lo tanto, se consideró importante determinar los valores de este parámetro en base húmeda considerándose una porción comestible de 100 gramos de fruta. De tal manera, el consumidor podrá asociar los valores de capacidad antioxidante aportados por el arazá, la naranjilla y el tomate de árbol a su dieta diaria, como se detalla en el apartado 5.2.5.

5.2.5. Capacidad antioxidante por porción comestible de fruta

En la Tabla 11, se presenta los valores de capacidad antioxidante expresada en mg de Trolox•100g⁻¹ de porción comestible de arazá, naranjilla y tomate de árbol conservados en atmósferas modificadas durante un periodo de 10 días.

Tabla 11. Capacidad antioxidante expresada en mg de Trolox•100g⁻¹ (BH) de porción comestible de arazá, tomate de árbol y naranjilla conservados en atmósferas modificadas.

Almacenamiento (días)	Capacidad antioxidante mg de Trolox•100g ⁻¹							
	Arazá (2,5/5,0% O ₂ /CO ₂)		Naranjilla (2,5/5,0% O ₂ /CO ₂)		Tomate de árbol (2,5/2,5% O ₂ /CO ₂)		Tomate de árbol (80/10% O ₂ /CO ₂)	
	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH
1	549,16	1075,67	73,60	346,51	155,22	388,72	174,38	456,40
4	574,49	1074,77	75,68	360,10	148,08	385,69	154,93	423,10
7	214,93	645,97	109,34	348,96	138,42	447,01	188,68	452,04
10	192,53	726,26	113,71	357,32	168,61	521,84	171,32	454,35

BH: Base húmeda o en fruta fresca

Los resultados de arazá obtenidos en este estudio son comparables con los valores publicados por otros autores (Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Lizcano *et al.*, 2010; Neri-Numa *et al.*, 2013). En este fruto se ha determinado que su consumo en estado fresco puede aportar una capacidad antioxidante entre 137,66 y 505,59 mg de Trolox•100g⁻¹, dependiendo del método empleado para su medición (ABTS, FRAP, ORAC, TEAC, entre otros). Por lo tanto, los valores obtenidos en ABTS (192,53 mg de Trolox•100g⁻¹) al final del periodo de tratamiento con atmósferas modificadas (2,5/5,0% O₂/CO₂) fueron muy cercanos a los reportados por estos autores; sin embargo la capacidad antioxidante medida por DPPH (726,26 mg de Trolox•100g⁻¹) es superior.

Al ajustar los valores de la capacidad antioxidante de naranjilla a base húmeda se observó que su aporte a puede ser muy parecido al del arazá, puesto que en una porción comestible de 100 gramos de esta fruta se puede obtener entre 80,09 y 410,48 mg de Trolox (Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Mertz *et al.*, 2009; Vasco *et al.*, 2008). Al igual que en arazá, los valores obtenidos dependerán del método empleado para su determinación (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC). Se puede decir que en el caso de esta fruta, las atmósferas (2,5/5,0% O₂/CO₂) también permitieron conservar la capacidad antioxidante de la naranjilla puesto que los valores obtenidos están dentro del rango obtenido por estos autores para ABTS (113,71 mg de Trolox•100g⁻¹) y DPPH (357,32 mg de Trolox•100g⁻¹).

De igual manera, en tomate de árbol se observó que al ajustar los resultados de la capacidad antioxidante de la fruta a base húmeda, incrementó su valor. Es así que la capacidad antioxidante por los métodos de ABTS (168,61 y 171,32 mg de Trolox•100g⁻¹) y DPPH (521,84 y 454,35 mg de Trolox•100g⁻¹) para las frutas

conservadas en atmósferas con 2,5/2,5% O₂/CO₂ y 80/10% O₂/CO₂; respectivamente; mostraron valores de capacidad antioxidante dentro de los rangos mostrados (45,07 a 606,95 mg de Trolox•100g⁻¹) por Espin *et al.* (2016), Mertz *et al.* (2009), Schotsmans (2011) y Vasco *et al.* (2008) para tomate de árbol morado de diferentes orígenes y cultivares, medidos por ABTS, DPPH,FRAP, ORAC y AA-TROLOX.

Finalmente, se puede concluir que la aplicación de atmósferas modificadas para la conservación de frutas tropicales (arazá y naranjilla) y andinas (tomate de árbol) permite mantener sus propiedades antioxidantes, antiproliferativas, antimutagénicas y antígenotóxicas, las mismas que están asociadas con su capacidad antioxidante.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

- Las frutas climatéricas como el arazá y la naranjilla respondieron de mejor manera los tratamientos con atmósferas modificadas que el tomate de árbol; puesto que, por sus características fisiológicas estas continúan con su proceso de respiración después de la cosecha.
- A diferencia del arazá y el tomate de árbol, la naranjilla incrementa su capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) por efecto de la aplicación de atmósferas modificadas.
- El arazá es una fruta de vida útil muy corta, por lo que el estudio realizado permitió determinar los cambios de la capacidad antioxidante de esta fruta desde su cosecha hasta la senescencia.
- Los valores más altos de capacidad antioxidante obtenida en las tres frutas correspondieron a los resultados obtenidos por ABTS.
- Durante el periodo de tratamiento con atmósferas modificadas, el arazá presentó una mayor capacidad antioxidante en ABTS y DPPH que la naranjilla y el tomate de árbol.
- Los análisis de correlación de Pearson demostraron que la capacidad antioxidante estuvo relacionada con la capacidad antioxidante medida por DPPH; sin embargo, en arazá se observó correlaciones estadísticamente significativas en ABTS y DPPH.
- El análisis de correlación canónica demostró que el contenido de polifenoles totales es el principal responsable de la capacidad antioxidante de las tres frutas, al mostrar una correlación fuerte entre el contenido de antioxidantes y la capacidad antioxidante de arazá, naranjilla y tomate de árbol.
- En el gráfico de variables canónicas permitió distinguir dos grupos de frutas por su capacidad antioxidante. El arazá difiere de la naranjilla y el tomate por presentar valores de asociación más altos que las otras frutas.
- Los tratamientos con las diferentes atmósferas modificadas permitieron mantener la capacidad antioxidante de arazá, naranjilla y tomate de árbol, dentro de los rangos mostrados en otras investigaciones, hasta el décimo día de ensayo.

CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, O., Pérez, A. M., y Vaillant, F. (2009). Chemical characterization, antioxidant properties, and volatile constituents of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) cultivated in Costa Rica. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 59(1), 88-94.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., y Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J*, 21(2), 143-152. doi: 10.1016/j.jsps.2012.05.002
- Alcocer Pérez, M. (2018). *Mejora de la conservación postcosecha del tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) variedad mora mediante atmósferas modificadas*. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador.
- Angós, I. (2008). *Empleo de atmósferas ricas en CO₂ y altas concentraciones de O₂ en la mejora de las características de calidad de patata mínimamente procesada del cv. Monalisa almacenada en refrigeración*. (Tesis Doctoral), Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España.
- Arango, H., Vaillant, F., Vélez, V., y Millan, P. (1999). Evaluation of post-harvest performance of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) fruits packed under modified atmosphere (MA). [archive]. *Fruits*, 54(4), 261-270.
- Barreiro, J. A., y Sandoval, A. J. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Caracas- Venezuela: Equinoccio.
- Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Denadai, M., Nunes, M. L., y Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity in some Brazilian exotic fruit residues. *Food Research International*, 102, 84-92. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.082>
- Benkeblia, N., Tennant, D., Jawandha, S. K., y Gill, P. S. (2011). Preharvest and harvest factors influencing the postharvest quality of tropical and subtropical fruits *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 112-142): Woodhead Publishing.
- Bobo-Garcia, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Virseda, P., Marin-Arroyo, M. R., y Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *J Sci Food Agric*, 95(1), 204-209. doi: 10.1002/jsfa.6706
- Brito, B., Espín, S., Vásquez, W., Viteri, P., López, P., y Jara, J. (2012). Manejo poscosecha, características físicas y nutricionales de la naranjilla para el desarrollo de pulpas y deshidratados. In INIAP, FONTAGRO y SENESCYT (Eds.), *Plegable* (Vol. 386). Quito-Ecuador: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina.
- Cando, D. A. (2018). *Evaluación del efecto de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la composición bioquímica de arazá (Eugenia stipitata*

-
- Mc Vaugh). Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos.
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., y García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44(7), 2047-2053. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.003>
- Cuellar, F. A., Ariza, E., Anzola, C., y Restrepo, P. (2013). Estudio de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* MC Vaugh) durante la maduración. *Revista Colombiana de Química*, 42, 21-28.
- Chicaizas, P. A. (2018). *Efecto de la aplicación de atmósferas modificadas en la composición de compuestos bioactivos del tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) variedad mora ecuatoriana*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica.
- Espin, S., Gonzalez-Manzano, S., Taco, V., Poveda, C., Ayuda-Duran, B., Gonzalez-Paramas, A. M., y Santos-Buelga, C. (2016). Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red Ecuadorian cultivars of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.). *Food Chem*, 194, 1073-1080. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.07.131
- Espín, S., y Samaniego, I. (2016). Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao. In Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Ed.), *Ministerio de Agricultura Ganadería Acuicultura y Pesca*, (Vol. 105). Quito, Ecuador: Imprenta San Mateo.
- Fernández-Trujillo, J. P., Hernández, M. S., Carrillo, M., y Barrera, J. (2011). Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (Vol. 2, pp. 98-17). Cambridge (United Kingdom): Woodhead Publishing Limited.
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A., y Brecht, J. K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*, 52(2), 99-119.
- Gonzalez-Aguilera, G. A., Villa-Rodrigueza, J. A., Ayala-Zavalaa, J. F., y Yahia, E. M. (2010). Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. Review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(1), 475-482.
- Granato, D., Shahidi, F., Wrolstad, R., Kilmartin, P., Melton, L. D., Hidalgo, F. J., Miyashita, K., Camp, J. v., Alasalvar, C., Ismail, A. B., Elmore, S., Birch, G. G., Charalampopoulos, D., Astley, S. B., Pegg, R., Zhou, P., y Finglas, P. (2018). Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? *Food Chemistry*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.012>
- Guevara, J. F. (2017). *Mejora de la conservación postcosecha de la naranjilla (Solanum quitoense Lam) mediante atmósferas modificadas*. Universidad

Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos.

- Hernández, M. S., Barrera, J., Martínez, O., y Fernández-Trujillo, J. P. (2009). Postharvest quality of arazá fruit during low temperature storage. *LWT - Food Science and Technology*, 42(4), 879-884. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.009>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (2009). *Frutas Frescas Tomate de árbol, requisitos* (Vol. NTE INEN 1909: 2009, pp. 12). Quito, Ecuador: Norma Técnica Ecuatoriana
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). (2014). Programas de fruticultura, Arazá. In P. d. Fruticultura (Ed.). Quito, Ecuador.
- Kader, A., y Yania, E. M. (2011). Postharvest biology of tropical and subtropical fruits. In E. M. Yania (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (Vol. 1). Cambridge, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited,.
- Karadag, A., Ozcelik, B., y Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41-60. doi: 10.1007/s12161-008-9067-7
- Lizcano, L. J., Bakkali, F., Begoña Ruiz-Larrea, M., y Ignacio Ruiz-Sanz, J. (2010). Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. *Food Chemistry*, 119(4), 1566-1570. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.043>
- Llive, M. L. (2018). *Evalución del efecto de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la composición bioquímica de la naranjilla (Solanum quitoense Lam)*. (Ingeniera en Alimentos.), Universidad Técnica de Ambato Ambato, Ecuador.
- Mena, N. (2010). *Determinación de índices de madurez para la cosecha y conservación al ambiente, del arazá (Eugenia stipitata) y Borojó (Borojoa patinoi)*. (Ingeniero Agroindustrial), Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador.
- Mertz, C., Gancel, A.-L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., Perez, A. M., Ruales, J., y Brat, P. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 381-387. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.06.008>
- Neri-Numa, I. A., Carvalho-Silva, L. B., Morales, J. P., Malta, L. G., Muramoto, M. T., Ferreira, J. E. M., de Carvalho, J. E., Ruiz, A. L. T. G., Maróstica Junior, M. R., y Pastore, G. M. (2013). Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. *Food Research International*, 50(1), 70-76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.032>
- Osorio, C., Hurtado, N., Dawid, C., Hofmann, T., Heredia-Mira, F. J., y Morales, A. L. (2012). Chemical characterisation of anthocyanins in tamarillo

-
- (*Solanum betaceum* Cav.) and Andes berry (*Rubus glaucus* Benth.) fruits. *Food Chemistry*, 132(4), 1915-1921. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.026>
- Peña, A. C., González, M. L., Hernández, M. S., Novoa, C., Quicazán, M. C., y Fernández-Trujillo, J. P. (2011). Evaluación del comportamiento del fruto de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) en las operaciones de acondicionamiento húmedo poscosecha. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1(2), 182-188.
- Pongjaruvat, W. (2007). *Effect of modified atmosphere on storage life of purple passionfruit and red tamarillo* (Master of Science in Horticultural), Massey University, Master of Science in Horticultural Science
- Prior, R. L., Wu, X., y Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, 53(10), 4290-4302. doi: 10.1021/jf0502698
- PROEcuador. (2014). Analisis sectorial frutas exóticas 2014. In I. d. P. d. E. e. Inversiones (Ed.), *Ministerio de Comercio Exterior*. Quito-Ecuador
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237.
- Riofrío, L. A. (2010). *Regeneración de plantas de tomate de árbol (Solanum betacea) a partir de protoplastos*. Quito: USFQ.
- Sánchez, J. D. (2017). *Mejora de la conservación postcosecha del arazá (Eugenia Stipitata Mc Vaugh) mediante atmósferas modificadas*. (Carrera de Ingeniería en Alimentos), Universidad Técnica de Ambato Ambato, Ecuador.
- Sandoval, S. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos. In Instituto de Salud Pública Chile (Ed.), *Guía Técnica*. Santiago, Chile.
- Schotsmans, W. C. (2011). Tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.). In Woodhead Publishing Limited (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (pp. 427-442).
- Silva, W., Gómez, P., Viera, W., Sotomayor, A., Viteri, P., y Ron, L. (2016). Selección de líneas promisorias de naranjilla para mejorar la calidad de la fruta. *ECUADOR ES CALIDAD: Revista Científica Ecuatoriana*, 3.
- Singh, S., y Singh, R. P. (2008). In Vitro Methods of Assay of Antioxidants: An Overview. *Food Reviews International*, 24(4), 392-415. doi: 10.1080/87559120802304269
- Vasco, C., Ruales, J., y Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816-823. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>

-
- Vijay, P., y Rakesh, P. (2014). Role of internal atmosphere on fruit ripening and storability—a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(7), 1223-1250. doi: 10.1007/s13197-011-0583-x
- Yang, X., y Wang, H. (2014). *Controlled Atmosphere Packaging* (pp. 1006-1011). Lacombe, Canada: Elsevier Ltd.
- Zheng, Y., Wang, C. Y., Wang, S. Y., y Zheng, W. (2003). Effect of High-Oxygen Atmospheres on Blueberry Phenolics, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *J Agric Food Chem*, 51(24), 7162-7169. doi: 10.1021/jf030440k