



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Evaluación del efecto de la aplicación de atmósferas modificadas en la composición de los compuestos bioactivos del tomate de árbol (*Solanum betaceum* cav.) variedad mora ecuatoriana.

Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

El estudio es parte del proyecto “Puesta en marcha de línea de cocción a vacío de jugos de frutas y línea de envasado en atmósferas modificadas de alimentos vegetales mínimamente procesados” aprobado por el Honorable Consejo Universitario en Resolución 1373-CU-P-2014 y financiado por la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Técnica de Ambato.

Asimismo, el estudio se lleva a cabo en el marco del “Convenio de cooperación técnica específico para la realización de actividades de investigación científica entre la Universidad Técnica de Ambato - UTA y el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias - INIAP, Estación Experimental Santa Catalina” aprobado por el Honorable Consejo Universitario en Resolución 0696-CU-P-2017.

Autor: Pedro Alejandro Chicaiza Paredes

Tutor: Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz

Ambato – Ecuador

Marzo-2018

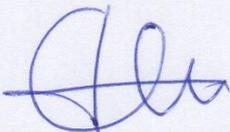
APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha ido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

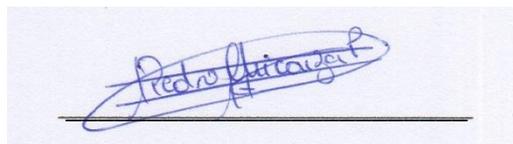
Ambato, 31 de Enero de 2018



Dr. Ignacio Ángel Angós
Iturgaiz
C.I. 1756978225
TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.

Yo, Pedro Alejandro Chicaiza Paredes, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico son absolutamente originales, auténticos y originales; a excepción de las citas bibliográficas.

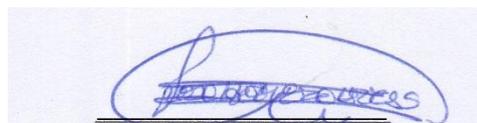


Pedro Alejandro Chicaiza Paredes.

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

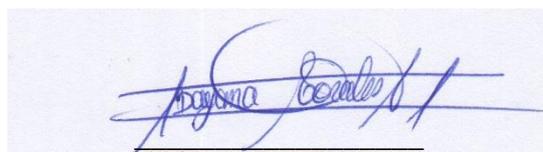
Para constancia firman:

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Presidente del Tribunal', written over a horizontal line.

Presidente del tribunal.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Cristina Arteaga Almeida', written over a horizontal line.

Dra. Cristina Alexandra Arteaga Almeida
C.I.: 050281765-3

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Dayana Morales Acosta', written over a horizontal line.

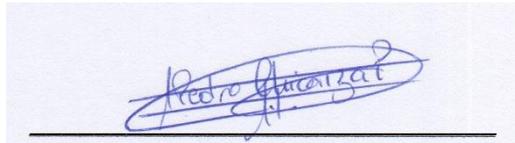
Dra. Dayana Cristina Morales Acosta
C.I.: 180413557-0

Ambato, 27 de febrero del 2018.

DERECHOS DE AUTOR.

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Pedro Alejandro Chicaiza Paredes.

1804819819

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a mis padres, gracias a ellos he podido culminar una meta más en mi vida, con su amor, cariño y sobre todo su aliento, no me han dejado ni un momento solo en todo el transcurso de mi formación académica.

A mis hermanos que con su cariño, apoyo y consejos me han ayudado en mi toda mi vida estudiantil.

Y a todos mis familiares y amigos que de alguna manera estuvieron pendientes de mí.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres quienes siempre han estado pendientes durante mi vida estudiantil y mi vida profesional brindándome lo mejor de ellos en todo momento.

A todos los Docentes, ya que sin ellos no hubiese alcanzado este éxito profesional, por ser un apoyo tanto en la parte humana como en el profesional.

Al doctor Ignacio Angós y al doctor Iván Samaniego por su tiempo, dedicación y conocimiento brindado para culminar de manera correcta el presente proyecto.

A Wilma y a los amigos de la unidad Calidad y Nutrición del INIAP: Wlady, Carmita, Eder, Doña Rosy, Doña Sory, Verito, que sin su apoyo no hubiera logrado culminar a tiempo mi parte experimental.

Y a todas las personas especiales y amigos que me brindaron el apoyo moral en toda mi vida académica.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
EL PROBLEMA.....	6
1. TEMA DE INVESTIGACIÓN.....	6
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	6
1.3. OBJETIVOS.....	8
1.3.1 Objetivo general.....	8
1.3.2 Objetivos específicos.....	8
CAPÍTULO II.....	9
MARCO TEÓRICO.....	9
2.1 ANTECEDENTES.....	9
2.2 HIPÓTESIS.....	16
2.2.1 Hipótesis nula.....	16
2.2.2 Hipótesis alternativa.....	16
2.3 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPÓTESIS.....	16
CAPÍTULO III.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1 MATERIALES.....	18
3.1.1 Material vegetal.....	18
3.1.2 Aplicación de atmósferas modificadas.....	18
3.1.3 Envasado y toma de muestra para análisis.....	19
3.3 Métodos de análisis bioquímicos.....	19
3.3.1 Antocianinas totales.....	19
3.3.2 Carotenos totales.....	20
3.3.3 Clorofila.....	21
3.3.4 Flavonoides totales.....	21
3.3.5 Polifenoles totales.....	22
3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	23
3.4.1 Factores en estudio.....	23
3.4.2 Diseño Experimental y análisis estadístico.....	23
3.4.5 Análisis funcional.....	24

CAPITULO IV	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	25
4.1.1 ANTOCIANINAS TOTALES	25
4.1.1.1 Adaptación del método para análisis de antocianinas totales	25
4.1.1.1.1 Precisión.....	25
4.1.1.1.2 Exactitud	26
4.1.1.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de antocianinas totales en pulpa.	27
4.1.1.3 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de antocianinas totales en cáscara.	28
4.1.2 CAROTENOS TOTALES	30
4.1.2.1 Adaptación del método para carotenos totales	30
4.1.2.1.1 Precisión.....	30
4.2.1.2 Exactitud	31
4.1.2.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenos totales en pulpa.	31
4.1.3 CLOROFILA TOTAL.....	33
4.1.3.1 Adaptación del método para análisis de clorofila total.....	33
4.1.3.1.1 Precisión.....	33
4.1.3.1.2 Exactitud.	34
4.1.3.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila total en cáscara.	35
4.1.4 FLAVONOIDES TOTALES	36
4.1.4.1 Adaptación del método para análisis de flavonoides totales	36
4.1.4.1.1 Linealidad.....	36
4.1.4.1.2 Precisión.....	37
4.1.4.1.3 Exactitud	38
4.1.4.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales en pulpa.	39
4.1.5 POLIFENOLES TOTALES.....	41
4.5.1 Adaptación del método para análisis de polifenoles totales	41
4.1.5.1.1 Linealidad.....	41
4.1.5.1.2 Precisión.....	42

4.1.5.1.3 Exactitud	43
4.1.5.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales.....	44
4.1.6 SELECCIÓN DE LA MEJOR ATMÓSFERA MODIFICADA PARA EL TOMATE DE ÁRBOL.....	45
4.1.6.1 ANTOCIANINAS TOTALES DE PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O ₂ + 20 % CO ₂).....	46
4.1.6.2 ANTOCIANINAS TOTALES EN LA CÁSCARA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O ₂ + 20 % CO ₂).....	48
4.1.6.3 CAROTENOS TOTALES EN PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O ₂ + 20 % CO ₂).....	49
4.1.6.4 CLOROFILA TOTAL EN CÁSCARA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O ₂ + 20 % CO ₂).....	49
4.1.6.5 FLAVONOIDES TOTALES EN PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O ₂ + 20 % CO ₂).....	50
4.1.6.6 POLIFENOLES TOTALES EN PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80% O ₂ + 20 % CO ₂).....	52
4.2 VERIFICACIÓN DE LAS HIPÓTESIS	53
CAPÍTULO V	56
5.1 CONCLUSIONES.....	56
5.2 RECOMENDACIONES	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS.....	61
ANEXO 1. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES..	61
ANEXO 2. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE CAROTENOS TOTALES	62
ANEXO 3. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE CLOROFILA TOTAL	63
ANEXO 4. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES Y POLIFENOLES TOTALES	64
ANEXO 5. TROMPETA DE HORWITZ.....	65
ANEXO 6. CONCENTRACIÓN DE ANALITOS CON RESPECTO A COEFICIENTE DE HORWITZ.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales destinos de exportación del tomate de árbol entre el periodo 2007-2011	4
Tabla 2. Factores en estudio para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas en la calidad bioquímica en el tomate de árbol.	23
Tabla 3. Esquema del análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de las atmósferas modificadas en calidad bioquímica de tomate de árbol.	24
Tabla 4. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación de antocianinas totales en muestra liofilizada de tomate de árbol.	25
Tabla 5. Contenido de antocianinas totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).	27
Tabla 6. Análisis de concentración media de antocianinas totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).	28
Tabla 7. Contenido de antocianinas totales en cáscara de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).	29
Tabla 8. Análisis de concentración media de antocianinas totales en cáscara de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).	29
Tabla 9. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación de carotenos totales en muestra de pulpa liofilizada de tomate de árbol.	30
Tabla 10. Contenido de carotenos totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).	32
Tabla 11. Análisis de concentración media de carotenos totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).	32
Tabla 12. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación clorofila total en muestra de cáscara liofilizada de tomate de árbol.	33
Tabla 13. Contenido de clorofila total en cáscara de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).	35
Tabla 14. Análisis de concentración media de clorofila total en cáscara de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).	35
Tabla 15. Resultados del estudio de regresión lineal para el método de análisis de flavonoides totales en tomate de árbol.	37
Tabla 16. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación de flavonoides totales en muestra liofilizada de tomate de árbol.	38

Tabla 17. Contenido de flavonoides totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).....	40
Tabla 18. Análisis de concentración media de flavonoides totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).....	40
Tabla 19. Resultados del estudio de regresión lineal para el método de análisis de polifenoles en el tomate de árbol.	42
Tabla 20. Resultados del estudio de depreciación del método para análisis de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de tomate de árbol.	43
Tabla 21. Contenido de polifenoles totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).....	44
Tabla 22. Análisis de concentración media de polifenoles totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).....	45
Tabla 23. Diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones medias de los compuestos bioactivos presentes en fruta almacenada durante 10 días bajo los 5 tratamientos gaseosos y refrigeración (4 °C).....	46
Tabla 24. Coeficiente de variación de Horwitz para diferentes concentraciones de analitos.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Exportaciones de frutas no tradicionales.	3
Figura 2. Apariencia externa de tomate de árbol morado y pulpa.	10
Figura 3. Carta de color descriptiva de los estados de maduración del tomate de árbol.....	11
Figura 4. Diferencias entre la intensidad respiratoria (consumo de O ₂ y producción de CO ₂) de frutos climatéricos y no climatéricos.	12
Figura 5. Estructura química de flavonoides y antocianinas.....	14
Figura 6. Diferentes tipos de carotenos presentes en alimentos.....	14
Figura 7. Esquema del sistema cerrado para la determinación de tasas de respiración y generación de las mezclas gaseosas. TR: tasa de respiración. DR: días de ensayo (1, 4, 7 y 10)	18
Figura 8. A: Porcentaje de extracción de antocianinas totales en pulpa de tomate de árbol. B: Porcentaje de extracción de antocianinas totales en cáscara de tomate de árbol.....	26
Figura 9. Porcentaje de extracción de carotenos totales en muestra pulpa liofilizada de tomate de árbol.	31

Figura 10. Porcentaje de extracción de clorofila total en muestra de cáscara liofilizada de tomate de árbol.....	34
Figura 11. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales en tomate de árbol.....	37
Figura 12. Porcentaje de extracción de flavonoides totales para pulpa liofilizada de tomate de árbol.....	39
Figura 13. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles totales.....	42
Figura 14. Resultados del ensayo de recuperación de los polifenoles totales en muestra de pulpa liofilizada de tomate de árbol.....	43
Figura 15. Evolución del contenido de antocianinas totales (mg/100 g ms) en pulpa de tomate de árbol almacenado durante 10 días bajo la mezcla gaseosa 80 % O ₂ + 20 % CO ₂ y el control 4 (aire).....	47
Figura 16. Reacción de oxidación de ácido ascórbico (A) en oxígeno catalizada por el ión cúprico.....	47
Figura 17. Evolución de antocianinas totales en cáscara (mg/100g ms) en cáscara de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo la mezcla gaseosa 80 % O ₂ + 20% CO ₂ y el control 4 (aire).	48
Figura 18. Evolución de carotenos totales (mg/100 g ms) en pulpa de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo la mezcla gaseosa 80 % O ₂ + 20% CO ₂ y el control 4 (aire).....	49
Figura 19. Evolución de clorofila total en cáscara de tomate de árbol (mg/100 g ms) durante 10 días de almacenamiento, bajo la mezcla gaseosa 80 % O ₂ + 20 % CO ₂ y el control 4 (aire).....	50
Figura 20. Evolución de flavonoides totales (mg/100g) en pulpa de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo mezcla gaseosa 80 % O ₂ + 20 % CO ₂ y el control 4 (aire).....	51
Figura 21. Mecanismo general de la polifenoloxidasas en planta.....	51
Figura 22. Evolución de polifenoles totales (mg/100g) en pulpa de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo mezcla gaseosa 80 % O ₂ + 20 % CO ₂ y el control 4 (aire).....	52

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la influencia producida por diversas atmósferas modificadas para conservar los componentes bioactivos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) variedad “mora ecuatoriana”, almacenado en refrigeración a 4 °C durante un período de 10 días. En los primeros análisis se llevó a cabo la determinación de los antioxidantes presentes en la pulpa de tomate de árbol, siendo estos: antocianinas totales, carotenos totales, flavonoides totales y polifenoles totales. Como segunda parte se analizó el efecto de las atmósferas de almacenamiento en el contenido de los componentes bioactivos presentes en la cáscara del fruto, los cuales fueron antocianinas totales y clorofila total. Las atmósferas modificadas empleadas fueron (% O₂: % CO₂): 2,5:2,5; 2,5:5,0; 80:10; 80:20 y 90:10. Los análisis se realizaron en los días 1, 4, 7 y 10, en dos cámaras de almacenamiento y cada uno por duplicado.

El mejor resultado global en la conservación postcosecha de tomate de árbol se obtuvo al emplear la combinación de gases 80 % O₂ + 20 % CO₂. Este tratamiento permitió obtener una retención del 12 % superior en el contenido de flavonoides totales de la pulpa con respecto al control y un 11 % menos de contenido de clorofila total que en el control en la piel. Ambos efectos resultaron beneficiosos por el aumento de la capacidad antioxidante conferida por los flavonoides y también por la mejora del color externo de la fruta.

Palabras clave: postcosecha, antioxidantes, antocianinas, carotenos, flavonoides, polifenoles, clorofila

ABSTRACT

In the present work was studied the influence of several modified atmospheres to preserve the bioactive components of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) variety “mora ecuatoriana”, stored under refrigeration at 4 °C during a period of 10 days. First, determination of the antioxidants present in the tree tomato pulp, considering total anthocyanins, total carotenoids, total flavonoids and total polyphenols was carried out. The second part consisted in analyzing the effect of the storage atmospheres on the bioactive content present in the fruit peel, which were total anthocyanins and total chlorophyll. The modified atmospheres used were: (% O₂: % CO₂): 2.5: 2.5; 2.5: 5.0; 80:10; 80:20 and 90:10. And analysis were carried out on days 1, 4, 7 and 10, in two storage chambers and each one in duplicate.

When postharvest storage was considered, the best global results were obtained using the gas combination 80 % O₂ + 20 % CO₂. This treatment allowed to obtain an increase of 12 % in the total flavonoid content and 11 % less total chlorophyll content than in the control in the peel. Both results were beneficial due to the increased antioxidant capacity afforded by the flavonoids and the improvement of the external color of the fruit..

Keywords: postharvest, antioxidants, anthocyanins, carotenoids, flavonoids, polyphenols, chlorophyll

INTRODUCCIÓN

Ecuador cuenta con una variedad de frutas no tradicionales que son exportadas a diferentes destinos donde son acogidas por sus aromas y sabores. Según datos de PRO-ECUADOR (2012) entre 2007 a 2012 existió una gran exportación de frutas no tradicionales, teniendo como principales destinos España, Estados Unidos y Chile.

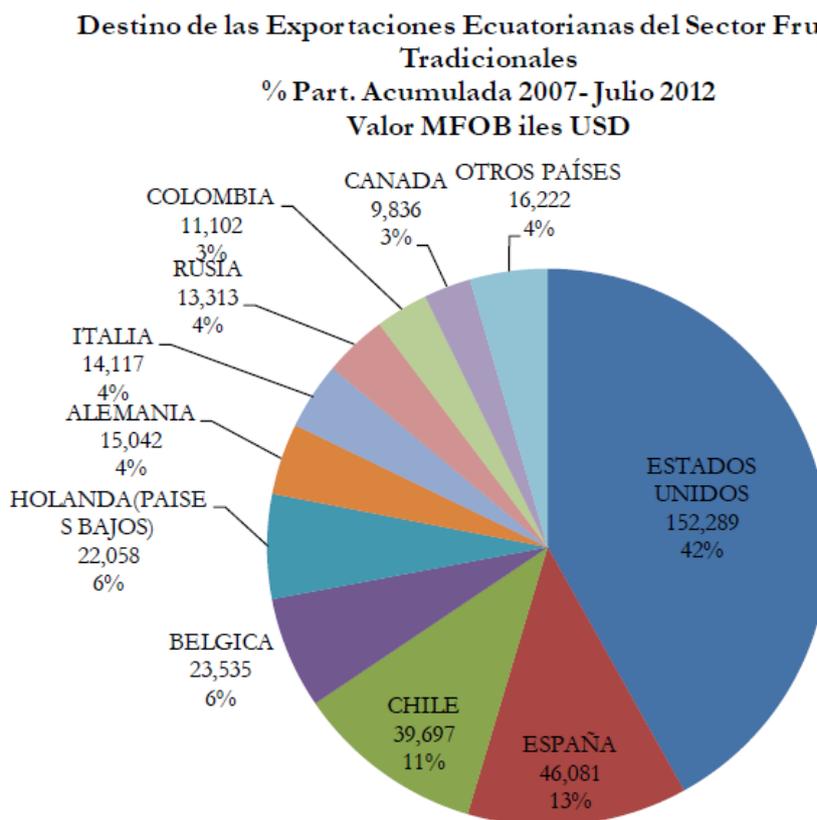


Figura 1. Exportaciones de frutas no tradicionales. Fuente: PRO-ECUADOR (2012)

Entre estos frutos no tradicionales, destaca el tomate de árbol, teniendo como principales destinos España y Estados Unidos.

Tabla 1. Principales destinos de exportación del tomate de árbol entre el periodo 2007-2011

SUBPARTIDA NANDINA	DESCRIPCIÓN NANDINA	PAÍS	TONELADAS	FOB - DÓLAR
0810903000	TOMATE DE ARBOL (LIMA TOMATE, TAMARILLO) (CYPHOMANDRA BETACEA)	ESPAÑA	69.66	199.65
		ESTADOS UNIDOS	80.16	86.88
		HOLANDA(PAISES BAJOS)	2.21	7.37
		CANADÁ	2.15	5.33
		FRANCIA	1.83	4.96
		SUIZA	1.4	4.25
		ALEMANIA	0.18	0.46
		COLOMBIA	0.8	0.23
		BÉLGICA	0.07	0.16
		REINO UNIDO	0.44	0.15

Fuente: PRO ECUADOR (2012)

En postcosecha el tomate de árbol, al igual que las demás frutas, sufre cambios internos y externos que deterioran su sabor, aroma y color con el paso del tiempo. La respiración, al utilizar las reservas del fruto (hidratos de carbono, lípidos y ácidos orgánicos) proporciona la energía necesaria para mantenerlo vivo, utilizando para ello diversas vías metabólicas que progresivamente van modificando sus propiedades nutricionales, deteriorando por oxidación los compuestos bioactivos del mismo (Fonseca *et al.*, 2002).

Dependiendo de hasta qué grado ocurran estas transformaciones, la fruta puede llegar a un estado de senescencia perdiendo todas o buena parte de sus propiedades naturales benéficas para el consumidor. Entre estos compuestos se tiene a los antioxidantes, que son biomoléculas que confieren un poder protector frente a diferentes radicales libres. Entre los antioxidantes se tiene a los polifenoles, flavonoides, antocianinas o carotenos. El ser humano, al no poder producir endógenamente este tipo de antioxidantes naturales, debe ingerirlos por medio del consumo de frutas y vegetales frescos, por eso un objetivo prioritario de la ingeniería postcosecha se enfoca en trabajar para que la mayor parte de antioxidantes que pueda presentar una fruta o verdura fresca se mantenga en las mismas o más similares condiciones luego de su cosecha, hasta el momento del consumo. Consumir este tipo

de alimentos resulta benéfico a la salud, ya que día a día el cuerpo humano produce gran cantidad de radicales libres perjudiciales (**Kaur y Kapoor, 2001**).

El tomate de árbol morado, por su color, tiene una gran cantidad de antioxidantes, específicamente relacionados con las antocianinas (coloración roja), pero también posee otros tipos de compuestos bioactivos como polifenoles y flavonoides, así como también carotenos. Dependiendo de su estructura, les permite ser donantes o aceptores de electrones e hidrógeno, neutralizando a los radicales perjudiciales para las células (**Cuesta *et al.*, 2017; Vasco *et al.*, 2009**).

Las atmósferas modificadas son tecnologías que ayudan a mantener las propiedades nutritivas de la fruta por un período largo de tiempo utilizando diversas concentraciones de gases (oxígeno, carbono, nitrógeno, ozono, etileno, etc.) para alargar o mantener la vida útil potencial del producto, de forma que cuando el consumidor la ingiera tenga las mismas propiedades benéficas sin que hayan sido alteradas durante el almacenamiento (**Fonseca y Malcata, 2003; A. Kader, 1994**)

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ATMÓSFERAS MODIFICADAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) VARIEDAD MORA ECUATORIANO.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Ecuador por su ubicación geográfica disfruta de unas condiciones agroclimáticas óptimas para que exista el desarrollo de una gran diversidad de frutas, siendo cultivadas en los diferentes microclimas que presenta el país, teniendo una producción de excelente calidad. Entre las frutas producidas, existe una gran variedad de frutas no tradicionales que son exportadas como: mangos, piñas, pitahayas, papayas, limón, uvilla o tomate de árbol (**Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones-PRO ECUADOR, 2016**).

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), por sus características organolépticas diferenciales conlleva a que sea una fruta exótica y cotizada de manera internacional. **PRO ECUADOR (2012)** reporta que en el periodo 2007 a 2011 se exportaron 80,16 toneladas de esta fruta hacia Estados Unidos por un valor de 86.660 USD y 69,66 toneladas a España por un valor de 199.650 USD. A partir de ese año hasta el 2015 los valores de exportación se incrementaron de 80.000 a 380.000 USD (**Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones-PRO ECUADOR, 2016**).

Las principales provincias productoras de esta fruta en Ecuador son las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Cañar, Azuay y Loja, teniendo un rango de productividad que abarca de 350 a 550 frutos/planta y año. Son ocho los genotipos cultivados: amarillo, negro, redondo, puntón (común), rojo, amarillo gigante, mora neozelandés y mora ecuatoriano (**Revelo Morán et al., 2004**).

El tomate de árbol en su variedad mora es apreciado en Estados Unidos y Europa por su aroma, sabor y color atractivo (**Prohens y Nuez, 2000**). La demanda que existe en España se incrementa específicamente por su valor nutricional (antioxidantes), por su forma exótica, su color y sabor y sus propiedades medicinales, exigiéndose el cumplimiento de los conceptos básicos de seguridad alimentaria, como el cumplimiento de normas limitantes de residuos de pesticidas y adecuada calidad física (**PRO-ECUADOR, 2013; Prohens y Nuez, 2000**). Esta variedad presenta gran cantidad de antioxidantes como carotenos, polifenoles, flavonoides y antocianinas (presencia del color morado), dándole valor medicinal contra enfermedades como alergias, degeneración cardiovascular, daños por especies químicas inestables transformadas por rayos UV o radicales libres, entre otras (**Jáuregui et al., 2011; Kuskoski et al., 2004; Martínez-Flórez et al., 2002**).

El tomate de árbol, al igual que las demás frutas no climatéricas, continúa su proceso de respiración en la postcosecha, mediante rutas metabólicas que generan energía para el mantenimiento de la vida del mismo, liberando dióxido de carbono y agua (**Reina et al., 1998**). Estos procesos modifican el valor nutricional de la fruta y, en sí, sus propiedades antioxidantes. **Sorio (1996)** indicó la existencia de poca conciencia en el manejo durante la cosecha y postcosecha de las frutas ecuatorianas, logrando determinar que se puede perder hasta un 50 % de la cantidad total del producto producido.

Existen tecnologías de preservación de frutos y hortalizas, una de estas es la utilización de atmósferas modificadas, una tecnología alimentaria que prolonga la vida de la fruta utilizando porcentajes de gases de oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno diferentes a los que existen en el aire común. Aplicando este tipo de atmósferas se logra una reducción de la tasa respiratoria del fruto, teniendo una vida de almacenamiento más larga, provocando que la velocidad de sus procesos metabólicos disminuya y que en combinación con el uso de refrigeración del fruto permiten obtener la conservación de sus compuestos bioactivos, como los antioxidantes (**Thompson, 2010**).

En base a lo citado anteriormente, se consideró como tema del presente trabajo, la evaluación del efecto de la aplicación de atmósferas modificadas en la composición de los componentes bioactivos del tomate de árbol variedad mora ecuatoriano.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Estudiar el efecto de la aplicación de atmósferas modificadas en la composición de los compuestos bioactivos del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) variedad mora ecuatoriana.

1.3.2 Objetivos específicos

- Poner a punto y validar las técnicas analíticas de determinación de antocianinas, carotenos, clorofilas, flavonoides y polifenoles en cáscara y pulpa de tomate de árbol.
- Analizar el contenido de antocianinas totales y clorofilas a, b y c en la cáscara de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas controladas, en base a diversas combinaciones gaseosas de O₂, CO₂ y N₂, en condiciones de refrigeración.
- Cuantificar el contenido de carotenos, antocianinas, flavonoides y polifenoles totales en la pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas controladas, en base a diversas combinaciones gaseosas de O₂, CO₂ y N₂, en condiciones de refrigeración.
- Determinar la mezcla gaseosa idónea en base a la relación entre las variables bioquímicas estudiadas y la calidad de la fruta.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES.

El tomate de árbol es una fruta nativa de América del Sur, se lo cultiva en Colombia, Ecuador, Perú y en Nueva Zelanda. La planta se desarrolla en zonas de clima templado a una altitud de 1500 a 2600 msnm, teniendo una temperatura óptima de desarrollo de 15 a 19 °C, una necesidad de precipitación pluvial de 1200 mm anuales y una humedad relativa ambiental idónea de 75 a 87 %. Es un árbol pequeño de 2 a 3 m de altura con ramificaciones que empiezan al 1,2 o 1,8 m, de consistencia semileñosa. Las hojas tienen un tamaño de 20 a 25 cm de largo y de 10 a 15 cm de ancho en plantas en estado de producción. Sus flores son pequeñas, de 1 cm de diámetro aproximadamente, de color rosado. La raíz tiene una penetración poco profunda y muy ramificada (**Revelo Morán et al., 2004**). El tomate de árbol tiene muchos nombres comunes, pero a nivel internacional se lo nombra con mayor frecuencia como tamarillo para diferenciarlo del tomate común.

Según **Bohs (1989)** el fruto es una baya elíptica, de piel lisa, de muchas semillas, que alcanza entre 4 y 10 cm de longitud y de 3 a 5 cm de diámetro. La pulpa tiene un color variable entre el amarillo y el naranja y tiene un sabor poco fuerte o amargo, mientras que la pulpa mucílago acuosa que rodea las semillas es algo ácida y dulce. Según estudios realizados por **León et al. (2004)** y **Prohens y Nuez (2000)** el tomate de árbol en su variedad mora puede alcanzar una longitud de 8,0 cm y un ancho de 5,8 cm, tiene su piel de un color rojo oscuro y vivo, en cambio el color de la pulpa es amarillenta con un color rojo en el centro, en las semillas. La fruta suele pesar entre 60 y 117 g (Figura 2).



Figura 2. Apariencia externa de tomate de árbol morado y pulpa. Fuente: León et al. (2004)

En una planta de tomate de árbol la cosecha comienza entre los 8 y 10 meses, la recolección se realiza luego de cuatro meses de floración, tomando en cuenta la madurez del fruto (**Reina, 1998**). Las normas INEN (2015) indican que la fruta tiene 6 estados de maduración: en los dos primeros (1 y 2) se puede evidenciar su color verde, indicativo del estado de inmadurez de la fruta; en los dos estados siguientes (3 y 4) se observa el incipiente desarrollo del color característico del tomate de árbol denominándose un estado “pintón”; en cambio, en los últimos estados (5 y 6) la fruta se encuentra totalmente desarrollada diciéndose que la fruta está en un estado “maduro”(Figura 3). Para el consumo humano debe ser cosechada en una fase de maduración comestible (fase 5 y 6), durante la cual posee los siguientes índices químicos: acidez titulable: 2 g ácido cítrico/100 g mh; sólidos solubles: 9 g sacarosa/100 g mh; índice de madurez: 4,5 g sacarosa/g de ácido cítrico (mh: materia húmeda).



Figura 3. Carta de color descriptiva de los estados de maduración del tomate de árbol.
Fuente: INEN (2015)

Para que exista una buena cosecha **Revelo Morán et al. (2004)** indicaron que la recolección debe realizarse cada 15 días, entre los 10 y 14 meses de crecimiento de la planta. La postcosecha comienza en el momento en que se extrae el fruto, teniendo como factores de maleabilidad: la manipulación, almacenado y pretratamiento aplicado en la fruta, los cuales aseguran la calidad y costo del producto. Los productores, para evitar su deshidratación, dejan el pedúnculo adherido a la fruta, evitando también el ingreso de patógenos por la base del fruto y que así retrase la maduración. Los tomates de árbol deben ser colocados en cajas de madera rústicas (alcanzando aproximadamente 10 kg), recubiertas en su parte interior con papel periódico para evitar roces entre la fruta y la caja. El almacenamiento se realiza de 1 a 2 días en bodegas a temperatura de refrigeración.

Estudios realizados por **Márquez et al. (2007)** indicaron que la aplicación de temperaturas demasiado bajas puede producir lesiones fisiológicas, provocando un aumento en la tasa de respiración, por lo que se estableció que las condiciones ideales para la conservación de tomate de árbol es 3,0 a 4,5 °C (temperatura de refrigeración), disminuyendo la velocidad de los procesos metabólicos, incluyendo la tasa respiratoria, manteniendo la calidad de la fruta.

La respiración de la fruta tiene gran relación con la vida útil del producto. La respiración en tejidos vegetales cosechados provoca una pérdida del sustrato almacenado reservado en el fruto. Mientras más lenta sea la respiración, más lenta es

la evolución de las células hacia la senescencia y el deterioro general del producto (Fonseca *et al.*, 2002).

La respiración en frutos no climatéricos, como es el caso del tomate de árbol, no tiene cambios bruscos con el paso del tiempo de la postcosecha (a diferencia de los frutos climatéricos). De esta forma, todos los frutos son cosechados en estado de maduración, listos para el consumo humano, y al pasar el tiempo tienden a disminuir progresivamente su intensidad respiratoria (consumo de O_2 y producción de CO_2) hasta llegar a anularse con la muerte del fruto (Figura 4) (Planella, 1987).

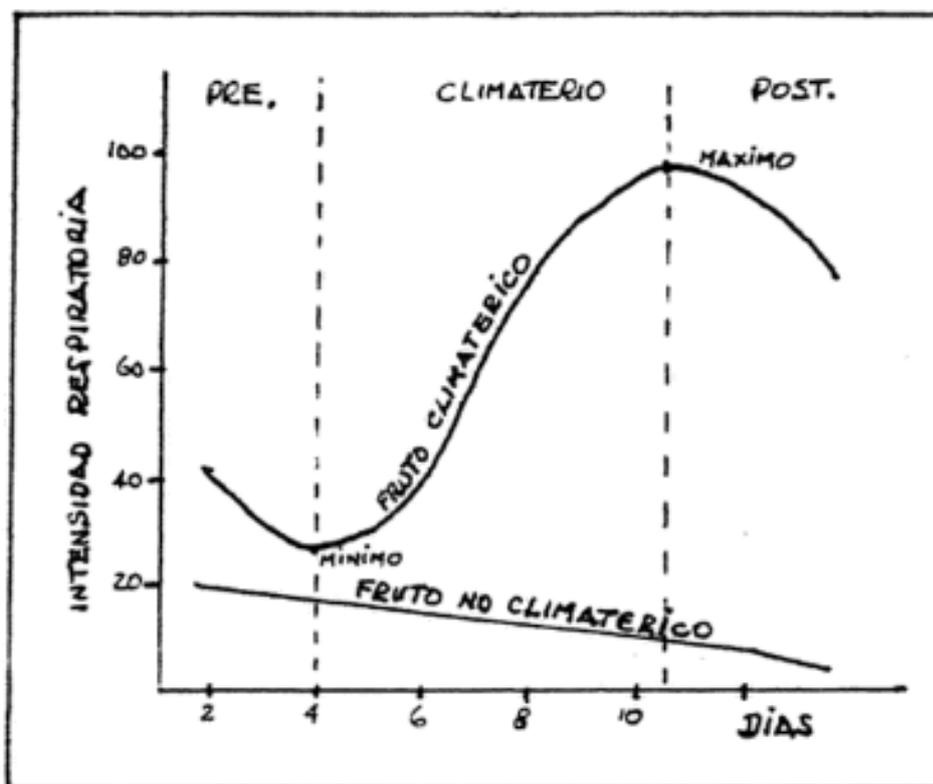


Figura 4. Diferencias entre la intensidad respiratoria (consumo de O_2 y producción de CO_2) de frutos climatéricos y no climatéricos. Fuente: Planella (1987).

La temperatura es uno de los factores que más afecta a la tasa de respiración, por lo que su control proporciona un gran beneficio al extender la vida del producto después de la cosecha. Si no se tiene un buen manejo se puede causar el deterioro del fruto, ya que las reacciones biológicas generalmente aumentan de 2 a 3 veces por cada $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ de aumento de la temperatura. La composición del gas también influye en la tasa de respiración. Las bajas concentraciones de O_2 permiten que el fruto

mantenga estable la tasa respiratoria en niveles reducidos, tomando en cuenta que no debe encontrarse en anaerobiosis. Esto puede suceder cuando la concentración de oxígeno es demasiado baja y la del dióxido de carbono es alta produciéndose una actividad fermentativa. Se debe tener en cuenta que las tasas de respiración varían para una misma fruta entre sus variedades y que, además, pueden existir cambios significativos de lote a lote de la misma variedad, que pueden también depender del tiempo transcurrido desde la cosecha (**Sousa *et al.*, 2017**).

Desde el punto de vista nutricional, las frutas por lo general están compuestas mayoritariamente por agua, hidratos de carbono, lípidos y proteínas y en menores cantidades de minerales y sustancias antioxidantes, que son biomoléculas que tienen una gran importancia para los seres vivos por su capacidad de proteger las células contra el daño oxidativo que pueden provocar los radicales libres. La capacidad antioxidante se atribuye a diferentes compuestos como los polifenoles, que tienen diferentes características fisicoquímicas que les permiten participar en diferentes reacciones de óxido-reducción. Los flavonoides son pigmentos naturales que protegen al organismo de agentes oxidantes perjudiciales para la salud (radiación ultravioleta, contaminación, compuestos químicos presentes en vegetales, entre otros). Uno de los principales grupos de especies químicas de alta reactividad pertenecientes a los flavonoides son las antocianinas o antocianidinas, pigmentos flavonólicos que le dan el color rojo y rojo-azulado a las frutas. Otro tipo de antioxidantes son los carotenos, pigmentos liposolubles naturales sintetizados por plantas, algas y algunas bacterias, que por su grado de insaturación, presentan sensibilidad a la luz, el oxígeno, los peróxidos, el calor, algunos metales y las lipoxigenasas. Existen algunos factores que determinan la riqueza en carotenos de una fruta, como son el genotipo, el manejo precosecha, el grado de madurez o las operaciones de proceso y conservación. Para maximizar el contenido de carotenos de la fruta o vegetal, diversos autores recomiendan conservarla en atmósferas pobres en oxígeno y empleando refrigeración (**Jáuregui *et al.*, 2011; Martínez-Flórez *et al.*, 2002; Quiñones *et al.*, 2012; Sgroop *et al.*, 2003**).

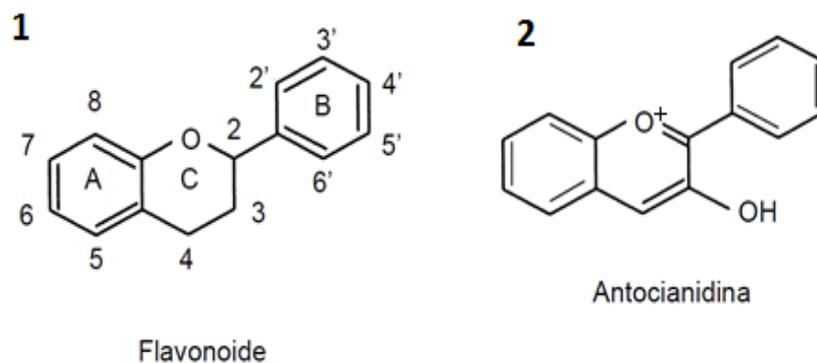


Figura 5. Estructura química de flavonoides y antocianinas. Fuente: Martínez-Flórez et al. (2002).

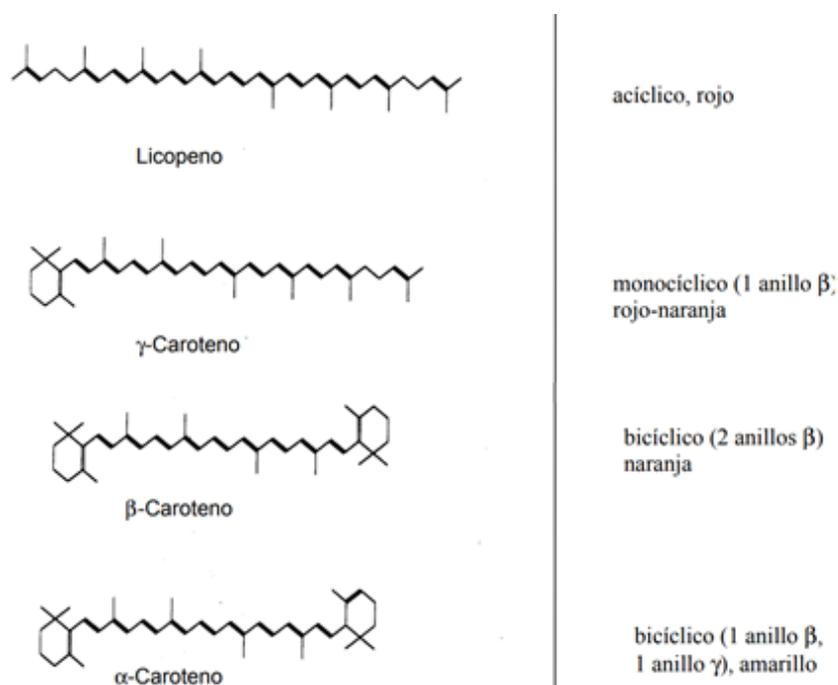


Figura 6. Diferentes tipos de carotenos presentes en alimentos. Fuente: Jáuregui et al. (2011).

El tomate de árbol presenta una considerable cantidad de estos antioxidantes (polifenoles, flavonoides, antocianinas, carotenos) que pueden encontrarse especialmente en estado maduro y el sobremaduro (Cuesta et al., 2017). El estudio realizado por Vasco et al. (2009) demostró que el contenido de compuestos bioactivos en la pulpa de tomate de árbol tiene los siguientes valores: carotenos totales, 5,2 mg β -caroteno/100 g ms; vitamina C, 16,4 mg de ácido ascórbico/100 g ms; compuestos fenólicos, 187,7 mg ácido gálico equivalente/100 g ms y una capacidad antioxidante de 3,04 μ mol Trolox/g medida por el método DPPH.

Diversas investigaciones han revelado que la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes previene enfermedades como: alergias o patologías cardiovasculares (en el caso de los flavonoides), daños por especies químicas inestables transformadas por rayos UV-Vis (en el caso de los carotenos) y radicales libres (en el caso de las antocianinas), entre otros (**Jáuregui *et al.*, 2011; Kuskoski *et al.*, 2004; Martínez-Flórez *et al.*, 2002**). Por ello es deseable mantener y conservar por el mayor tiempo posible estas propiedades antioxidantes, para lo cual es útil el empleo de atmósferas modificadas adecuadas que al ser combinadas con adecuados niveles de refrigeración y humedad, permiten que el fruto pueda mantener sus propiedades benéficas de manera óptima (**Fonseca y Malcata, 2003; A. Kader, 1994**).

El punto clave del uso de las atmósferas es su capacidad para modificar la respiración de la fruta alterando los procesos bioquímicos relacionados con la misma, causado por los diferentes porcentajes de O₂ y CO₂ que se utilizan para ello. Concentraciones bajas de O₂ ralentizan la respiración y producen la reducción de la actividad metabólica total. Se presume que esta disminución no afecta la actividad de la citocromo-oxidasa, que tiene una gran afinidad por el O₂, pero sí en la actividad de otras oxidasas de alta afinidad, como la polifenoloxidasa (PPO) y la ácido ascórbico oxidasa y oxidasas de bajo nivel de afinidad como la ácido glicólico oxidasa. En cambio, para el CO₂ no se conoce el funcionamiento primordial del proceso de inhibición de la respiración. La idea de la inhibición respiratoria por el CO₂ se podría explicar a partir del hecho de que, al ser un producto del proceso de la respiración, causaría la inhibición simple de la respiración aeróbica. Estudios realizados con concentraciones de CO₂ de 5 a 20 % indican que dichos niveles de este gas causan cambios en las actividades específicas del metabolismo respiratorio en el Ciclo de Krebs y sus enzimas. Los altos niveles de CO₂ producen acumulación de ácido succínico debido a la inhibición de la actividad de la deshidrogenasa succínica. Algunas hipótesis afirman que pueden provocar un aumento en la oxidación del malato y la oxidación suprimida del citrato, α -cetoglutarato, succinato, fumarato y piruvato teniendo un fuerte efecto de control sobre la actividad en las mitocondrias (**Fonseca *et al.*, 2002; AA Kader, 1986**).

Generalmente, los productos vegetales almacenados en atmósferas controladas tienen una vida de almacenamiento más larga porque la velocidad de los procesos

metabólicos es más lenta. Particularmente, en el caso de la fruta climatérica, esto retarda la maduración y el deterioro, de modo que cuando se han almacenado durante periodos prolongados, pueden estar menos maduras que las frutas almacenadas en el aire (**Thompson, 2010**). Este tipo de tecnología puede servir para mejorar las condiciones de almacenamiento de frutos no climatéricos, alargando sus propiedades nutricionales. Existen estudios en fresa, fruto que por su color tiene gran cantidad de antioxidantes, donde la composición de atmósferas con alta concentración en oxígeno no altera las propiedades antioxidantes del fruto (**Pérez y Sanz, 2001**). De igual manera, se ha reportado que atmósferas con altos contenidos de dióxido de carbono cambian la composición o degradan ciertos antioxidantes como las antocianinas presentes en litchi (**Valle et al., 2008**). Así mismo, en arándano rojo y morado, el almacenamiento bajo atmósferas con alto contenido de CO₂ y O₂ no afecta a la concentración de compuestos fenólicos, dándole una actividad antioxidante mayor (**Gunes et al., 2002; Zheng et al., 2003**).

2.2 HIPÓTESIS

2.2.1 Hipótesis nula.

La aplicación de cinco tratamientos con atmósferas modificadas no influye sobre la composición de los compuestos bioactivos producidos en la cáscara y pulpa del tomate de árbol almacenada por 10 días en refrigeración

2.2.2 Hipótesis alternativa.

La aplicación de cinco tratamientos con atmósferas modificadas influye sobre la composición de los compuestos bioactivos producidos en la cáscara y pulpa del tomate de árbol almacenada por 10 días en refrigeración

2.3 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

Variables independientes:

- Composición gaseosa

Variables dependientes:

En la pulpa del tomate de árbol se evaluó el contenido de:

- Antocianinas totales (AT).

- Carotenos totales (CT).
- Flavonoides totales (FT).
- Polifenoles totales (PT).

En la piel (cáscara) del tomate de árbol se evaluó el contenido de:

- Clorofila total (Ct).
- Antocianinas totales (AT).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Material vegetal

La fruta escogida sometida a diferentes atmósferas gaseosas fue el tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) de la variedad mora ecuatoriano en su estado de maduración 5 (INEN 2015). La fruta procedió de la provincia de Tungurahua, cantón Patate, sector "Manteles". La misma que fue recolectada unas horas antes del ensayo, utilizando una tabla de color y una tijera para cortar el pedúnculo, y se transportó en gavetas de cartón desinfectadas con alcohol a los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato.

3.1.2 Aplicación de atmósferas modificadas

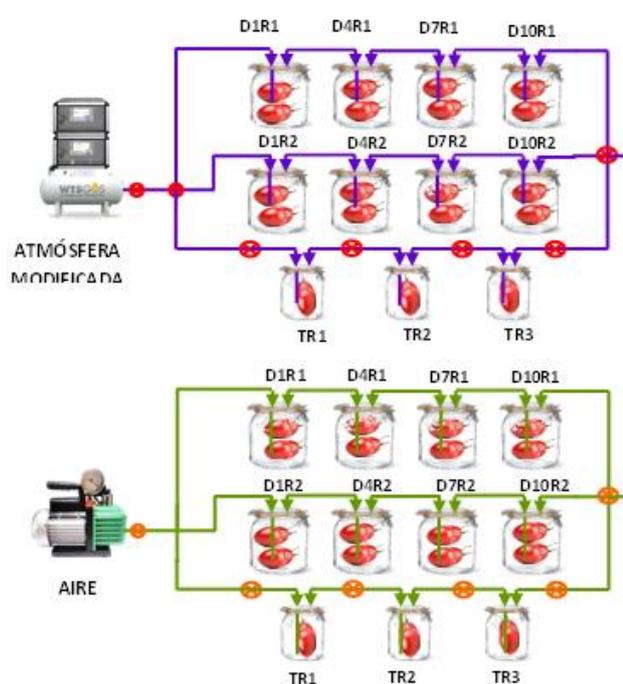


Figura 7. Esquema del sistema cerrado para la determinación de tasas de respiración y generación de las mezclas gaseosas. TR: tasa de respiración. DR: días de ensayo (1, 4, 7 y 10)

La generación de las diferentes combinaciones gaseosas se realizó empleando un mezclador de gases KM100-3 FLOW (WITT Gasetechnik, Alemania) usando como suministro bombonas de gas a presión de: oxígeno (pureza 99,5 %), nitrógeno (pureza 99,5 %) y dióxido de carbono (pureza 99,9 %), un tanque de almacenamiento

de mezcla y un sistema completo de racorería neumática que incluye reguladores de presión de doble etapa (tipo Harris), válvulas de control de caudal, válvulas de corte, reducciones, conexiones rápidas y tubería de material polimérico (Figura 7). las atmósferas gaseosas con una composición gaseosa de O₂, CO₂ tuvieron la siguientes concentraciones (%): 2,5:2; 2,5:5,0; 80:10; 80:20 y 90:10 respectivamente, para completar el 100% se utilizó nitrógeno.

Las diferentes atmósferas modificadas se compararon frente a atmósferas control, las cuales se generaron mediante la inyección al sistema de aire atmosférico con un compresor de membrana libre de aceite (Marathon Electric, modelo 5KH33GN293KX, México), a un caudal de 450 mL h⁻¹, para arrastrar de forma efectiva los gases generados en el interior de las cámaras de respiración y almacenamiento. Todas las mezclas gaseosas generadas se humidificaron (90 % de HR aproximadamente) por burbujeo a través de agua. Dicho procedimiento se muestra en la Figura 7.

3.1.3 Envasado y toma de muestra para análisis.

Para la ejecución de los ensayos experimentales se retiraron del recinto refrigerado (4 °C), las cámaras de respiración desde D1R1 y D1R2 hasta D10R1 y D10R2, cada dos días. De la muestra presente en cada frasco se tomó el 50 % para ensayos fisicoquímicos y 50 % para ensayos bioquímicos, se separó la piel de la pulpa, se rebanó en rodajas, y se colocó por separado (pulpa y cáscara) en fundas de sellado hermético, para posteriormente llevarse a congelación a -80 °C.

Las muestras ultracongeladas se transportaron hasta los laboratorios del departamento de Nutrición y Calidad del LSAIA-INIAP y se colocaron en un liofilizador (LAB-KITS, FD 18-MR; Hong Kong, China) a -80 °C y 1 Pa de presión, aisladas de la luz. Las muestras secas fueron molidas empleando molinos de café hasta obtener un polvo fino y se almacenaron en frascos herméticos de polipropileno en oscuridad.

3.3 Métodos de análisis bioquímicos.

3.3.1 Antocianinas totales

La determinación del contenido de antocianinas totales se realizó por espectrofotometría UV-VIS con base en el método publicado por **Rapisarda et al.**

(2000). Se pesó una muestra de tomate de árbol en la balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón) y se mezcló con una solución buffer de pH 1,0 (ácido clorhídrico 0,2 N y cloruro de potasio 0,2 N) en relación 1:20 (p/v), se mezcló en el vortex (Mistral 4600 Multi-Mixers, Illinois, Estados Unidos) por 5 min, se colocó por 10 min en el baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH, Illinois, Estados Unidos) y posteriormente en la centrifuga (Damon IEC Serie 04938; Estados Unidos) por 10 min a su máxima capacidad, la solución se llevó a un balón de 25 mL. Se utilizó el mismo procedimiento teniendo en cuenta que se utilizó el buffer pH 4,5 (acetato de sodio 1M y ácido clorhídrico 0,1 M). Las extracciones resultantes de cada pH se analizaron en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600 Kyoto, Japón) midiendo a una longitud de onda de 510 y 700 nm. Con estas absorbancias se procedió a calcular las antocianinas totales mediante las siguientes ecuaciones:

$$A = [(A_1 - A_2) - (A_3 - A_4)] \quad \text{Ec. 1}$$

$$AT = \frac{A}{\epsilon \cdot b} * \frac{VT}{PM} WM * 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde AT es el contenido de antocianinas totales, en mg/100·g¹, **A** es la diferencia de absorbancia entre pH 1,0 y pH 4,5, **A1** es la absorbancia a 510 nm a pH 1,0 y **A2** es la absorbancia a 700 nm a pH 1,0, **A3** es la absorbancia a 510 nm a pH 4,5 y **A2** es la absorbancia a 700 nm a pH 4,5, ϵ es el coeficiente de absorptividad de cianidin-3-glucósido (24825 L/mol/cm), **b** es el ancho de la celda (cm), **VT** es el volumen total (mL), **PM** es el peso de la muestra (g) y **WM** es la masa molecular del cianidin-3-glucósido (449,2 g/mol g/mol).

La misma metodología fue empleada para la cuantificación de antocianinas en cáscara liofilizada.

3.3.2 Carotenos totales

Se pesó una muestra pulpa liofilizada y se añadió 1 g de cloruro de calcio en la balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón) para posteriormente mezclarlo con la solución de extracción hexano/etanol/acetona 50/25/25 (v/v/v) en relación 1:20 (p/v). Se agitó por 20 min en el vortex (Mistral 4600 Multi-Mixers, Illinois, Estados Unidos), y se colocó en la centrifuga (Damon IEC, Serie 04938, Estados Unidos) por 10 min. El sobrenadante se mezcló con 15 mL de agua formándose una fase acuosa y una fase orgánica. La fase orgánica se recogió en un

balón de 10 mL y se procedió a medir en el espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600 Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 490 nm. (Leong y Oey, 2012). Para el cálculo de carotenos totales se utilizó la ecuación 3:

$$CT = \frac{A \cdot VT \cdot 10^{-3} \cdot WM \cdot 10^6}{\epsilon \cdot b \cdot PM} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde **CT** es el contenido de carotenos totales en µg/100 g, **A** es la absorbancia, ϵ es el coeficiente de absorción del β -caroteno (2560 L/mol cm), **b** es el ancho de la celda en cm, **VT** es el volumen total en mL, **PM** es el peso de la muestra en g, **WM** es la masa molecular del β -caroteno (537 g/mol).

3.3.3 Clorofila

Para la determinación de clorofila total se usó una muestra de cáscara liofilizada en la balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón) y se mezcló una solución de acetona 80 % en relación 1:20, se agitó por 5 min en vortex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos), y se colocó en la centrifuga (Damon IEC, Serie 04938, Estados Unidos) por 10 min. El sobrenadante se colocó en un balón de aforo de 10 mL y se midió en el espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600, Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 645 y 663 nm. Con las absorbancias resultantes se determinó la concentración de clorofila a (Ecuación 4), clorofila b (Ecuación 5) y clorofila total (Ecuación 6) con las siguientes fórmulas de **Arnon (1949)**:

$$C_a = \frac{D_{645} - 45,6C_b}{16,75} \quad \text{Ec. 4}$$

$$C_b = 0,0229 D_{645} - 0,00468 D_{663} \quad \text{Ec. 5}$$

$$C_t = C_a + C_b \quad \text{Ec. 6}$$

Donde **Ca** es la concentración de clorofila a en g de clorofila/g de muestra seca, **D645** es la absorbancia del extracto a 645 nm, **Cb** es la concentración de clorofila b en g/g ms, **D663** es la absorbancia del extracto a 663 nm y **Ct** es la concentración de clorofila total en g/g de muestra seca.

3.3.4 Flavonoides totales

Se pesaron aproximadamente una muestra de pulpa liofilizada en la balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón), se realizó una serie de extracciones con

una solución de metanol, agua y ácido fórmico (70/30/0,1; v/v/v) en relación 1:20, se realizó 5 min de mezcla en el vortex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos), 10 min en el baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH; Illinois, Estados Unidos) y 10 min en la centrifuga (Damon IEC, Serie 04938; Estados Unidos). El sobrenadante se colocó en un balón ámbar de 25 mL. A partir del extracto obtenido se recogió una alícuota de 1 mL, se agregaron 5 mL de agua destilada y 0,3 mL de nitrito de sodio 5 % (p/v) y se agregaron 0,3 mL de cloruro de aluminio al 10 % (p/v) por 5 min y posteriormente 2 mL de hidróxido de sodio (1 M) obteniendo una solución con tonalidad anaranjada-roja. El resultado se analizó en el espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600; Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 490 nm (**Zhishen et al., 1999**). Con la absorbancia se procedió a calcular el contenido de flavonoides totales por la muestra de pulpa con la ecuación 7:

$$FT = \frac{A-b}{a} * \frac{VT}{PM} * 100 \quad \text{Ec. 7}$$

Donde **FT** son los flavonoides totales en mg/100 g, **A** es la absorbancia, **b** y **a** son el punto de corte y la pendiente de la curva de calibración de la catequina (0 – 100 ppm), respectivamente, **VT** es el volumen total, **PM** es el peso de la muestra y es el factor de dilución.

3.3.5 Polifenoles totales

Se pesó de pulpa liofilizada en la balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón), se mezcló con una solución de metanol, agua y ácido fórmico (70/30/0,1; v/v/v) en relación 1:20 (p/v), se agitó durante 5 min en el vortex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos), se colocó 10 min en el baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH; Illinois, Estados Unidos) y 10 min en la centrifuga (Damon IEC, Serie 04938; Estados Unidos). El sobrenadante se colocó en un balón ámbar de 25 mL. De la solución se recogió una alícuota de 1 mL, se mezcló con 6 mL de agua destilada, 1 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar por 2 min. Se añadieron 2 mL de bicarbonato de sodio al 20 %, se agitó y se llevó al baño maría (Memmert WNB7-45; Schwabach, Alemania) calentado a 40 °C por 2 min (**Espín y Samaniego, 2016**). La solución obtenida se analizó mediante el espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600 Kyoto, Japón) en una longitud de onda 760 nm. Con la absorbancia se procedió a calcular los polifenoles con la ecuación 8 que se detalla a continuación:

$$PT = \frac{A-b}{a} * \frac{VT}{PM} * 100 \quad \text{Ec. 8}$$

Donde **PT** son los polifenoles totales en mg· de ácido gálico/100 g ms, **A** es la absorbancia, **b** y **a** son el punto de corte y la pendiente de la curva de calibración del ácido gálico (0 – 100 ppm) respectivamente, **VT** es el volumen total, **PM** es el peso de la muestra.

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.4.1 Factores en estudio

Se consideraron como factores en estudio la composición de la atmósfera modificada (mezcla de oxígeno y dióxido de carbono) determinada en ensayos preliminares y el tiempo de almacenamiento (10 días) como se detalla en la Tabla 2.

Tabla 2. Factores en estudio para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas en la calidad bioquímica en el tomate de árbol.

FACTOR	NIVEL	DESCRIPCIÓN DE NIVEL
Composición de la Atmósfera Modificada (Mezcla oxígeno y dióxido de carbono)	MAP 1	2,5 % O ₂ -2,5 % CO ₂
	MAP 2	2,5 % O ₂ -5,0 % CO ₂
	MAP 3	80,0 % O ₂ -10,0 % CO ₂
	MAP 4	80,0 % O ₂ -20,0 % CO ₂
	MAP 5	90,0 % O ₂ -10,0 % CO ₂
Tiempo de almacenamiento	D1	Día 1
	D2	Día 4
	D3	Día 7
	D4	Día 10

3.4.2 Diseño Experimental y análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó a través de un diseño completamente al azar (DCA) en arreglo factorial 5 x 4 con dos repeticiones, dando un total de 40 tratamientos (Tabla 3).

Tabla 3. Esquema del análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de las atmósferas modificadas en calidad bioquímica de tomate de árbol.

FUENTE DE VARIACIÓN		GRADOS DE LIBERTAD
TOTAL	FxTxR -1	39
Factor A (mezclas gaseosas)	A-1	4
Factor B (días de estudio)	B-1	3
Interacción	AxB	12
Error experimental		20

3.4.5 Análisis funcional

Para los tratamientos que presentaron diferencias significativas se utilizó el test de Tukey para la separación de medias o el equivalente no paramétrico para la comparación de medianas (test de Kruskal Wallis) a un nivel de significancia del 5 %.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1.1 ANTOCIANINAS TOTALES

4.1.1.1 Adaptación del método para análisis de antocianinas totales

Para el análisis de antocianinas totales se procedió utilizando la metodología descrita en el capítulo 3 para el tomate de árbol morado. En este método se determinó la concentración de antocianinas por diferencia de las absorbancias a pH 1,0 y pH 4,5. El cálculo se realizó con el coeficiente de absortividad molar de la cianidina-3-glucósido (Cy-3-glu). En este método no se utilizaron curvas de calibración, por lo cual se evaluaron solamente la exactitud y precisión.

4.1.1.1.1 Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de una muestra liofilizada de tomate de árbol con 6 repeticiones para pulpa y 5 repeticiones para cáscara. Siguiendo el método completo, se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación del método (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación de antocianinas totales en muestra liofilizada de tomate de árbol.

Muestra	Antocianinas totales mg (Cy-3-glu)/100 g ms	
	Pulpa	Cáscara
1	349,23	133,828
2	344,34	135,290
3	345,39	137,535
4	345,05	135,755
5	339,99	136,023
6	341,13	-
Promedio	344,19	135,69
Desv. Estándar	3,31	1,20
Coef. Variación	0,96	0,88

Cy-3-glu: cianidín-3-glucósido; ms: materia seca

Observando los resultados de la Tabla 4, se determinó que el error de repetitividad máximo obtenido en el ensayo para las antocianinas totales en pulpa fue de 0,96 %, y el error de repetitividad obtenido en el ensayo para las antocianinas totales en cáscara fue de 0,88 %. Ambos errores estuvieron dentro de los límites permitidos para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido ecuación de Horwitz (8 %) (Orozco y Báez, 2010), por lo cual el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.1.1.1.2 Exactitud

Para llevar a cabo el análisis de exactitud como porcentaje de recuperación, se determinó del número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de antocianinas totales de la muestra liofilizada de tomate de árbol, utilizando como solvente de extracción el buffer pH 1,0 y buffer pH 4,5 (Figura 8).

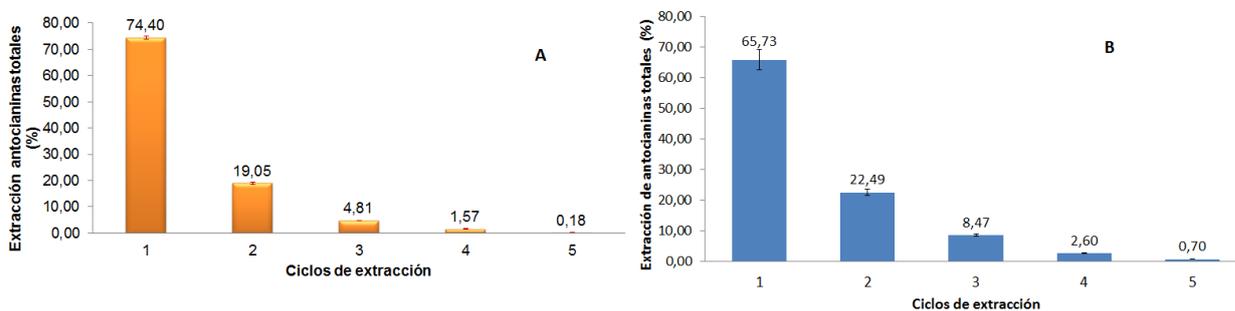


Figura 8. A: Porcentaje de extracción de antocianinas totales en pulpa de tomate de árbol. B: Porcentaje de extracción de antocianinas totales en cáscara de tomate de árbol.

Observando los resultados de la Figura 8, se estableció que se requirieron cuatro ciclos de extracción de 10 min de agitación para obtener el 99,82 % de recuperación de las antocianinas totales en pulpa de tomate de árbol y también para obtener el 99,30 % de recuperación de antocianinas totales en cáscara de tomate de árbol, por lo cual se logró demostrar que el método es robusto y que permitió cuantificar de una manera confiable el contenido de estas biomoléculas.

4.1.1.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de antocianinas totales en pulpa.

En la Tabla 5 se presentan los resultados promedio del análisis de antocianinas totales en muestras de pulpa liofilizada de tomate de árbol almacenado por 10 días en las diferentes atmósferas modificadas (MAP) estudiadas, con sus respectivos controles.

Tabla 5. Contenido de antocianinas totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).

Mezcla gaseosa	Antocianinas totales (mg Cy-3-glu /100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
MAP 1 (2,5/2,5)	484,31±20,79	515,20±58,74	465,40±25,47	580,09±43,45
Aire1	488,42±14,79	504,60±43,68	615,73±22,30	519,50±17,40
MAP 2 (2,5/5,0)	498,24±26,11	427,99±5,56	498,63±82,99	528,45±24,55
Aire2	225,64±5,37	479,42±29,14	508,55±36,46	502,26±33,61
MAP 3 (80/10)	615,03±28,99	474,42±120,08	460,54±64,55	492,51±150,27
Aire3	537,96±211,41	542,66±24,30	463,60±5,03	461,56±40,82
MAP 4 (80/20)	567,96±3,10	592,07±39,01	489,40±18,81	526,37±140,33
Aire4	527,78±20,57	453,37±107,80	546,34±43,41	560,01±21,59
MAP 5 (90/10)	640,18±160,04	688,96±0,08	637,15±15,93	682,58±115,00
Aire5	655,82±35,77	594,25±19,31	580,88±26,87	752,68±4,47

ms: materia seca; n:2

Mediante un análisis de varianza (ANOVA) se verificó la existencia o no de diferencias significativas entre las concentraciones de antocianinas totales presentes en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo las distintas atmósferas modificadas, respecto a sus contrapartes almacenadas en atmósfera control (aire) con un nivel de confianza del 95 %. Para comprobar la existencia de diferencias significativas entre las medias, se utilizó el test de Tukey empleando un nivel de confianza del 95 % (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de concentración media de antocianinas totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).

Tratamiento	*MAP	*Aire	Dif. abs.	Dif. rel.	Sig.
	(mg Cy-3-glu /100 g ms)			(%)	95%
MAP 1 vs A1	511,25	532,06	-20,81	-4 %	ns
MAP 2 vs A2	488,32	428,97	59,36	14 %	ns
MAP 3 vs A3	509,14	501,44	7,70	2 %	ns
MAP 4 vs A4	542,85	521,88	20,97	4 %	ns
MAP 5 vs A5	662,22	645,91	16,31	3 %	ns

MAP: atmósfera modificada; A: atmósfera gaseosa compuesta por aire (control); ns: no significativo; Cy-3-glu: cianidín-3-glucósido; ms: materia seca

El ANOVA determinó que ninguna de las atmósferas modificadas estudiadas hizo variar de forma significativa ($p < 0,05$) el contenido promedio de antocianinas totales de la fruta durante el almacenamiento refrigerado, respecto a las atmósferas control. Se compararon los promedios de MAP y de aire con el dato reportado por **Vasco et al. (2009)** de la concentración de antocianinas totales sobre el tomate de árbol color morado con un valor de 38 mg/100 g muestra fresca, y se concluye que tiene un valor mucho mayor que el reportado. Esto se puede deber a que los análisis del presente proyecto se realizaron utilizando toda la pulpa, en cambio los valores reportados son únicamente de las semillas, teniendo una considerable diferencia de concentraciones.

4.1.1.3 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de antocianinas totales en cáscara.

En la Tabla 7 se presentan los resultados promedio del análisis de antocianinas totales en muestras de cáscara liofilizada de tomate de árbol almacenado por 10 días en las atmósferas modificadas (MAP) estudiadas, con sus respectivos controles.

Tabla 7. Contenido de antocianinas totales en cáscara de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).

Mezcla gaseosa	Antocianinas totales (mg Cy-3-glu /100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
MAP1 (2,5/2,5)	60,95±5,04	57,77±3,11	81,20±6,40	72,61±5,67
Aire1	73,19±2,94	80,69±17,54	92,94±1,08	63,66±0,72
MAP2 (2,5/5,0)	34,40±0,96	37,00±6,87	37,75±17,40	26,74±1,11
Aire2	42,34±0,94	39,29±16,95	51,07±9,61	33,78±0,97
MAP 3 (80/10)	60,51±7,64	78,88±4,85	66,84±2,96	101,51±0,01
Aire3	55,30±3,34	91,01±19,53	105,84±16,31	101,43±9,49
MAP4 (80/20)	83,29±6,49	104,06±4,08	64,15±8,83	87,01±0,67
Aire4	87,76±6,97	77,88±16,22	85,78±10,85	99,29±7,79
MAP 5 (90/10)	126,63±0,62	126,11±20,92	91,88±2,46	118,79±2,74
Aire5	122,26±17,54	102,72±3,64	136,91±27,56	147,49±5,86

ms: materia seca; n=2

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 % para identificar la existencia o no de diferencias significativas en la concentración de antocianinas totales de cáscara de tomate de árbol almacenado en las atmósferas modificadas estudiadas y su respectivo testigo (Tabla 8). Para comprobar la existencia de diferencias significativas entre las medias, se utilizó el test de Tukey.

Tabla 8. Análisis de concentración media de antocianinas totales en cáscara de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).

Tratamiento	*MAP (mg Cy-3-glu /100 g ms)	*Aire	Dif. abs.	Dif. rel. (%)	Sig. 95%
MAP 1 vs A1	68,28	77,62	-9,34	-12 %	***
MAP 2 vs A2	33,98	41,63	-7,66	-18 %	***
MAP 3 vs A3	76,94	88,39	-11,46	-13 %	ns
MAP 4 vs A4	84,63	87,68	-3,05	-3 %	ns
MAP 5 vs A5	115,85	127,34	-11,49	-9 %	ns

MAP: atmósfera modificada; A: atmósfera gaseosa compuesta por aire (control); ns: no significativo; Cy-3-glu: cianidín-3-glucósido; ms: materia seca***: significativo al 95% de confianza

La Tabla 14 muestra que los tratamientos 2,5 % O₂ + 2,5 % CO₂ y 2,5 % O₂ + 5 % CO₂ redujeron significativamente (p<0,05) el contenido promedio de antocianinas totales de la cáscara del tomate de árbol durante su almacenamiento refrigerado. La síntesis de antocianinas en algunos frutos no climatéricos está relacionada con la presencia de etileno y esta a su vez por la presencia de oxígeno, al tener menor

disposición de oxígeno evitará la síntesis antocianinas, por consiguiente el almacenamiento en atmósferas de concentraciones bajas en oxígeno disminuye la presencia del compuesto bioactivo y por consiguiente perjudica la coloración de la fruta (Castilla, 2007; Cerrón y Rodríguez, 2007).

4.1.2 CAROTENOS TOTALES

4.1.2.1 Adaptación del método para carotenos totales

Para determinar el contenido total de carotenos se extrajo el analito con la metodología descrita en el capítulo 3. En el extracto obtenido se determinó la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro UV-visible y se calculó la concentración directamente utilizando el coeficiente de extinción molar del β -caroteno.

4.1.2.1.1 Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de una muestra liofilizada de pulpa de tomate de árbol con 6 repeticiones siguiendo el método de carotenos totales, y se estableció la desviación estándar y el coeficiente de variación. (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación de carotenos totales en muestra de pulpa liofilizada de tomate de árbol.

MUESTRA	Carotenos totales ($\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g ms}$)
1	30,99
2	30,86
3	31,27
4	30,98
5	30,85
6	31,27
Promedio	31,03
Desv. estándar	0,19
Coef. variación	0,61

Observando los resultados de la Tabla 8, se determinó que el error de repetitividad máximo obtenido en el ensayo fue de 0,61 %; este error estuvo dentro del límite permitido para la concentración medida ($\mu\text{g/g}$) de acuerdo a lo establecido por la

ecuación de Horwitz (16 %) (Orozco y Báez, 2010), por lo cual se estableció que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.2.1.2 Exactitud

Para el análisis de exactitud como porcentaje de recuperación se realizó la determinación del número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de los carotenos utilizando como solvente de extracción Hexano/Etanol/Acetona 50/25/25 (v/v/v) (Figura 9).

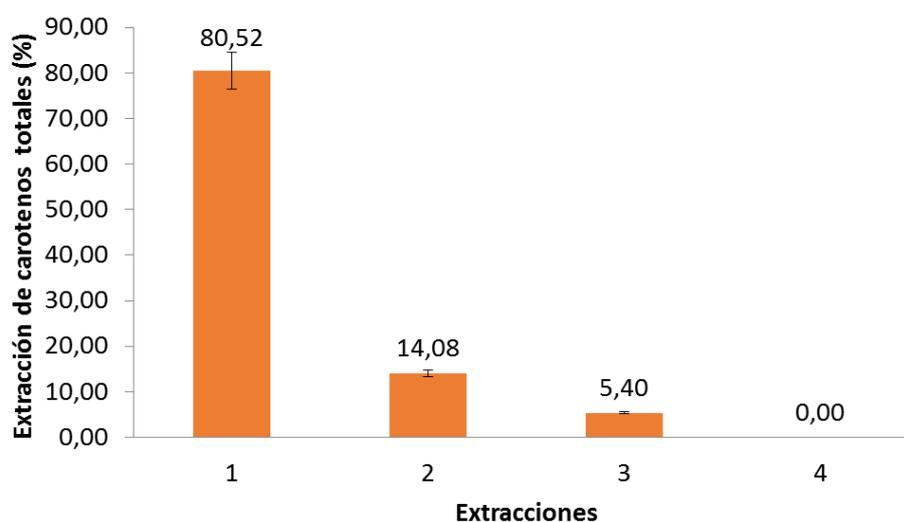


Figura 9. Porcentaje de extracción de carotenos totales en muestra pulpa liofilizada de tomate de árbol.

Observando los resultados de la Figura 9, se estableció que se requirieron 3 ciclos de extracción de 20 minutos, para obtener el 100 % de recuperación de los carotenos. Con estos resultados se determinó que el método es robusto puesto que presentó la precisión y exactitud adecuada para el nivel de concentración medido.

4.1.2.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenos totales en pulpa.

En la Tabla 10 se presentan los resultados promedio del análisis de carotenos totales en muestras de pulpa liofilizada de tomate de árbol almacenadas por 10 días en 5 atmósferas modificadas (MAP) diferentes con su control.

Tabla 10. Contenido de carotenos totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).

Mezcla gaseosa	Carotenos totales (mg β -caroteno / 100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
MAP1 (2,5/2,5)	3,04±0,04	2,89±0,00	2,96±0,47	3,94±0,38
Aire1	3,04±0,06	3,07±0,12	2,62±0,10	3,03±0,14
MAP2 (2,5/5,0)	2,09±0,24	2,18±0,20	2,45±0,30	2,53±0,05
Aire2	2,28±0,01	2,86±0,36	2,67±0,02	2,25±0,20
MAP 3 (80/10)	4,05±0,17	3,82±0,37	4,45±0,90	3,50±0,90
Aire3	3,51±0,06	4,57±0,12	4,42±0,10	3,70±0,14
MAP4 (80/20)	2,59±0,81	3,25±3,65	2,91±5,44	3,70±6,30
Aire4	3,60±0,40	3,10±4,06	3,32±6,33	3,10±8,07
MAP 5 (90/10)	3,22±0,16	3,23±0,09	2,84±0,49	3,65±0,45
Aire5	3,41±0,14	2,60±0,01	3,53±0,38	3,32±1,02

ms: materia seca; n=2

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA simple) con un nivel de confianza del 95 % para la variable concentración de carotenos totales de pulpa de tomate de árbol almacenado en las atmósferas modificadas estudiadas y sus respectivas atmósferas control (aire) (Tabla 11). Para comprobar la existencia de diferencias significativas entre las medias, se utilizó el test de Tukey empleando un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 11. Análisis de concentración media de carotenos totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).

Tratamiento	MAP (mg β -caroteno /100 g ms)	Aire	Dif. abs.	Dif. rel. (%)	Sig. 95%
MAP1 vs A1	3,21	2,94	0,27	9 %	ns
MAP2 vs A2	2,31	2,52	-0,21	-8 %	ns
MAP3 vs A3	3,96	4,05	-0,10	-2 %	ns
MAP4 vs A4	3,11	3,28	-0,17	-5 %	ns
MAP5 vs A5	3,24	3,22	0,02	1 %	ns

MAP: atmósfera modificada; A: atmósfera gaseosa compuesta por aire (control); ns: no significativo; ms: materia seca

En análisis de varianza (ANOVA) estableció que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de carotenos totales de todos los tratamientos.

El promedio de carotenos totales en pulpa de las atmósferas estudiadas tiene un valor de 2,31 a 4,5 mg/100 g ms. Estos valores, comparados con datos bibliográficos reportados por **Vasco et al. (2009)** de 5,2 mg/100 g muestra fresca, realizados en pulpa de tomate de árbol morado, permitieron observar que el tomate de árbol del estudio tuvo contenidos similares de carotenos totales que el reportado bibliográficamente.

4.1.3 CLOROFILA TOTAL

4.1.3.1 Adaptación del método para análisis de clorofila total

Para el análisis de clorofila total se realizó la extracción mediante el método descrito en el capítulo 3. Utilizando las absorbancias a 645 y 663 nm, se calculó el contenido de clorofilas parciales (a y b), concentraciones que se utilizaron para tener el cálculo final de clorofila total.

4.1.3.1.1 Precisión.

Para determinar la precisión del método, se llevó a cabo el análisis de una muestra liofilizada de cáscara de tomate de árbol con 5 repeticiones siguiendo el método de clorofila total (capítulo 3) y se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación. (Tabla 11).

Tabla 12. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación clorofila total en muestra de cáscara liofilizada de tomate de árbol.

MUESTRA	Clorofila total (mg/100 g ms)
1	6,61
2	6,70
3	6,63
4	6,51
5	6,69
SUMATORIA	26,45
Promedio	6,63
Desv. estándar	0,08
Coef. variación	1,20

ms: materia seca

Observando los resultados de la Tabla 12, se determinó que el error máximo de repetitividad obtenido en el ensayo fue de 1,2 %, error que estuvo dentro del límite permitido para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido por la

ecuación de Horwitz (8 %) (Orozco y Báez, 2010), estableciendo que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.1.3.1.2 Exactitud.

Para el análisis de exactitud como porcentaje de recuperación se realizó la determinación del número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de clorofila total utilizando como solvente de extracción acetona 80 % (Figura 10).

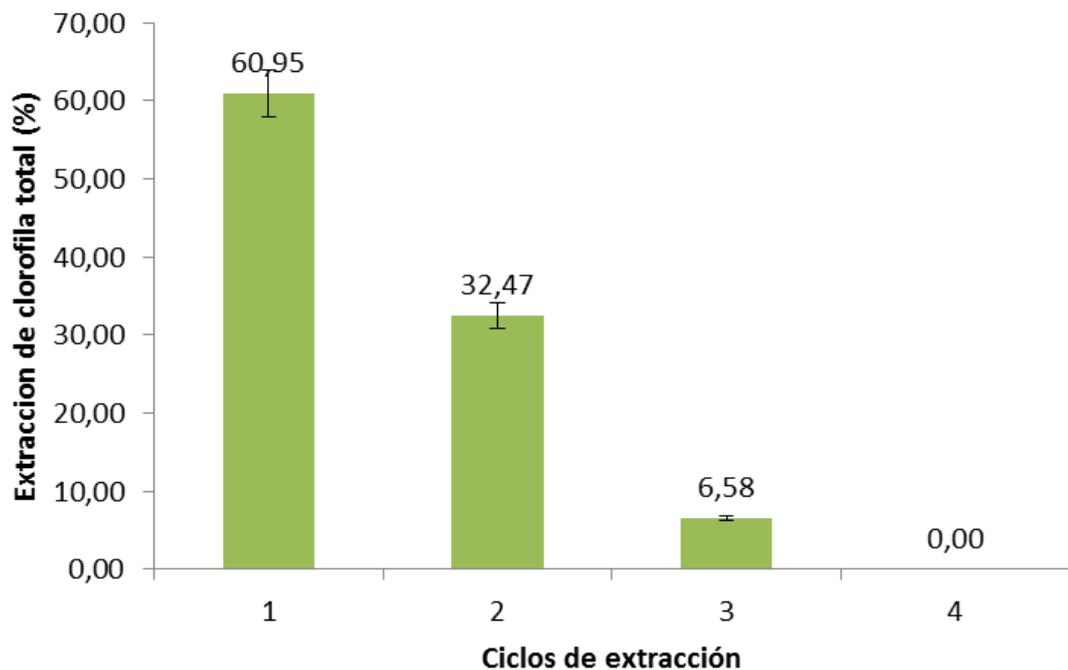


Figura 10. Porcentaje de extracción de clorofila total en muestra de cáscara liofilizada de tomate de árbol.

Observando los resultados de la Figura 10, se estableció que se requirieron 3 ciclos de extracción de 5 minutos por vórtex, para obtener el 100 % de recuperación de la clorofila total. Con estos resultados se determinó que el método es robusto puesto que presentó la precisión y exactitud adecuada para el nivel de concentración medido.

4.1.3.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila total en cáscara.

En la Tabla 13 se presentan los resultados promedio del análisis de clorofila total en muestras de pulpa liofilizada de tomate de árbol almacenadas por 10 días en 5 atmósferas modificadas (MAP) diferente con su testigo.

Tabla 13. Contenido de clorofila total en cáscara de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).

Mezcla gaseosa	Clorofila total (mg ct/ 100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
MAP1 (2,5/2,5)	8,94±1,36	7,60±0,53	8,26±0,95	7,61±0,71
Aire1	6,47±0,33	6,94±0,41	7,77±0,37	7,47±0,01
MAP2 (2,5/5,0)	10,15±0,37	7,53±0,64	8,15±0,47	9,96±0,54
Aire2	8,13±1,71	11,02±1,43	9,76±0,40	10,19±0,86
MAP 3 (80/10)	5,96±0,11	6,46±0,37	6,26±0,26	6,48±0,22
Aire3	6,58±0,83	6,77±1,00	6,15±0,13	6,92±0,42
MAP4 (80/20)	7,43±0,88	7,90±1,71	6,91±0,56	6,69±0,01
Aire4	7,56±0,45	8,72±0,55	8,42±2,71	7,94±1,25
MAP 5 (90/10)	10,08±0,20	11,43±1,39	8,01±0,57	7,39±0,49
Aire5	10,24±1,18	8,93±0,66	8,52±0,12	7,18±0,20

ms: materia seca; n=2

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para la concentración de clorofila total en los tratamientos estudiados empleando un nivel de confianza del 95 %, para demostrar si existieron diferencias estadísticamente significativas en esta variable (Tabla 14) se utilizó el test de Tukey empleando un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 14. Análisis de concentración media de clorofila total en cáscara de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).

Tratamiento	MAP (mg Clorofila total /100 g ms)	Aire	Dif. abs.	Dif. rel. (%)	Sig. 95%
MAP 1 vs A1	8,10	7,16	-0,94	-13 %	***
MAP 2 vs A2	8,95	9,78	0,83	8 %	ns
MAP 3 vs A3	6,29	6,60	0,31	5 %	ns
MAP 4 vs A4	7,23	8,16	0,93	11 %	***
MAP 5 vs A5	9,23	8,72	-0,51	-6 %	ns

MAP: atmósfera modificada; A: atmósfera gaseosa compuesta por aire (control); ns: no significativo; ms: materia seca***: significativo al 95 % de confianza

El análisis de varianza determinó que el contenido de clorofila total en la atmósfera modificada 80 % O₂ + 20 % CO₂ tiene una disminución significativa ($p < 0,05$) del 11 % en comparación con su control, en el almacenamiento en atmósferas ricas en oxígeno algunos procesos siguen activos, una de éstos es la degradación de la clorofila, siendo un comportamiento positivo que al disminuir su concentración da paso a la formación de las antocianinas (color rojo) en la piel, que es el color característico del fruto. En cambio se tiene un efecto contrario en el tratamiento 2,5 % O₂ + 2,5 % CO₂ que existió una retención significativa ($p < 0,05$) del 13 % con respecto a su control, es decir que la atmósfera baja de oxígeno inhibe la degradación de la clorofila, efecto negativo provocado por el almacenamiento con estas composiciones gaseosas teniendo mayor concentración del bioactivo en el almacenamiento de la atmósfera que en el control (Castilla, 2007; Cerrón y Rodríguez, 2007).

4.1.4 FLAVONOIDES TOTALES

4.1.4.1 Adaptación del método para análisis de flavonoides totales

Para el análisis de flavonoides totales se realizó la extracción mediante el método descrito en el capítulo 3. Una alícuota del extracto se reaccionó con una solución de cloruro de aluminio en medio básico, formando un cromóforo de color rosado en el cual se determinó la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro UV-visible.

4.1.4.1.1 Linealidad

En la estandarización del método se realizó el estudio de linealidad, donde se utilizó un set de estándares de catequina con concentraciones que fueron de 0 a 100 ppm, por triplicado, en tres días diferentes. Posteriormente se realizó el estudio de regresión lineal y se estableció una curva de calibración promedio del método. En la Tabla 15, se presentan los resultados obtenidos en el análisis estadístico de los datos.

Tabla 15. Resultados del estudio de regresión lineal para el método de análisis de flavonoides totales en tomate de árbol.

Parámetro	Promedio
m (pendiente)	0,0032
Lo (ordenada al origen)	0,0669
R ²	0,9998
t _r _obtenido	47,0447
t _r _tablas	2,45

Observando los resultados de la Tabla 15 se estableció que la curva de calibración promedio presentó un coeficiente de determinación (R²) de 0,9970, demostrando que existió una estrecha correlación lineal entre la absorbancia medida por el equipo y la concentración de catequina. De igual manera el análisis estadístico mediante la prueba t- Student para el coeficiente de correlación r (p<0,05) determinó que dicha correlación lineal fue significativa (p<0,05). En la Figura 11, se presenta la curva de calibración promedio con la cual se realizó la cuantificación del contenido de flavonoides totales para todas las muestras de estudio.

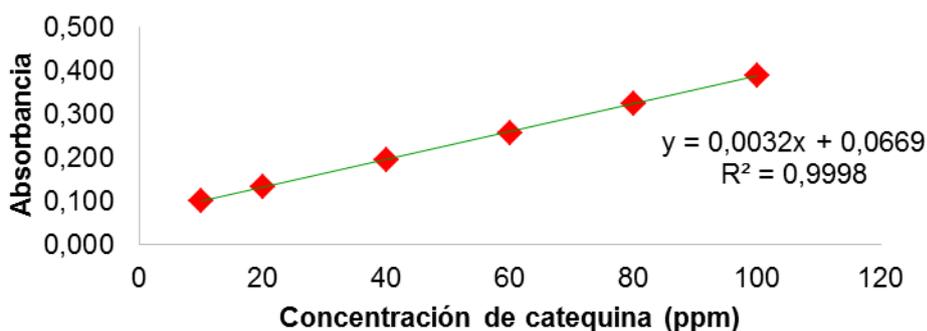


Figura 11. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales en tomate de árbol.

4.1.4.1.2 Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de una muestra liofilizada de tomate de árbol con 6 repeticiones siguiendo el método completo y se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación (Tabla 16).

Tabla 16. Resultados del análisis de precisión del método de cuantificación de flavonoides totales en muestra liofilizada de tomate de árbol.

MUESTRA	Flavonoides totales (mg catequina/100 g ms)
1	237,86
2	219,12
3	232,07
4	230,88
5	220,14
6	235,59
Promedio	229,28
Des. Estándar	7,88
Coef. Variación (%)	3,44

ms: materia seca

Con los resultados de la Tabla 16, se determinó que el error de repetitividad máximo obtenido en el ensayo fue de 3,44 %, el cual estuvo dentro del límite permitido para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido por la ecuación de Horwitz (8 %) (**Orozco y Báez, 2010**), estableciendo que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.1.4.1.3 Exactitud

Para llevar a cabo el análisis de exactitud como porcentaje de recuperación se realizó la determinación del número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de flavonoides en la pulpa de tomate de árbol, utilizando como solvente de extracción una solución de metanol/agua/ácido fórmico 70/30/0,1 (v/v/v) (Figura 12).

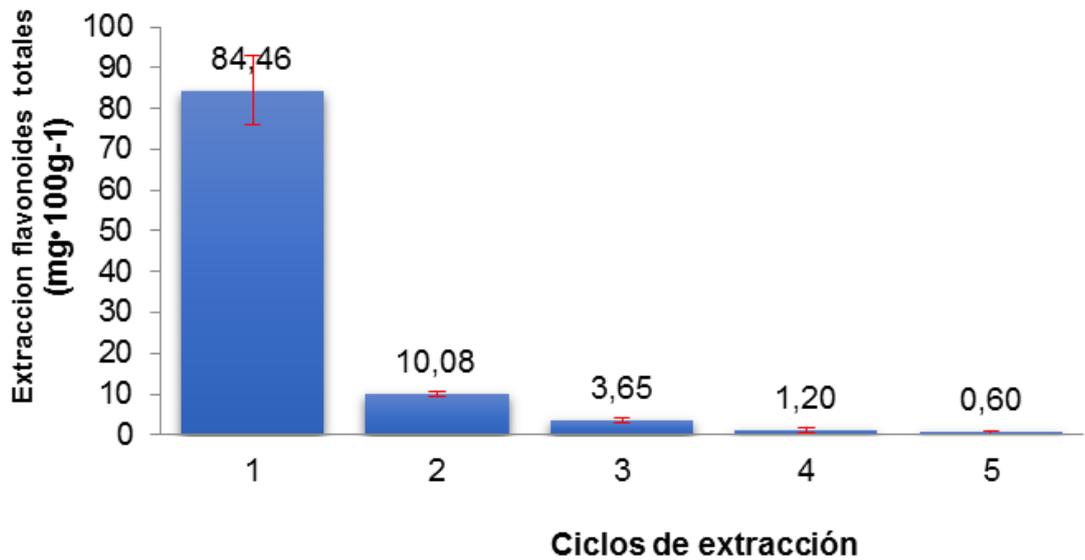


Figura 12. Porcentaje de extracción de flavonoides totales para pulpa liofilizada de tomate de árbol.

Observando la Figura 12, se estableció la necesidad de llevar a cabo 4 ciclos de 10 minutos de extracción para obtener el 99,4 % de recuperación de los flavonoides presentes en la fruta. Con estos resultados se determinó que el método resultó ser robusto, puesto que presentó una precisión y exactitud adecuadas para el nivel de concentración que se necesitó determinar.

4.1.4.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales en pulpa.

En la Tabla 17 se presentan los resultados promedio del análisis de flavonoides totales en muestras de pulpa liofilizada de tomate de árbol almacenado por 10 días en 5 atmósferas modificadas (MAP) diferentes con su control.

Tabla 17. Contenido de flavonoides totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).

Mezcla gaseosa	Flavonoides totales (mg catequina/ 100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
MAP 1 (2,5/2,5)	184,90±6,33	156,59±13,20	185,20±45,36	199,20±11,62
Control MAP 1	155,55±2,77	157,11±13,19	217,82±20,43	169,58±1,33
MAP 2 (2,5/5,0)	264,39±0,34	302,43±0,11	245,93±8,01	264,33±5,42
Control MAP 2	180,45±0,45	289,86±38,19	211,00±2,15	185,24±22,77
MAP 3 (80/10)	189,12±19,28	186,64±26,34	197,87±14,09	208,40±36,79
Control MAP 3	150,16±32,92	176,24±12,00	135,50±0,19	164,02±14,61
MAP 4 (80/20)	184,91±10,37	199,10±1,37	225,94±16,58	217,16±9,33
Control MAP 4	190,77±2,63	174,95±25,65	177,77±1,48	194,61±30,01
MAP 5 (90/10)	257,66±26,21	274,60±41,64	294,94±86,38	230,62±21,92
Control MAP 5	303,13±8,44	265,01±7,71	238,83±8,55	261,60±4,34

ms: materia seca; n=2

Tras obtener estos resultados, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando la variable flavonoides totales empleando un nivel de confianza del 95 % (Tabla 18), y para comprobar si existieron diferencias significativas, se utilizó el test de Tukey empleando un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 18. Análisis de concentración media de flavonoides totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).

Tratamiento	MAP	Aire	Dif. abs.	Dif. rel.	Sig. 95%
	(mg catequina/100 g ms)		(%)		
MAP 1 vs A1	181,47	175,01	6,46	4 %	ns
MAP 2 vs A2	269,35	217,26	52,09	24 %	***
MAP 3 vs A3	195,51	156,48	39,03	25 %	***
MAP 4 vs A4	206,78	184,53	22,25	12 %	***
MAP 5 vs A5	264,46	267,14	-2,69	-1 %	ns

MAP: atmósfera modificada; A: atmósfera gaseosa compuesta por aire (control); ns: no significativo; ms: materia seca; ***: significativo al 95% de confianza

Al observar la Tabla 18, se determinó la existencia de efectos significativos ($p < 0,05$) sobre el contenido promedio de flavonoides totales durante el almacenamiento en la pulpa de fruta almacenada bajo los tratamientos “2,5 % O₂ + 5,0 % CO₂”, “80 % O₂ +

10 % CO₂”y “80 % O₂ + 20 % CO₂”, observando que hubo mayor concentración de flavonoides totales en dichas atmósferas modificadas que bajo sus respectivos controles de aire.

El contenido promedio de flavonoides totales en los MAP varió de 156,48 a 269,351 mg/100 g ms. Este valor resultó superior a los 103,80 mg/100 g ms reportados por **Rosas (2016)** en pulpa de tomate de árbol anaranjado gigante. Dicha diferencia probablemente pudo deberse a las variedades consideradas en cada caso.

4.1.5 POLIFENOLES TOTALES

4.5.1 Adaptación del método para análisis de polifenoles totales

Para el análisis de polifenoles totales se procedió a la extracción del analito del tomate de árbol, utilizando la metodología descrita en el capítulo 3. La cuantificación se realizó por reacción de color con el reactivo de Folin-Ciocalteu sobre una curva de calibración realizada con un set de estándares de ácido gálico.

4.1.5.1.1 Linealidad

En la estandarización del método se realizó el estudio de linealidad, donde se utilizó un set de estándares de ácido gálico con concentraciones entre 0 y 100 ppm, llevando a cabo las determinaciones por triplicado, en tres días diferentes. Posteriormente se realizó el estudio de regresión lineal y se estableció una curva de calibración promedio del método. En la Tabla 19 se presentan los resultados obtenidos en el análisis estadístico de los datos.

Tabla 19. Resultados del estudio de regresión lineal para el método de análisis de polifenoles en el tomate de árbol.

Parámetro	Promedio
m (pendiente)	0,0117
Lo (ordenada al origen)	0,0789
R²	0,9995
t_r_obtenido	82,6432
t_r_tabla	2,78

Observando los resultados de la Tabla 19 se estableció que la curva de calibración promedio presentó un coeficiente de determinación (R^2) para el ajuste lineal de 0,9995, lo que indicó la existencia de una correlación lineal significativa entre la absorbancia medida por el equipo y la concentración de ácido gálico. En la figura 12 se presenta la curva de calibración promedio con la cual se realizó la cuantificación del contenido de polifenoles totales para todas las muestras de este estudio.

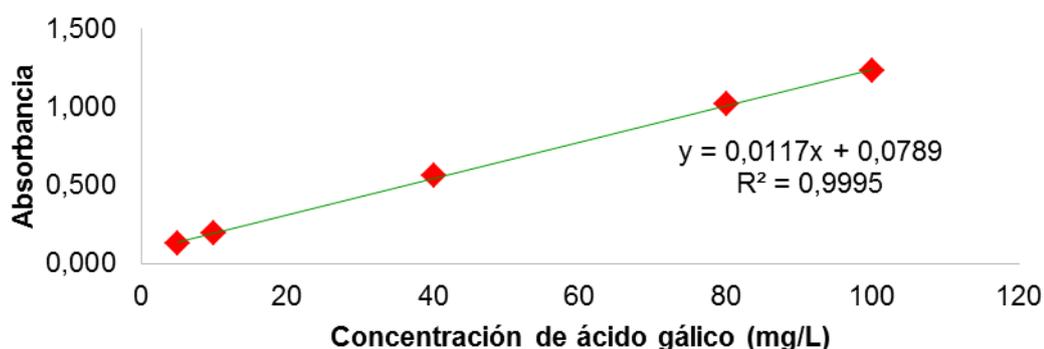


Figura 13. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles totales.

4.1.5.1.2 Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de una muestra liofilizada de pulpa de tomate de árbol con 6 repeticiones siguiendo el método de polifenoles totales, estableciéndose la desviación estándar y el coeficiente de variación del método (Tabla 20).

Tabla 20. Resultados del estudio de depreciación del método para análisis de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de tomate de árbol.

MUESTRA	Polifenoles totales mg/100 g ms
1	704,6
2	706,3
3	705,4
4	712,2
5	702,9
6	707,5
Promedio	706,5
Des. Estándar	3,18
Coef. Variación (%)	0,45

ms: materia seca

Observando los resultados de la Tabla 20, se determinó que el coeficiente de variación obtenido en el ensayo de repetitividad fue de 3,18 %, error que se encuentra dentro del límite permitido para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido por la ecuación de Horwitz (8 %) (Orozco y Báez, 2010), estableciendo que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.1.5.1.3 Exactitud

Para el análisis de la exactitud como porcentaje de recuperación, se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para la obtención del 100 % de rendimiento de extracción de polifenoles, utilizando como solvente de extracción la solución de metanol/Agua/Ácido Fórmico 70/30/0,1 v/v/v (Figura 14).

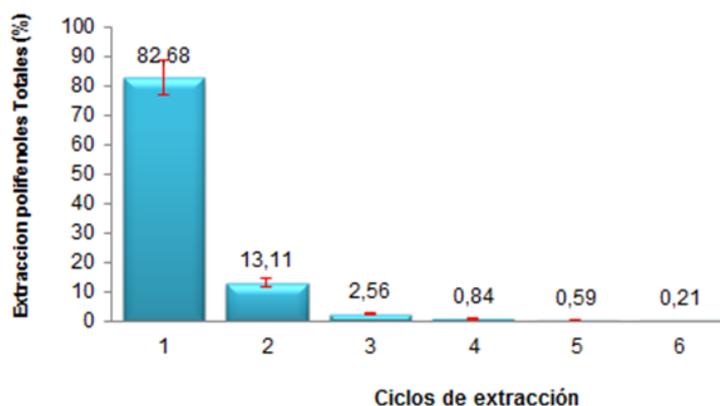


Figura 14. Resultados del ensayo de recuperación de los polifenoles totales en muestra de pulpa liofilizada de tomate de árbol.

Observando la Figura 14, se estableció la necesidad de llevar a cabo 5 ciclos de extracción de 10 minutos para obtener el 99,79 % de recuperación de los polifenoles presentes en la pulpa. Con estos resultados se determinó que el método fue robusto, puesto que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se quiso determinar.

4.1.5.2 Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales.

En la Tabla 21 se presentan los resultados promedio del análisis de polifenoles totales en muestras de pulpa de tomate de árbol almacenadas por 10 días en 5 atmósferas modificadas (MAP) diferente con sus testigos.

Tabla 21. Contenido de polifenoles totales en pulpa de tomate de árbol almacenado bajo atmósferas modificadas y aire (control) en refrigeración (4 °C).

Mezcla gaseosa	Polifenoles totales (mg ác. gálico/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
MAP 1 (2,5/2,5)	817,93±5,33	861,09±2,16	834,50±22,19	983,90±7,12
Control MAP 1	858,72±0,47	847,70±2,38	834,50±9,09	983,90±1,45
MAP 2 (2,5/5,0)	861,27±73,36	913,47±9,98	861,65±8,40	865,58±18,15
Control MAP 2	939,42±33,94	832,42±44,63	891,96±21,95	865,58±35,47
MAP 3 (80/10)	887,12±61,51	832,77±82,59	981,79±7,70	847,37±83,40
Control MAP 3	782,97±4,75	918,48±23,91	865,37±25,93	914,02±52,45
MAP 4 (80/20)	706,49±0,82	852,28±26,61	725,10±27,19	751,28±93,44
Control MAP 4	823,92±15,92	744,72±159,19	851,73±85,27	829,90±49,95
MAP 5 (90/10)	822,39±84,18	896,30±50,95	847,52±103,27	894,80±11,87
Control MAP 5	828,90±9,21	775,66±2,85	778,84±4,20	832,20±3,25

ms: materia seca; n=2

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para el factor de composición gaseosa sobre la concentración de polifenoles totales en cada uno de los tratamientos, y para comprobar si existieron diferencias significativas, se utilizó el test Tukey empleando un nivel de confianza del 95 % (Tabla 22).

Tabla 22. Análisis de concentración media de polifenoles totales en pulpa de tomate de árbol en cada tratamiento (gas vs control) durante 10 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).

Tratamiento	MAP	Aire	Dif. abs.	Dif. rel.	Sig. 95%
	(mg ácido gálico /100 g ms)			(%)	
MAP 1 vs A1	874,36	867,26	7,09	1%	ns
MAP 2 vs A2	875,49	891,56	-16,07	-2%	ns
MAP 3 vs A3	887,26	870,21	17,05	2%	ns
MAP 4 vs A4	758,79	812,57	-53,78	-7%	Ns
MAP 5 vs A5	865,25	803,90	61,35	8%	***

A: atmósfera gaseosa compuesta por aire (control); ns: no significativo; ct: clorofila total; ms: materia seca; ***: significativo al 95 % de confianza

El análisis de ANOVA de la Tabla 22 indicó que la atmósfera 90 % O₂ + 10 % CO₂ tuvo un efecto significativo (p<0,05) sobre el contenido de polifenoles presentes en el tomate de árbol almacenado, existiendo una mayor concentración de polifenoles totales en la fruta envasada en el MAP. El contenido promedio de polifenoles totales en pulpa de tomate de árbol almacenado en la atmósfera modificada se encontró entre valores de 758,79 – 891,56 mg/100 g ms duplicando la concentración de los polifenoles totales reportada por **Rosas (2016)** de 326,42 mg/100 g ms presentes en el tomate de árbol variedad gigante anaranjado.

4.1.6 SELECCIÓN DE LA MEJOR ATMÓSFERA MODIFICADA PARA EL TOMATE DE ÁRBOL.

Se resumieron los resultados de los análisis estadísticos de todas las variables estudiadas (compuestos bioactivos) para determinar la atmósfera gaseosa idónea para el almacenamiento del tomate de árbol. Para ello se asignó un valor +1 a un resultado favorable a la atmósfera modificada frente a su control, 0 cuando se encontraron diferencias no significativas y un valor -1 a un resultado desfavorable a la atmósfera modificada frente a su control (Tabla 23).

Tabla 23. Diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones medias de los compuestos bioactivos presentes en fruta almacenada durante 10 días bajo los 5 tratamientos gaseosos y refrigeración (4 °C).

Tratamientos	AntoTotP	AntoTotC	CarotTotP	ClorTotC	PolifTotP	FlavTotP	TOTAL
MAP1 vs A1	0	-1	0	-1	0	0	-2
MAP2 vs A2	0	-1	0	0	0	+1	0
MAP3 vs A3	0	0	0	0	0	+1	+1
MAP4 vs A4	0	0	0	+1	0	+1	+2
MAP5 vs A5	0	0	0	0	+1	0	+1

+1: diferencia significativa a favor del bioactivo almacenado en MAP; 0: no tiene diferencia significativa del bioactivo entre MAP y aire; -1: diferencia significativa en contra del bioactivo almacenado en MAP; AntoTotP: antocianinas totales en pulpa; AntoTotC: antocianinas totales en cáscara; CarotTotP: carotenos totales en pulpa; ClorTotC: clorofila total en cáscara; PolifTotP: polifenoles totales en pulpa; FlavTotP: flavonoides totales en pulpa

Con los datos de la Tabla 23 se determinó que el mejor tratamiento global, en relación a la retención del contenido de compuestos bioactivos fue la composición gaseosa **80 % O₂ + 20 % CO₂**, ya que presentó un balance positivo superior a los restantes tratamientos.

Se realizó un análisis multifactorial (ANOVA) de los contenidos de compuestos bioactivos almacenados en la atmósfera **80 % O₂ + 20 % CO₂** comparándolo con las concentraciones de antioxidantes presentes en su testigo (Aire) almacenados 10 días a refrigeración (4 °C), teniendo como factores: las composiciones gaseosas y los días de análisis (Tabla 1).

4.1.6.1 ANTOCIANINAS TOTALES DE PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O₂ + 20 % CO₂)

En la siguiente figura se presenta la evolución del contenido de antocianinas totales durante los 10 días de almacenamiento para la atmósfera modificada formada por la composición de gases 80 % de oxígeno y 20 % de dióxido de carbono.

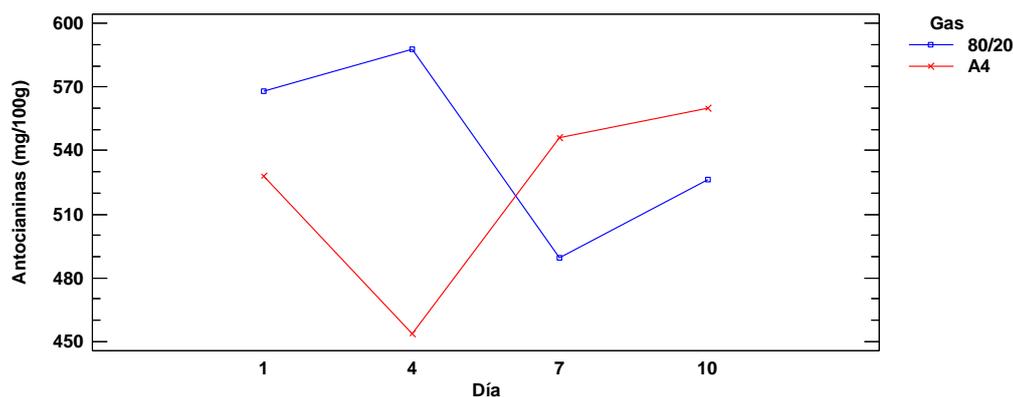


Figura 15. Evolución del contenido de antocianinas totales (mg/100 g ms) en pulpa de tomate de árbol almacenado durante 10 días bajo la mezcla gaseosa 80 % O₂ + 20 % CO₂ y el control 4 (aire).

Observando la Figura 15, se estableció que el contenido de antocianinas totales para la composición gaseosa utilizada tuvo un descenso desde el día 1 al día 10 perdiendo una concentración total de 7,32 % en todo su almacenamiento. En cambio en el control gaseoso de aire, tuvo un incremento 6,10 % de antocianinas totales en pulpa desde el primer día hasta el décimo día. **Pérez y Sanz (2001)** tuvieron en sus estudios, evoluciones similares en fresa (fruto no climatérico) almacenadas en atmósferas modificadas por 7 a 9 días, en la que existió biosíntesis de antocianinas (aumento) en frutas almacenadas en el aire y una estabilidad o incluso disminución del contenido de antocianinas en atmósferas con contenido de 80 % de O₂ + 20 % de CO₂.

El comportamiento de las antocianinas en atmósferas modificadas puede ser debido a que existió oxidación aeróbica del ácido ascórbico (A) catalizada con el ion cúprico en presencia de oxígeno, produciendo peróxidos de hidrógeno que destruyen indirectamente las antocianinas (Figura 16) (**Dekker y Dickinson, 1940; Sondheimer y Kertesz, 1953**).

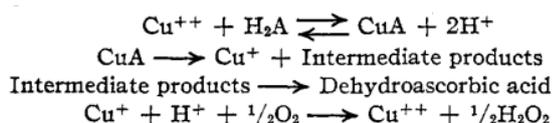


Figura 16. Reacción de oxidación de ácido ascórbico (A) en oxígeno catalizada por el ion cúprico. Fuente: (Dekker y Dickinson, 1940)

La variedad mora presenta una cantidad de 16 mg de ácido ascórbico / 100 g ms según **Vasco et al. (2009)**, sustancia que puede utilizarse como precursor para este tipo de reacciones.

4.1.6.2 ANTOCIANINAS TOTALES EN LA CÁSCARA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O₂ + 20 % CO₂)

En la siguiente figura se presenta la evolución del contenido de antocianinas totales durante los 10 días de almacenamiento para la atmósfera modificada formada por la composición de gases 80 % de oxígeno y 20 % de dióxido de carbono.

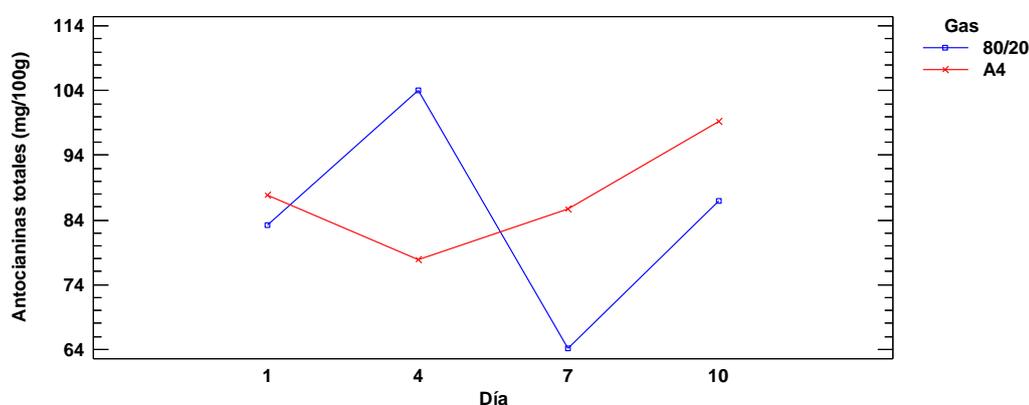


Figura 17. Evolución de antocianinas totales en cáscara (mg/100g ms) en cáscara de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo la mezcla gaseosa 80 % O₂ + 20% CO₂ y el control 4 (aire).

Observando la Figura 17 se estableció que el contenido de antocianinas totales en cáscara se mantuvo en los 4 primeros días de almacenamiento en 80 % O₂ + 20 % CO₂, es decir, que la atmósfera no afectó la concentración de antocianinas (incluso tuvo mayor concentración) y luego tuvo una bajada a los 7 días. **Valle et al. (2008)** manifiestan que concentraciones altas de CO₂ pueden alterar el pH del tejido, ya que dicho gas se puede fijar como HCO₃⁻ en medio acuoso, cambiando la actividad de las enzimas presentes en el tejido, produciéndose la degradación subsiguiente de estos compuestos. Al observar el comportamiento de las antocianinas totales presentes en la fruta almacenada en aire, no se puede decir que existiese este comportamiento por tener niveles bajos de CO₂, teniendo una diferencia de 4,46 % sobre el contenido inicial de las antocianinas totales en cáscara.

4.1.6.3 CAROTENOS TOTALES EN PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O₂ + 20 % CO₂)

En la siguiente figura se presenta la evolución del contenido de carotenos totales durante los 10 días de almacenamiento para la atmósfera modificada formada por la composición de gases 80 % de oxígeno y 20 % de dióxido de carbono.

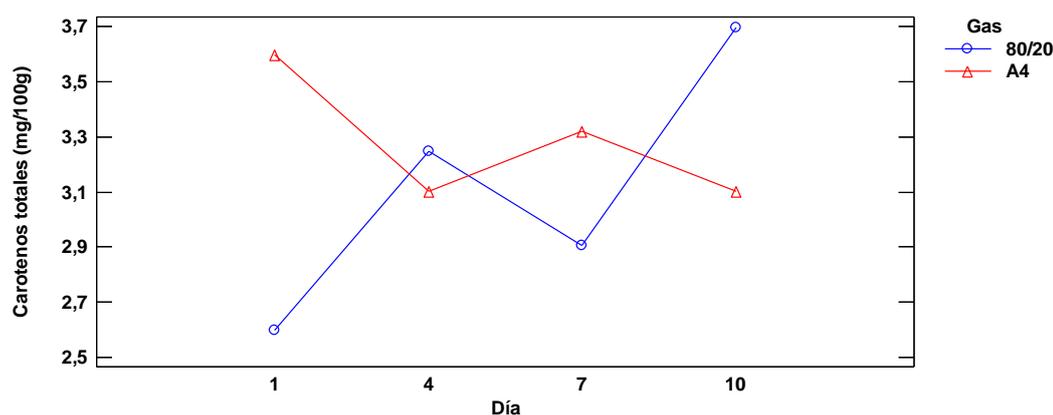


Figura 18. Evolución de carotenos totales (mg/100 g ms) en pulpa de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo la mezcla gaseosa 80 % O₂ + 20% CO₂ y el control 4 (aire).

Observando la Figura 18 se estableció que el contenido de carotenos totales en atmósfera modificada fue teniendo una tendencia de crecimiento desde el día 1 al día 10, teniendo un aumento de 30 %, es decir, que existió biosíntesis de carotenos luego de la postcosecha. Estos resultados confirman los estudios realizados por **Ospina y Cartagena (2008)** que indican que la modificación de las atmósferas ayuda a la biosíntesis de carotenos. Se puede concluir que la biosíntesis de carotenos continúa en postcosecha en este tipo de atmósferas modificadas. **López et al. (2011)** indicaron que la concentración de esta biomolécula no es afectada por el porcentaje alto de O₂, pero tanto en aire y atmósfera, a los 10 días de almacenamiento no existió ni ganancia ni pérdida significativa para este tipo de biomoléculas.

4.1.6.4 CLOROFILA TOTAL EN CÁSCARA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O₂ + 20 % CO₂)

En la siguiente figura se presenta la evolución del contenido de clorofila total durante los 10 días de almacenamiento para la atmósfera modificada formada por la composición de gases 80 % de oxígeno y 20 % de dióxido de carbono.

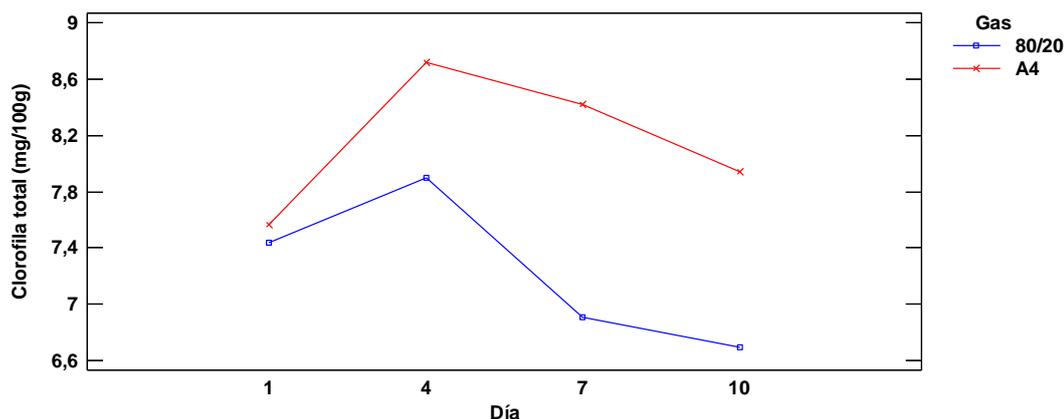


Figura 19. Evolución de clorofila total en cáscara de tomate de árbol (mg/100 g ms) durante 10 días de almacenamiento, bajo la mezcla gaseosa 80 % O₂ + 20 % CO₂ y el control 4 (aire).

Observando la Figura 19 se estableció que el contenido de clorofila total fue decayendo desde el día 1 hasta el día 10 con una pérdida de 10 %, comparándolo con estudios realizados en pigmentos, según **Guevara y Jiménez (2006)** en la maduración del fruto la pérdida de clorofila se debe a la acción de la enzima clorofilasa dando paso a la síntesis paralela de nuevos pigmentos como las antocianinas características del color rojo en tomate de árbol morado. También que la degradación de la clorofila está relacionada con la presencia de etileno en el medio de almacenamiento (relación directa entre niveles de oxígeno y los niveles de etileno). La existencia de niveles considerables de este gas en la atmósfera modificada quizá pudo permitir la degradación de la clorofila en los días de almacenamiento, deduciendo que pudo contribuir a la degradación del compuesto bioactivo (**Cerrón y Rodríguez, 2007; Gómez y Camelo, 2002**).

4.1.6.5 FLAVONOIDES TOTALES EN PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80 % O₂ + 20 % CO₂).

En la siguiente figura se presenta la evolución del contenido de flavonoides totales durante los 10 días de almacenamiento para la atmósfera modificada formada por la composición de gases 2,5 de oxígeno y 5,0 de dióxido de carbono.

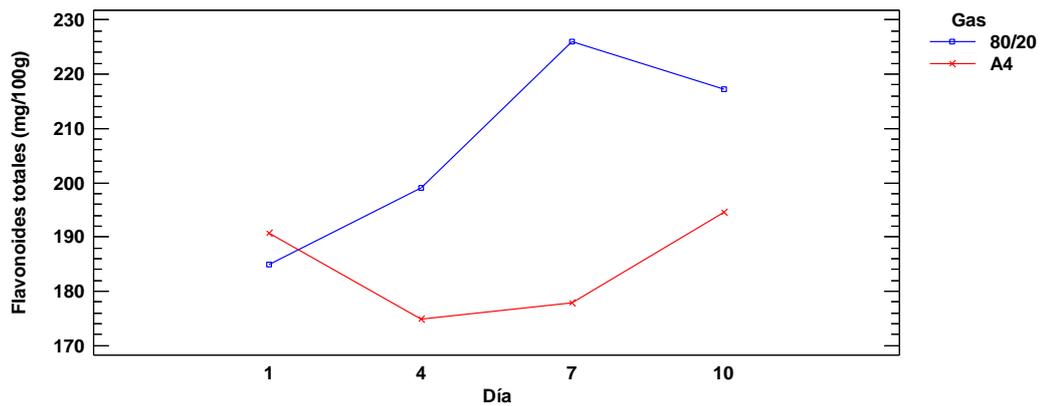


Figura 20. Evolución de flavonoides totales (mg/100g) en pulpa de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo mezcla gaseosa 80 % O₂ + 20 % CO₂ y el control 4 (aire).

En la Figura 20, se aprecia que la atmósfera modificada aumentó el contenido de flavonoides, es decir, que la biosíntesis de flavonoides se mantuvo durante los 10 días, confirmando los estudios realizados por **Gunes *et al.* (2002)** en arándano (fruto no climatérico). Dichos autores indican que el porcentaje de composición gaseosa en atmósferas modificadas para su almacenamiento no degrada flavonoides presentes, concluyendo que los procesos bioquímicos en el almacenamiento de esta atmósfera continúan hasta los 10 días, incrementando su concentración en un 17 % con respecto al primer día. La pérdida de contenido de flavonoides puede estar relacionado con la actividad de la polifenoloxidasas, que al encontrarse a niveles altos de oxígeno, produce quinonas que son altamente reactivas con los flavonoides (**Baquero *et al.*, 2005**). En la siguiente figura se observa la actividad de dicha enzima (**Guerrero, 2009**).

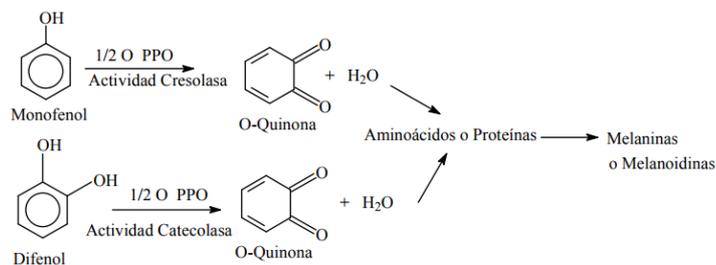


Figura 21. Mecanismo general de la polifenoloxidasas en planta. Fuente: (Guerrero, 2009)

Al encontrarse en una atmósfera con 80 % de oxígeno se pudo causar la inhibición del sustrato de la PPO, hipótesis planteada por **Day (1996)**.

Se comparó el comportamiento de la atmósfera idónea con estudios realizados con atmósferas controladas compuestas por concentraciones de oxígeno superiores al 60 %, que demostraron un aumento similar de los flavonoides almacenados en atmósferas controladas (>60 % O₂) con respecto a flavonoides presentes en aire, después de 35 días de almacenamiento (**Zheng et al., 2003**),

4.1.6.6 POLIFENOLES TOTALES EN PULPA LIOFILIZADA EN EL MAP (80% O₂ + 20 % CO₂)

En la siguiente figura se presenta la evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa de tomate durante los 10 días de almacenamiento para la atmósfera modificada formada por la composición de gases 80 % de oxígeno y 20 % de dióxido de carbono.

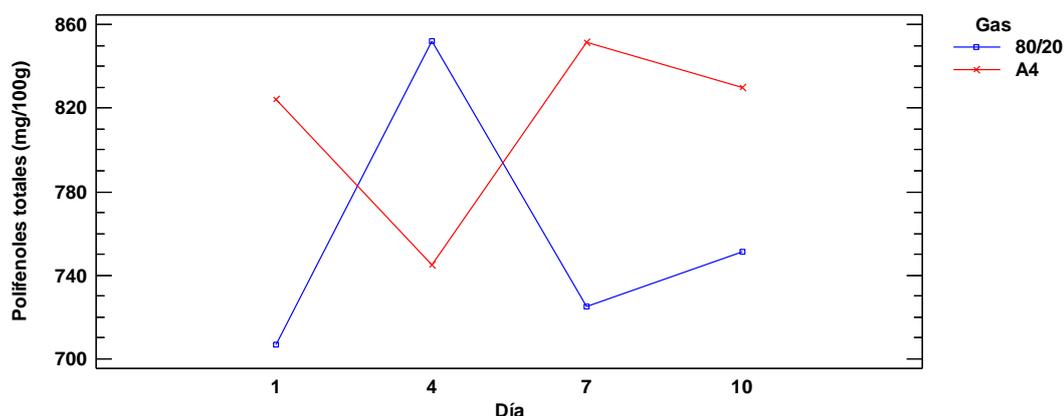


Figura 22. Evolución de polifenoles totales (mg/100g) en pulpa de tomate de árbol almacenada durante 10 días a 4 °C, bajo mezcla gaseosa 80 % O₂ + 20 % CO₂ y el control 4 (aire).

Observando la Figura 22 se estableció que la composición gaseosa 80 % O₂ – 20 % CO₂ no tuvo efecto sobre el contenido de polifenoles, manteniendo la concentración desde el inicio hasta el final del almacenamiento y también se observó que los valores se mantuvieron por debajo de los de la fruta control. Al encontrarse en una atmósfera con 80 % de oxígeno pudieron causar la inhibición del sustrato de la PPO o, alternativamente, altos niveles de quinonas incoloras formadas, las cuales pudieron causar la inhibición por retroalimentación de la PPO, evitando que se degradasen.

Esta fue una hipótesis planteada por **Day (1996)**. Este comportamiento también pudo observarse en el control gaseoso donde la concentración del analito fue igual en el día 1 y el día 10. Este análisis se comparó con estudios realizados en otro tipo de vegetales donde los niveles altos de O₂ en atmósferas no afectaron al pardeamiento enzimático del vegetal causado por la PPO (**Adel Kader y Ben-Yehoshua, 2000**), y en estudios donde la cantidad de polifenoles se mantuvo en el almacenamiento de la fruta en atmósferas controladas con altos niveles de oxígeno (>60 %) (**Zheng et al., 2003**).

4.2 VERIFICACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

En la pulpa del tomate de árbol se determinó que:

- La concentración de antocianinas totales en pulpa no presenta diferencias estadísticamente significativas debido al efecto de las AM estudiadas sobre las medias de las concentraciones de las antocianinas totales en pulpa en todos los tratamientos (ANOVA simple). Centrándose en la atmósfera de almacenamiento idónea (80 % oxígeno + 20 % dióxido de carbono), se observó estadísticamente que existen diferencias significativas en los almacenamiento de los 10 días observado en la Figura 14, perdiendo una concentración total de 7,32 % en todo su almacenamiento, indicando que el efecto producido no es benéfico para este compuesto bioactivo. Se acepta la hipótesis nula.
- La concentración media de los carotenos totales no presenta diferencias estadísticamente significativas (ANOVA simple) en ninguno de los tratamientos estudiados. Al observar el análisis de la mejor atmósfera 80 % de oxígeno + 20 % de dióxido de carbono, se comprobó que la atmósfera realiza cambios en la composición de carotenos totales teniendo una tendencia ascendente de concentración desde día 1 hasta día 10 (Figura 16), es decir que aunque no sea significativo el cambio, al pasar el tiempo de almacenamiento existió un efecto de benéfico del MAP sobre este compuesto bioactivo del fruto, aceptando la hipótesis nula.
- La concentración de los flavonoides totales tuvo una diferencia estadísticamente positiva en los tratamiento gaseosos: “2,5% oxígeno + 5,0% de dióxido de carbono”, “80% oxígeno + 10% de dióxido de carbono” y

“80% oxígeno + 20% de dióxido de carbono” teniendo mayor producción media de flavonoides totales con respecto a su control (ANOVA simple). Al analizar la atmósfera modificada idónea “80% oxígeno + 20% de dióxido de carbono” se observó que existe diferencias significativas entre la concentración de los flavonoides en atmósfera modificada y el control, aumentando por 10 días la concentración (Figura 18), aceptando la hipótesis alternativa.

- El análisis de ANOVA simple indicó que en polifenoles totales únicamente el tratamiento “90% oxígeno + 10% de dióxido de carbono”, tiene un efecto estadísticamente positivo en la concentración media general del gas con respecto a su control (aire). Pero al analizar la atmósfera idónea “80% oxígeno + 20% de dióxido de carbono” se dedujo que no tiene significancia el almacenamiento en este tipo de atmósfera ya que tiene el mismo comportamiento con los polifenoles presentes en aire, manteniendo por 10 días la misma concentración de polifenoles totales (Figura 19), lo que se acepta la hipótesis nula.

En la piel (cáscara) del tomate de árbol se determinó que:

- La concentración de clorofila total presenta diferencias estadísticamente significativas para la composición gaseosa “80 % O₂ + 20 % CO₂” (ANOVA simple), presentó diferencia estadísticamente significativa en la concentración de clorofila de la media de la composición gaseosa, en cada día de almacenamiento, observándose que el efecto que produce de almacenamiento, la concentración de clorofila no dependió de la atmósfera gaseosa disminuye la concentración de clorofila total en 10 días de almacenamiento (Figura 17), aceptando la hipótesis alternativa.
- La concentración de antocianinas totales en cáscara en los tratamientos presenta diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos “2,5% oxígeno + 2,5%” y “2,5% oxígeno + 5,0%”, indicando que existe menor concentración de antocianinas en los tratamientos con respecto a su control (AIRE). El análisis de la mejor atmósfera 80 % de oxígeno + 20 % de dióxido de carbono, no presentó diferencia entre las medias de la concentración de antocianinas totales en la composición gaseosa en los 10 días de

almacenamiento, llegando a tener concentraciones similares en el día 1 y en día 10 (Figura 15), aceptando la hipótesis nula.

CAPÍTULO V

5.1 CONCLUSIONES

- Los diferentes compuestos bioactivos sufrieron cambios por la aplicación de las 5 atmósferas modificadas, presentando aumento o disminución de su concentración en el tomate de árbol almacenado por 10 días en refrigeración 4 °C.
- Las técnicas analíticas de determinación de antocianinas, carotenos, clorofilas, flavonoides y polifenoles tuvieron la precisión y exactitud necesaria para obtener resultados confiables de las concentraciones de todos los análisis realizados en cáscara y pulpa de tomate de árbol.
- Se observó que los componentes bioactivos de la cáscara tuvieron variación significativa con respecto a su control por la aplicación de atmosferas modificadas: “2,5 % oxígeno + 2,5 % dióxido de carbono” y “2,5 % oxígeno + 5,0 % dióxido de carbono” para antocianinas totales disminuyendo la concentración en un 12 % y 18 % respectivamente; y con el tratamiento gaseoso 80 % oxígeno + 20 % de dióxido de carbono degradando un 11 % de clorofila total.
- Se observó que la concentración de los flavonoides totales tuvieron un incremento significativo del 25 % en la fruta almacenada a la concentraciones gaseosas de “80 % oxígeno + 10 % de dióxido de carbono” y un incremento 8 % del contenido de polifenoles totales en la pulpa almacenada en el tratamiento de “90% oxígeno + 10 % de dióxido de carbono” con respecto a su control.
- Se determinó de manera global que el mejor tratamiento de almacenamiento para el tomate de árbol fue “80 % oxígeno + 20 % de dióxido de carbono”, permitiendo obtener un incremento en la biosíntesis del 12 % flavonoides totales en pulpa y una disminución significativa del 11 % de en clorofila con respecto a su control. Sin afectar de forma significativa en la concentración en antocianinas totales en pulpa y cáscara, carotenos totales y polifenoles totales en pulpa a los 10 días de almacenamiento;

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar en próximos estudios, un análisis del de los componentes bioquímicos en su día cero, antes de ser almacenado en la composición gaseosa estudiada y el aire control, para conocer los contenidos iniciales y así poder realizar una cinética de biosíntesis o degradación de los analitos estudiados.
- Se recomienda realizar análisis de evolución del ácido ascórbico y otros ácidos orgánicos mayoritarios presentes en el tomate de árbol en el mejor tratamiento de almacenamiento, ya que según estudios bibliográficos la presencia o ausencia puede influenciar en el contenido de antocianinas totales en pulpa.
- Se recomienda el estudio de la producción de etileno de la fruta en almacenamiento bajo las diferentes atmósferas modificadas, para poder tener una mejor comprensión de los fenómenos bioquímicos subyacentes en el proceso respiratorio y de la maduración de la fruta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1.
- Baquero, L. E., Castro, J. A., y Narváez, C. E. (2005). Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 11.
- Bohs, L. (1989). Ethnobotany of the Genus *Cyphomandra* (Solanaceae). *Economic Botany*, 43(2), 145.
- Castilla, N. (2007). Post-cosecha. In N. Castilla (Ed.), *Invernaderos de plástico: tecnología y manejo* (Vol. 2, pp. 357-360). España: Mundi-Prensa Libros.
- Cerrón, T., y Rodríguez, V. (2007). Atmósferas Controladas: Principios, Desarrollo y Aplicaciones de esta la Tecnología de Alimentos. *Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas-Puebla*, 1, 55-65.
- Cuesta, L., Andrade, M. J., Moreno, C., y Concellón, A. (2017). Contenido de compuestos antioxidantes en tres estados de maduración de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) cultivado a diferentes alturas (m.s.n.m.). *Enfoque UTE*, 4, pp. 32-49.
- Day, B. (1996). High oxygen modified atmosphere packaging for fresh prepared produce. *Postharvest News Information*, 7, 31-34.
- Dekker, A. O., y Dickinson, R. G. (1940). Oxidation of ascorbic acid by oxygen with cupric ion as catalyst. *Journal of the American Chemical Society*, 62(8), 2165-2171.
- Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones-PRO ECUADOR. (2016). Perfil sectorial de frutas no tradicionales. In P. ECUADOR (Ed.), *Ministerio de Comercio Exterior* (pp. 7, 9, 11). Ecuador: PRO-Ecuador.
- 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.). Quito - Ecuador: Estación Experimental Santa Catalina.
- Fonseca, S. C., y Malcata, X. (2003). Application of controlled and modified atmospheres for the preservation of postharvest quality in fresh fruits and vegetables. *Food, Agriculture & Environment*, 1(2), 82-87.
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A. R., 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. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00106-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00106-6)
- Gómez, P. A., y Camelo, A. F. (2002). Calidad postcosecha de tomates almacenados en atmósferas controladas. *Horticultura Brasileira*, 20(1), 38-43.
- Guerrero, C. A. (2009). *Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (Cavendish valery) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
- Guevara, E., y Jiménez, V. (2006). Transformaciones durante el proceso de maduración de los frutos carnosos. In E. Villalobos (Ed.), *La Reproducción de las Plantas* (Vol. 5, pp. 54). Costa Rica: UCR Editorial
- Gunes, G., Liu, R. H., y Watkins, C. B. (2002). Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5932-5938.
- INEN (2015). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1909. Frutas frescas. Tomate de árbol. Requisitos (pp. 13). Quito (Ecuador).
- Jáuregui, M. E. C., Carrillo, M. d. I. C. C., y Romo, F. P.-G. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 61(3), 233-241.
- Kader, A. (1986). Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food technology (USA)*, 99, 100.
- Kader, A. (1994). Modified and Controlled Atmosphere Storage of Tropical Fruits. In Champ B. R. et al (Ed.), *Postharvest handling of tropical fruits: proceedings of a*

- international conference held at Chaing Mai, Thailand.* (pp. 239-249). Canberra, Australia: ACIAR Proceedings.
- Kader, A., y Ben-Yehoshua, S. (2000). Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 20(1), 1-13.
- Kaur, C., y Kapoor, H. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Sciences and Technology*, 36, 703-725.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-Parrilla, M. C., Troncoso, A. M., y Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Food Science and Technology (Campinas)*, 24(4), 691-693.
- León, F., Viteri, D., y Cevallos, A. (2004). Manual del cultivo de tomate de árbol (Vol. 61). Quito-Ecuador: INIAP, Estación Santa Catalina, Programa de Fruticultura.
- Leong, S. Y., y Oey, I. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 133(4), 1577-1587.
- López, J. Á., Valverde, F. J., Torres, M., Lizzeth, S., López Angulo, G., y Vega García, M. O. (2011). Efecto del almacenamiento en atmósfera controlada sobre la calidad poscosecha y nutricional del tomate. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17(2), 115-128.
- Márquez, C. J., Otero, C. M., y Cortes, M. (2007). Cambios fisiológicos, texturales, fisicoquímicos y microestructurales del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en poscosecha. *Vitae (Medellín)*, 14(2), 9-16.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., y Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*, 17(6), 271-278.
- Orozco, C. A. R., y Báez, M. d. R. R. (2010). USO DE LA ECUACIÓN DE HORWITZ EN LABORATORIOS DE ENSAYOS NMX-EC-17025-IMNC-2006. *Centro Nacional de Metrología* (Simposio de Metrología).
- Ospina, S. M., y Cartagena, J. R. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de investigación*, 5(2).
- Pérez, A. G., y Sanz, C. (2001). Effect of high-oxygen and high-carbon-dioxide atmospheres on strawberry flavor and other quality traits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2370-2375.
- Planella, I. (1987). El fenómeno de la maduración. In R. Cepeda (Ed.), *Tecnología del manejo de poscosecha de frutas y hortalizas* (pp. 55-64). Bogotá: IICA.
- PRO-ECUADOR. (2012). Análisis Sectorial de Frutas no Tradicionales. In D. d. I. C. e. Inversiones (Ed.), *MLFC*. Quito-Ecuador.
- PRO-ECUADOR. (2013). Oportunidades para el tomate de árbol ecuatoriano en el mercado español. *Noticias*. Retrieved 27/12/2013, from <http://www.proecuador.gob.ec/2013/12/27/oportunidades-para-el-tomate-de-%C3%A1rbol-ecuadoriano-en-el-mercado-espa%C3%B1ol/>
- PRO ECUADOR. (2012). Tomate de Árbol-Estados Unidos. In S. d. A. a. Exportador (Ed.), *Noticias* (pp. 13). Ecuador: Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones - PRO ECUADOR.
- Prohens, J., y Nuez, F. (2000). The Tamarillo (*Cyphomandra betacea*) A Review of a Promising Small Fruit Crop. *Small Fruits Review*, 1(2), 43-68. doi: http://dx.doi.org/10.1300/J301v01n02_06
- Quiñones, M., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Rapisarda, P., Fanella, F., y Maccarone, E. (2000). Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2249-2252.
- Reina, C. E. (1998). Manejo poscosecha y evaluación de la calidad para tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* tendi) que se comercializa en la ciudad de Neiva. In M.

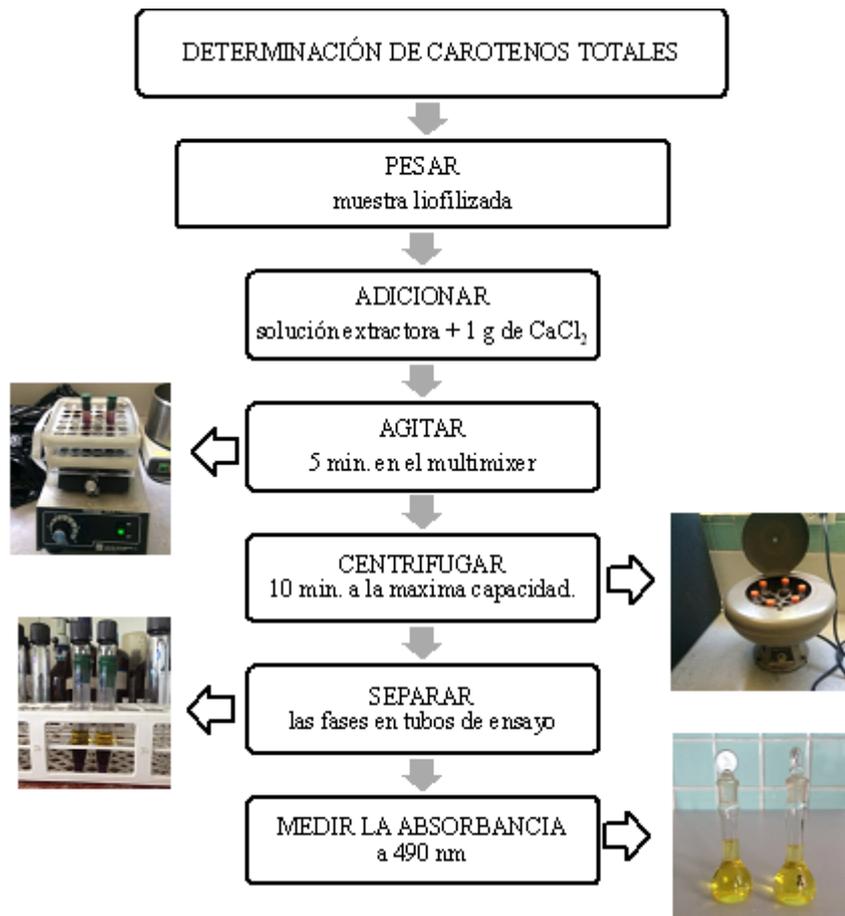
- Guzmán y O. Tovar (Eds.), *Programa de Ingeniería Agrícola* (pp. 7-11, 26). Neiva: Universidad Surcolombiana.
- Reina, C. E., Guzmán, M. H., y Tovar Chavarro, O. (1998). Manejo postcosecha y evaluación de la calidad para tomate de árbol (*Cyphomandra betacea tendi*) que se comercializa en la ciudad de Neiva (pp. 7-10). Neiva-Colombia: Universidad Surcolombiana.
- Revelo Morán, J. A., Pérez Alarcon, E. Y., y Maila Álvarez, M. V. (2004). El Cultivo de tomate de árbol. In Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Fondo para el Financiamiento del Sector Agropecuario y Programa de Modernización de los Servicios Agropecuarios (Eds.), (pp. 3, 4, 18, 70, 71). Quito (Ecuador).
- Rosas, E. (2016). *Caracterización y microencapsulación de compuestos bioactivos de tomate de árbol (cyphomandra betacea) variedad gigante anaranjado*. (Ingeniero Agroindustrial y Alimentos), Quito: Universidad de las Américas, 2016.
- Sgroop, S. C., Montiel, G. M., y Avanza, J. R. (2003). Efectos del Tratamiento Térmico sobre el Puré de pimientos (*Capsicum annun, L.*). *Información Tecnológica*, 7, 15-20.
- Sondheimer, E., y Kertesz, Z. (1953). Participation of ascorbic acid in the destruction of anthocyanin in strawberry juice and model systems. *Journal of Food Science*, 18(1-6), 475-479.
- Sorio, N. (1996). Problemática de la pre y post cosecha en Ecuador. In Programa Cooperativo de Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria para la Subregión Andina (PROCIANDINO) (Ed.), *Manejo pre y post-cosecha de frutales y hortalizas para su exportación* (pp. 12-15). Quito-Ecuador: PROCIANDINO.
- Sousa, A., Oliveira, J., y Sousa-Gallagher, M. (2017). Determination of the respiration rate parameters of cherry tomatoes and their joint confidence regions using closed systems. *Journal of Food Engineering*, 206, 13-22.
- Thompson, A. (2010). Introduction - Effects and Interactions of CA Storage,. In A. Thompson (Ed.), *Controlled atmosphere storage of fruits and vegetables* (Segunda ed., pp. 1, 11). Preston - Reino Unido: CABI.
- Valle, S., Alonso, A., y Alia, I. (2008). Atmósferas con bajo O₂ y alto CO₂ para la conservación de frutos de litchi. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(2).
- Vasco, C., Avila, J., Ruales, J., Svanberg, U., y Kamal-Eldin, A. (2009). Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum Cav.*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup7), 278-288.
- Zheng, Y., Wang, C. Y., Wang, S. Y., y Zheng, W. (2003). Effect of high-oxygen atmospheres on blueberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 7162-7169.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., y Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.

ANEXOS.

ANEXO 1. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES



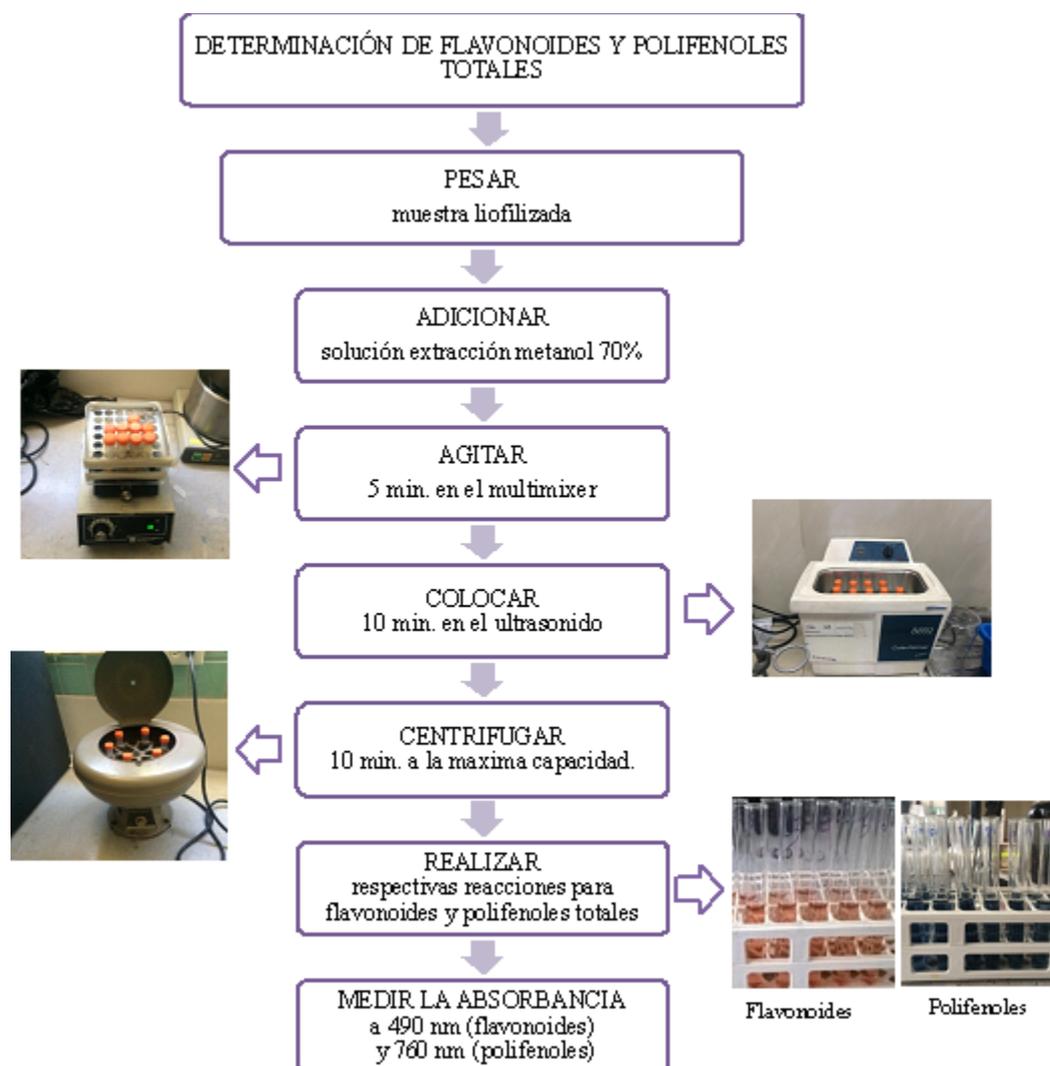
ANEXO 2. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE CAROTENOS TOTALES



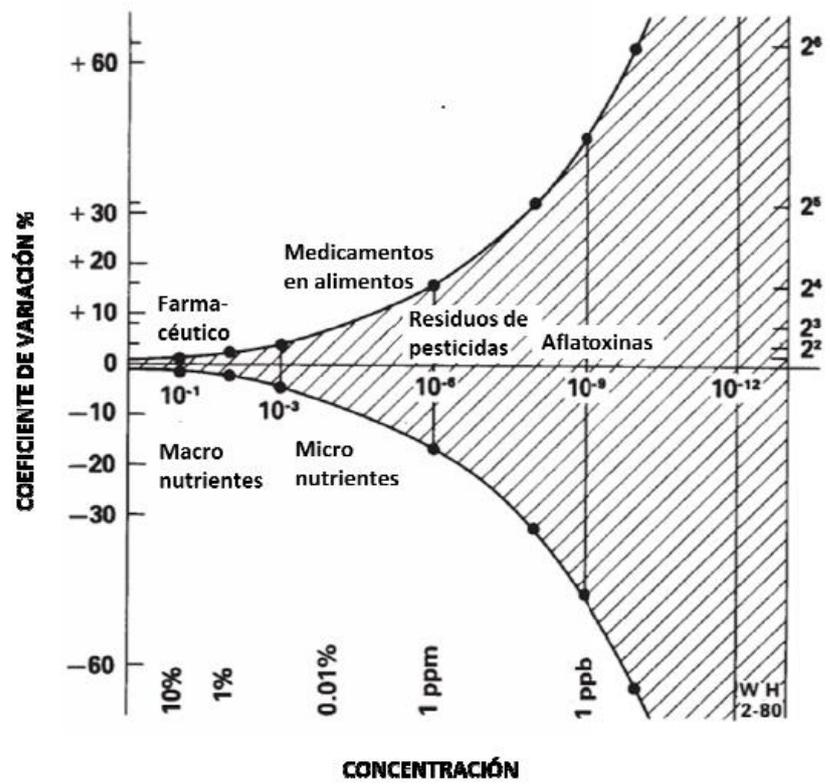
ANEXO 3. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE CLOROFILA TOTAL



ANEXO 4. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES Y POLIFENOLES TOTALES



ANEXO 5. TROMPETA DE HORWITZ.



Fuente: (Orozco y Báez, 2010)

ANEXO 6. CONCENTRACIÓN DE ANALITOS CON RESPECTO A COEFICIENTE DE HORWITZ.

Tabla 24. Coeficiente de variación de Horwitz para diferentes concentraciones de analitos.

Concentración de analito	Coeficiente de variación de Horwitz
10 %	2,8 %
1 %	4,0 %
0,1 %	5,6 %
0,01 %	8,0 %
1 ppm	16 %
1 ppb	45 %

Fuente: (Orozco y Báez, 2010)