



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



Tema: Evaluación del efecto de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la composición bioquímica de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.)

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyectos de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos, 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 H. 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 Autónomo de Investigaciones Agropecuarias - INIAP, Estación Experimental Santa Catalina” aprobado por el H. Consejo Universitario en Resolución 0696-CU-P-2017.

Autora: Melissa Liseth Llive Flores

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 sido 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, 17 de Enero del 2018



Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz

C.I. 1756978225

TUTOR UTA

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Melissa Liseth Llive Flores, manifiesto que los resultados obtenidos en el proyecto de investigación, previamente a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas.



Melissa Liseth Llive Flores
C.I. 1722768940
AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL 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:



Presidente del tribunal



MSc. Maria Isabel Salazar Cobo
C.I. 171619725-4



Dr. Milton Rubén Ramos Moya
C.I. 180111963-5

Ambato, 23 de Febrero del 2018

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este proyecto de investigación o parte del 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 una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Melissa Liseth Lliveros Flores
C.I. 1722768940
AUTOR

DEDICATORIA

A Dios y la Virgen por ser mi guía y siempre acompañarme día a día.

A mi papi Rafael y mi mami Irene, por sus enseñanzas y consejos, por todo su cariño y apoyo incondicional, por ello siempre les estaré eternamente agradecida.

A mis hermanas Vanessa y María Belén y mi sobrino Nicolás, por todos los momentos vividos y siempre ser mi apoyo y mi fuerza para salir adelante.

A mi pequeño Diego Francisco eres la luz de mi vida y mi motor para seguir adelante. Todos mis logros serán para que los compartamos juntos y siempre recuerdes que todo se puede lograr a pesar de las dificultades. Sigue adelante y nunca te rindas mi amor.

*Agradezco a Dios por tenerles a ustedes.
Los amo mucho*

Melissa

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme la vida, ser mi guía, mi consuelo en muchos momentos difíciles y brindarme sabiduría día a día para así lograr mis metas propuestas.

A toda mi familia por acompañarme en este trascurso de mi vida y siempre darme ánimos para estudiar y superarme día a día.

A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, por los conocimientos impartidos a través de sus docentes, los que me han ayudado en mi formación profesional.

A mi tutor Ph.D. Ignacio Angós y a la Ing. Wilma Llerena por dejarme formar parte del proyecto de investigación y compartir sus conocimientos.

Al Instituto Nacional de investigaciones Agropecuaria, de manera especial al Departamento de Nutrición y Calidad, donde tuve un aprendizaje técnico-científico durante el trabajo de investigación. A esas grandes personas que forman parte de este departamento que supieron ayudarme, brindarme su amistad y darme una palabra de aliento para seguir adelante.

Al Dr. Iván Samaniego por el apoyo científico-técnico, por permitirme aprender de sus conocimientos, gracias a demás por su amistad y confianza brindada.

Al Ing. Geovanny, Naty, Carito y Carlita por sus enseñanzas impartidas, brindarme su amistad, por aquellos buenos momentos que compartieron conmigo y darme siempre buenos consejos para seguir adelante.

A los compas que formaron parte de este proyecto Jessica, David, Jonathan, Magali, Pedro y Diana. A pesar de las dificultades pudimos salir adelante como un buen equipo de trabajo y lograr nuestros objetivos, gracias por todo.

A Diego por brindarme siempre su amistad y cariño, ser un compañero y cómplice a pesar de las adversidades, por sus palabras de aliento en todo momento, y siempre apoyarme para seguir adelante y cumplir mis sueños.

A Don Lutgardito y Doña Margarita por sus consejos, su mano amiga y el cariño que han sabido brindarme durante este tiempo.

A mis amigas y amigos que siempre estuvieron allí para escucharme y darle una palabra de aliento. A mis amigos que realice durante toda la carrera que supieron ayudarme en aquellos momentos difíciles los quiero a todos.

Melissa

ÍNDICE GENERAL

Contenido

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE TABLAS	6
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
CAPITULO I.- EL PROBLEMA	13
1.1. TEMA	13
1.2. JUSTIFICACION	13
1.3. OBJETIVOS	14
1.3.1. Objetivo general.....	14
1.3.2. Objetivo específicos.....	14
CAPITULO II.- MARCO TEÓRICO.....	15
2.1. NARANJILLA	15
2.1.1. Botánica.....	15
2.1.2. Clasificación taxonómica	16
2.1.4 Fisiología de crecimiento	18
2.1.5. Cosecha y postcosecha.....	19
2.2. TASA RESPIRATORIA	19
2.3. COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	22
2.3.1. Polifenoles	22
2.3.2. Flavonoides	23
2.3.3. Carotenoides	24
2.3.4. Clorofila.....	25
2.4 ATMÓSFERAS MODIFICADAS.....	26

2.5. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN	27
2.6. HIPÓTESIS.....	27
2.6.1. Señalamiento de variables de la hipótesis.....	28
CAPÍTULO III.- MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1. MATERIALES	29
3.1.1. Material vegetal	29
3.2. MÉTODOS.....	29
3.2.1. Aplicación de atmósferas modificadas.....	29
3.2.2. Preparación de la muestra.....	30
3.2.3. Determinación de los parámetros bioquímicos	31
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	35
3.3.1. Factores en estudio	35
3.3.2. Tratamientos.....	36
3.3.3. Diseño experimental	37
3.3.4. Análisis funcional	37
CAPITULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1. POLIFENOLES TOTALES.....	38
4.1.1. Validación del método.....	38
4.1.2. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales.	41
4.2. FLAVONOIDES TOTALES	43
4.2.1. Validación del método.....	43
4.2.2. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales.	46
4.3. CAROTENOIDES TOTALES	47
4.3.1. Validación del método.....	47
4.3.2. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales.....	49
4.4. CLOROFILA TOTAL	53
4.4.1. Validación del método.....	53
4.4.2. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila total. 54	
4.5. DETERMINACIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO DE LAS DIFERENTES ATMÓSFERAS MODIFICADAS CON RESPECTO A SU CONTROL	56
4.6. MEJOR TRATAMIENTO G2: 2,5 % O ₂ -5,0 % CO ₂	57

4.6.1. Contenido de carotenoides totales en muestra liofilizada de cáscara de naranjilla	57
4.7. MEJOR TRATAMIENTO G4: 80 % O ₂ -20 % CO ₂	58
4.7.1. Contenido de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla	58
4.7.2. Contenido de carotenoides totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla	58
4.7.3. Contenido de carotenoides totales en muestra liofilizada de cáscara de naranjilla	59
4.8. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS.....	61
CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1. CONCLUSIONES	62
5.2. RECOMENDACIONES	63
CAPITULO V.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales destinos de las exportaciones de naranjilla y demás cítricos desde Ecuador % Participación Miles USD FOB Año 2013. Fuente: PROECUADOR (2014).	10
Figura 2. Naranjilla de jugo, variedad INIAP-Quitoense 2009.	17
Figura 3. Tabla de color para la naranjilla variedad INIAP-Quitoense 2009 (<i>Solanum quitoense</i> Lam.). Fuente: Brito Grandes et al. (2012).	18
Figura 4. Patrones de respiración de frutas climatéricas y no climatéricas durante la maduración. Fuente: FAO (1987).	21
Figura 5 . Proceso de oxidorreducción (redox) de los polifenoles. Fuente: Yúfera (1996).	23
Figura 6. Estructura básica y tipos de flavonoides. Fuente: Martínez Flórez et al. (2002).	24
Figura 7. Diferentes estructuras de carotenoides. Fuente: A. G. Hernández y López (2010).	25
Figura 8. Estructura de la clorofila. Fuente: Martínez Álvarez y Rodríguez Yunta (2007).	26
Figura 9. Esquema del sistema cerrado en el cual se aplicaron las cinco mezclas gaseosas. DR significa día que se retiraron los botes del sistema de mezcla gaseosa para ser analizados, con su réplica respectiva. Fuente: Guevara-Correa (2017).	30
Figura 10. Proceso de preparación de las muestras.	31
Figura 11. Proceso de liofilización de las muestras.	31
Figura 12. Método de determinación de polifenoles totales.	32
Figura 13. Método de determinación de flavonoides totales.	33
Figura 14. Método de determinación de carotenoides totales.	34
Figura 15. Método de determinación de clorofila total.	35
Figura 16. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles totales.	39
Figura 17. Resultados del ensayo de recuperación de los polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.	40

Figura 18. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales.....	44
Figura 19. Resultados del ensayo de recuperación de los flavonoides totales.	45
Figura 20. Resultados del ensayo de recuperación de carotenoides totales. 1: pulpa de naranjilla; 2: cáscara de naranjilla.	49
Figura 21. Resultados del ensayo de recuperación de clorofila total mediante solución acuosa de acetona al 80 %	54
Figura 22. Evolución del contenido de carotenoides totales de muestras liofilizadas de cáscara naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días en el G2: 2,5 % O ₂ -5.0 % CO ₂ , con su aire control.....	57
Figura 23. Evolución del contenido de polifenoles totales de muestras liofilizadas de pulpa de naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días en el G4: 80 % O ₂ -20 % CO ₂ , con su aire control.	58
Figura 24. Evolución del contenido de carotenoides totales de muestras liofilizadas de pulpa de naranjilla almacenada en refrigeración (7°C) durante 10 días en el G4: 80 % O ₂ -20 % CO ₂ , con su aire control.....	59
Figura 25. Evolución del contenido de carotenoides totales de muestras liofilizadas de cáscara de naranjilla almacenada en refrigeración (7°C) durante 10 días en el G4: 80 % O ₂ -20 % CO ₂ , con su aire control.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental en el estudio de los factores que influyen en el contenido de compuestos bioquímicos de naranjilla almacenada bajo atmósfera modificada y refrigeración.	36
Tabla 2. Tratamientos obtenidos para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas y sus controles en la calidad bioquímica de naranjilla.	36
Tabla 3. Análisis de fuentes de variación y grados de libertad del diseño experimental empleado para estudiar el efecto de las atmósferas modificadas en la calidad bioquímica de naranjilla.....	37
Tabla 4. Estudio de la linealidad de la curva patrón que relaciona la concentración de los estándares de ácido gálico y la absorbancia medida a 760 nm.....	38
Tabla 5. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.	40
Tabla 6. Contenido de polifenoles totales en pulpa de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C).....	41
Tabla 7. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales promedio de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: mg ac. gálico/100 g ms.....	42
Tabla 8. Estudio de la linealidad de la curva patrón que relaciona la concentración de los estándares de catequina y la absorbancia medida a 490 nm.	44
Tabla 9. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de flavonoides totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.	45
Tabla 10. Contenido de flavonoides totales en pulpa de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C).....	46
Tabla 11. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales promedio de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: mg catequina/100 g materia seca	47
Tabla 12. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de carotenoides totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.....	48
Tabla 13. Contenido de carotenoides totales en pulpa de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C).....	50

Tabla 14. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido promedio de carotenoides totales en pulpa de naranjilla, durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno /g ms}$	50
Tabla 15. Contenido de carotenoides totales en cáscara de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C)	51
Tabla 16. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido promedio de carotenoides totales en cáscara de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g materia seca}$	52
Tabla 17. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de clorofila total en muestra liofilizada de cáscara de naranjilla.....	53
Tabla 18. Contenido de clorofila total en cáscara de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C).....	55
Tabla 19. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila promedio en cáscara de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: $\text{mg/100 g materia seca}$	55
Tabla 20. Efecto global de las atmósferas modificadas con respecto a su control sobre el contenido de antioxidantes en naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C.....	56

RESUMEN

Los compuestos bioactivos ayudan en el tratamiento y prevención de algunas enfermedades a su actividad antiinflamatoria, antioxidante y capacidad de quelar varios metales. Estos se encuentran en frutas y verduras, son sintetizados por el metabolismo secundario.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la composición bioquímica de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) que fue almacenada por 10 días a una temperatura de 7°C, las combinaciones gaseosas fueron: G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; G2: 2,5 % O₂-5 % CO₂; G3: 80 % O₂-10 % CO₂; G4: 80 % O₂-20 % CO₂; G5: 90 % O₂- 10 % CO₂ y aire control.

Primero se liofilizaron todas las muestras y se validó el método para el análisis de polifenoles con la curva del ácido gálico, el de flavonoides con la curva de catequina, el de carotenoides con el coeficiente de extinción molar y el de clorofilas A y B a diferentes longitudes de onda para así obtener la clorofila total. Los análisis se realizaron por duplicado.

La aplicación de estas atmosferas actuó de forma diferente en cada parámetro bioquímico obteniendo que los mejores tratamientos fueron G2: 2,5 % O₂-5 % CO₂ y G4: 80 % O₂-20 % CO₂. En el tratamiento del Gas 2 la naranjilla tuvo mayor contenido de carotenoides totales en cáscara respecto a su control, mientras que el tratamiento del Gas 4 tuvo mayor contenido de polifenoles y carotenoides totales en cáscara, aunque el contenido de carotenoides en pulpa fue menor respecto a su control.

Palabras claves: Atmosferas modificadas, evaluación bioquímica, *Solanum quitoense* Lam, conservación de alimentos, compuestos bioactivos.

ABSTRACT

The bioactive compounds help in the treatment and prevention of some diseases to their anti-inflammatory activity, antioxidant and ability to chelate various metals. These are found in fruits and vegetables, are synthesized by the secondary metabolism.

In the present work the effect of the application of modified atmospheres on the biochemical composition of the naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) That was stored for 10 days at a temperature of 7 ° C was evaluated, the gas combinations were: G1: 2, 5% O₂-2.5% CO₂; G2: 2.5% O₂-5% CO₂; G3: 80% O₂-10% CO₂; G4: 80% O₂-20% CO₂; G5: 90% O₂- 10% CO₂ and air control.

First, all the samples were lyophilized and the method for the analysis of polyphenols was validated with the curve of gallic acid, the flavonoids curve with the catechin curve, the carotenoids curve with the molar extinction coefficient and the chlorophylls A and B at different wavelengths to obtain total chlorophyll. The analyzes were performed in duplicate.

The application of these atmospheres acted differently in each biochemical parameter obtaining that the best treatments were G2: 2.5% O₂-5% CO₂ and G4: 80% O₂-20% CO₂. In the treatment of Gas 2, the naranjilla had a higher content of total carotenoids in the shell compared to its control, while the treatment of Gas 4 had a higher content of polyphenols and total carotenoids in the shell, although the content of carotenoids in the pulp was lower compared to your control.

Keywords: Modified atmospheres, biochemical evaluation, *Solanum quitoense* Lam, food preservation, bioactive compounds.

INTRODUCCIÓN

Las frutas exóticas ecuatorianas en los últimos años han tenido una gran demanda en mercados internacionales y han sido exportadas a países asiáticos, europeos y americanos por tener un buen olor, textura, sabor y color; suelen ser consumidas frescas o elaboradas en diferentes productos **(PROECUADOR, 2014)**. Según **INEC (2016)** y **SINAGAP (2016)** existió un incremento en las exportaciones de un 63 %, en la última década (2000-2015).

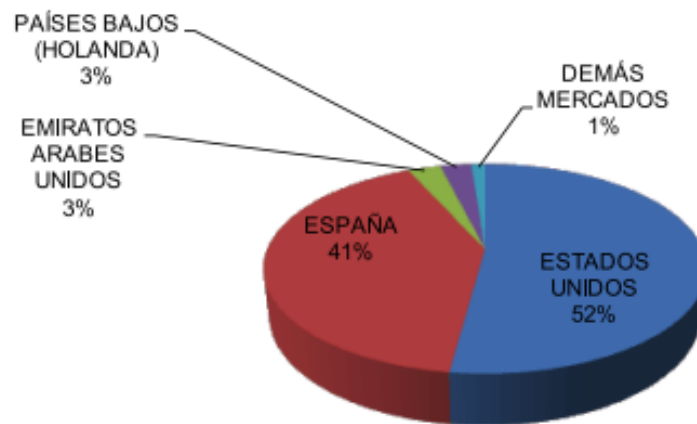


Figura 1. Principales destinos de las exportaciones de naranjilla y demás cítricos desde Ecuador % Participación Miles USD FOB Año 2013. **Fuente:PROECUADOR (2014)**.

Observando la Figura 1, Estados Unidos y España con 52 % y 41 % respectivamente, son los países donde existe una mayor exportación de la naranjilla, seguido de Emiratos Árabes Unidos, Holanda y demás mercados en el año 2013.

La naranjilla es una fruta exótica andina cultivada en varios países entre el centro y sur América. Es una fruta tradicional del Ecuador, se cultiva en una zona semi-tropical de las estribaciones oriental y occidental de la cordillera de los Andes **(Moreno Guerrero, Andrade Cuvi, Concellón y Díaz Navarrete, 2013)**. La fruta es climatérica, redonda, de color anaranjado brillante al alcanzar la madurez y achatada en los extremos. La cáscara contiene varias espinas y la pulpa es de color verde con un sabor agridulce **(Acosta, Pérez y Vaillant, 2009; Gallozzi Cáliz y Duarte, 2007)**. Esta fruta se puede encontrar en el mercado en forma de jugos, néctares, helados, jaleas, dulces, mermeladas, gelatinas, aderezos

(Loaiza Gonzalez, Santos Ordoñez, Mahecha Vanegas y Amariles Vasquez, 2014).

La variedad INIAP-Quitoense 2009 es resistente al ataque de enfermedades y plagas. Además, esta variedad posee una alta productividad, y presenta buenas características de calidad, lo que la hace muy apreciada para consumo en fresco o industrialización **(Revelo, Viteri, Vásquez, León y Gallegos, 2010).**

La cosecha inicia después de 6 a 9 meses tras el trasplante y al año se da la máxima producción del fruto. Debido a que su superficie está recubierta de vellosidades relativamente rígidas y finas capaces de traspasar la piel, es recomendable hacer la cosecha de forma manual con guantes, empleando tijeras para cortar el pedúnculo, sin quitar el cáliz, para evitar acelerar la senescencia del fruto **(Brito Grandes et al., 2012)**. La postcosecha empieza con la limpieza del fruto que, con el transcurrir de los días tras la cosecha, comienza a deteriorarse, presentando pérdida del valor nutritivo. Por ello, existen condiciones adecuadas para ser almacenada, a una temperatura entre 4 a 8 °C y 80 a 90 % de humedad relativa. Las pérdidas de postcosecha se deben principalmente al transporte, manipulación, mal embalaje y almacenamiento **(Moreno Guerrero et al., 2013).**

Los compuesto bioactivos, ayudan en el tratamiento y prevención de algunas enfermedades como: obesidad, cáncer, cardiovasculares, neurodegenerativas, gracias a su actividad antiinflamatoria, antioxidante y capacidad de quelar varios metales **(A. G. Hernández y López, 2010)**. Se encuentran en frutas y verduras, tienen la función de proteger a las plantas del estrés biótico y abiótico, desarrollo de la planta, atracción de polinizadores, interacción planta-microorganismo, defensa de plantas, repulsión de herbívoros y dispersión de semillas. Estos se clasifican en: polifenoles, terpenos y derivados azufrados **(Zapata, Piedrahita y Rojano, 2014).**

La respiración consiste a nivel celular en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, en las que las reservas alimenticias de la fruta como azúcares, ácidos orgánicos y otros componentes formados durante la fotosíntesis, se oxidan en presencia de oxígeno, produciendo dióxido de carbono, agua y liberando energía. La energía faculta el desarrollo de las actividades fisiológicas que son

necesarias para que la fruta pueda seguir viviendo. Los procesos metabólicos relacionados con la maduración generan procesos de degradación y procesos de biosíntesis **(Jara-Córdova, 2012; Montenegro Rivera, 2015)**.

En la actualidad, existen diversas técnicas de conservación de la fruta fresca. Entre ellas, la aplicación de atmósferas modificadas (AM) permite prolongar su vida útil. El uso de AM es una técnica de conservación que consiste en eliminar el aire del interior de un empaque o contenedor y remplazarlo generalmente por una mezcla de dióxido de carbono, oxígeno y nitrógeno en proporciones variables. La disminución del contenido de O₂ y aumento del CO₂, en la formación de atmósferas modificadas afecta en: metabolismo de pigmentos; fenoles y compuestos volátiles. La degradación de la clorofila, el pardeamiento por la acción de la enzima polifenoloxidasas y la síntesis de compuestos volátiles, todo esto disminuye ya que baja la presión parcial del O₂ **(M. Hernández, Barrera y Melgarejo, 2010; Kader, Zagory, Kerbel y Wang, 1989; Tabares Arboleda y Velásquez Riascos, 2003)**.

CAPITULO I.- EL PROBLEMA

1.1. TEMA

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ATMÓSFERAS MODIFICADAS SOBRE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE LA NARANJILLA (*Solanum quitoense* Lam.)

1.2. JUSTIFICACION

La naranjilla es una fruta tropical que se caracteriza por su sabor dulce y alto valor nutritivo derivado de su contenido en vitamina C y hierro (**Angulo Carmona et al., 2006**).

De acuerdo a los datos reportados por la Asociación Latinoamericana de Integración (**ALADI 2016**), Ecuador exporta en la actualidad un volumen de fruta en estado natural equivalente a 119.000 USD, superior al volumen exportado en el 2013 (18.000 USD). Según información del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (**MAGAP 2016**), la caja de naranjilla de 15,90 kg alcanzó un costo de $8,97 \pm 0,29$ USD, durante el año 2015. Para el año 2016, este valor se incrementó a $10,96 \pm 4,48$ USD.

El principal problema que enfrenta el sector exportador de este fruto se da por problemas de fermentación y ablandamiento. Luego de la cosecha, la fruta puede durar hasta 8 días en buen estado a una temperatura de 6 °C y humedad de 90 %, por lo que existe una amplia cantidad producida que ha de derivarse hacia el sector procesador en forma de jugos, conservas y mermeladas, que también se destina al mercado de exportación (**Andrade y Chong, 2001; Revelo et al., 2010**).

El uso de atmósferas modificadas (AM) y refrigeración hace posible reducir la tasa respiratoria de los frutos, lo que permite postergar la maduración manteniendo por más tiempo las características fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales que demanda el consumidor y la industria de procesado (**Fonseca, Oliveira y Brecht, 2002; Lozano, 2006**).

La aplicación de AM retarda la degradación de la clorofila, la presencia de carotenos que son responsables de color amarillo y anaranjado. Los polifenoles

y flavonoides que además de ser pigmentos responsables del color y aroma de las frutas, tienen beneficios para la salud humana debido a su acción antioxidante y eliminación de radicales libres, previniendo enfermedades inflamatorias, neurodegenerativas, obesidad, diabetes, ,cáncer entre otras **(Dixon y Aldous, 2014; Gómez, García, Melgarejo, Bardales y Ltda, 2004; Martínez Flórez, González Gallego, Culebras y Tuñón, 2002).**

A través de este trabajo de investigación se pretende evaluar el efecto de la aplicación de 5 tipos de AM compuestas por proporciones variables de oxígeno (O₂), dióxido de carbono (CO₂) y nitrógeno (N₂), en la composición bioquímica de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.)

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la composición bioquímica de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.)

1.3.2. Objetivo específicos

- Validar las técnicas analíticas de determinación de carotenoides, clorofilas, flavonoides y polifenoles en cáscara y pulpa de naranjilla.
- Determinar el contenido de carotenos totales y clorofilas a, b y c en la cáscara de naranjilla almacenada bajo atmósferas controladas, en base a diversas combinaciones gaseosas de O₂, CO₂ y N₂, en condiciones de refrigeración.
- Determinar el contenido de carotenos, flavonoides y polifenoles totales en la pulpa de naranjilla almacenada bajo atmósferas controladas, en base a diversas combinaciones gaseosas de O₂, CO₂ y N₂, en condiciones de refrigeración.
- Establecer la mezcla gaseosa idónea en base a la relación entre las variables bioquímicas estudiadas y la calidad de la fruta.

CAPITULO II.- MARCO TEÓRICO

2.1. NARANJILLA

2.1.1. Botánica

La naranjilla, es una fruta exótica andina, cultivada en varios países que van desde Chile hasta México, pero los de mayor producción son: Ecuador, Colombia, Perú, Panamá, Costa Rica y Honduras (**Medina, Sánchez, Camayo, Lobo y Martínez, 2008; Quinchia C. y Cabrera C., 2006**). Esta se cultiva en una zona semitropical de las estribaciones oriental y occidental de la cordillera de los Andes. (**Ochoa L. y Jeffrey Alwang, 2009**). En el Ecuador los cultivos se encuentran entre 600 hasta 1700 msnm; siendo la altitud más óptima 1400 msnm y una temperatura adecuada que va desde 17 hasta 20 °C (**Jarrín Pereira, 2009**). Las provincias donde existe mayor producción son: Napo, Pastaza, Morona Santiago, existen lugares donde se produce a menor escala como Sucumbíos, Zamora Chinchipe, Orellana, Tungurahua y Pichincha (**Revelo et al., 2010**).

La planta es arbustiva, la cual llega a tener una altura entre 1,8 a 2,5 m, con un tallo semileñoso, cilíndrico, veloso, de color verde. Las hojas son grandes y miden 30 a 40 cm, con forma oblonga-ovalada y aterciopelada, de color verde oscuro por el haz y verde claro por el envés. Las flores tienen forma estrellada, poseen cinco pétalos aterciopelados de un color cremoso (**Jarrín Pereira, 2009**).

Según **Revelo et al. (2010)** o **Pinto Bocancho (2015)**, en el Ecuador existen algunas variedades como:

- **Variedad “agria” (*Solanum quitoense* Lam. var. *quitoense*).**

El fruto es esférico, un poco achatado en los polos con un diámetro entre 5 a 7 cm, su epidermis es fina de color amarillo rojizo y la pulpa de color verde con sabor agridulce. Es utilizado en refrescos, helados y alimentos preparados. Es susceptible al nemátodo del nudo de la raíz (*Meloidogyne incognita*), perforaciones de tallo así como del fruto y marchitez vascular (*Fusarium oxysporum*).

- **Variedad Baeza “dulce” (*Solanum quitoense* Lam. var. *quitoense*).**

Tiene características similares a la “agria”, pero el fruto es más grande, con un diámetro mayor a 7 cm, la base del pedicelo que va unida al fruto es más desarrollada, la epidermis es gruesa, de pulpa color verde y sabor dulce. Es utilizada en preparación de dulces, refrescos y gelatinas. Tiene mayor cantidad de flores cuajadas, pero similar susceptibilidad al nemátodo del nudo de la raíz, perforaciones de tallo, así como del fruto y marchitez vascular.

- **Variedad “espinosa” (*Solanum quitoense* Lam. var. *septentrionale*).**

El fruto es color rojizo y esférico con un diámetro entre 4 a 5 cm, presenta espinas en el tallo, ramas y hojas. Se estima que la superficie de cultivada es alrededor del 5 % del área total, ya que es muy susceptible al ataque del nemátodo del nudo de la raíz, perforadores del tallo y fruto y marchitez vascular. Esta variedad es poco cultivada en el Ecuador, pero tiene una gran distribución en Colombia.

- **Variedad INIAP-Quitoense 2009 (*Solanum quitoense* Lam. var. *quitoense*).**

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) a través del programa Fruticultura, desarrolló una tecnología donde se generaron materiales resistentes y prácticas de manejo agronómico, llevando a cabo varios cruzamientos interespecíficos entre las variedades de jugo y diversas especies silvestres, obteniendo así frutos de calidad en cuanto a tamaño, pulpa color verde e intenso aroma. La naranjilla de jugo INIAP Quitoense-2009, proviene de la variedad Baeza (2005-2007), la cual se ha ido mejorando mediante la selección de plantas por sus características de vigor, capacidad de cuajado, productividad y calidad físico química de los frutos obtenidos durante los años 2008 y 2009 **(Andrade Cuvi et al., 2016; Viteri D. et al., 2009).**

2.1.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de la naranjilla según **Revelo et al. (2010)** es:

Reino: Vegetal

Subreino: Espermatofhyta

División: Angiosperma

Subdivisión: Dicotiledónea

Clase: Simpétala

Subclase: Pentacíclica

Orden: Tubifloras

Familia: Solanácea

Sección: Lasiocarpa

Género: Solanum

Especie: quitoense

Varietades: quitoense (sin espina)

septentrionale (con espina)

Nombre científico: *Solanum quitoense* Lam.

Nombre vulgar: Naranjilla en Ecuador y Perú, lulo en Colombia, naranjilla de Castilla y toronja en España, Quito orange en EEUU, morelle de Quito en Francia, gele terong en Holanda y berenjena de olor en Costa Rica.

2.1.3 Características del fruto

En la Figura 2 se observa que el fruto es esférico y ligeramente achatado con un diámetro que da entre 4 a 8 cm y su peso entre 60 a 100 g.



Figura 2. Naranjilla de jugo, variedad INIAP-Quitoense 2009.

La epidermis tiene un aspecto liso, está cubierta de espinas y cuando alcanza su madurez puede llegar a tener un color amarillo intenso, amarillo o naranja.

La corteza es delgada, por lo cual es susceptible a golpes y al alcanzar la madurez toma un color amarillo intenso. La pulpa tiene un color verde oscuro con un pH entre 3,5 a 5,0. La semilla es lisa y redonda con un diámetro de 2 a 3 mm, teniendo un color blanquecino cremoso. Se lo considera un fruto climatérico,

ya que después de ser cosechada tiene un aumento en la tasa de respiración y un cambio de color de la cáscara de verde a amarillo o anaranjado (**Angulo Carmona et al., 2006; Viteri D. et al., 2009**).

Se puede consumir en jugos, mermeladas, helados, salsas, etc. Contiene vitaminas A y C y minerales, ayuda al sistema inmunológico, previene enfermedades respiratorias y nerviosas, es diurético, limpia la sangre y tiene propiedades antioxidantes (**Forero et al., 2016; Pinto Bocancho, 2015**).

2.1.4 Fisiología de crecimiento

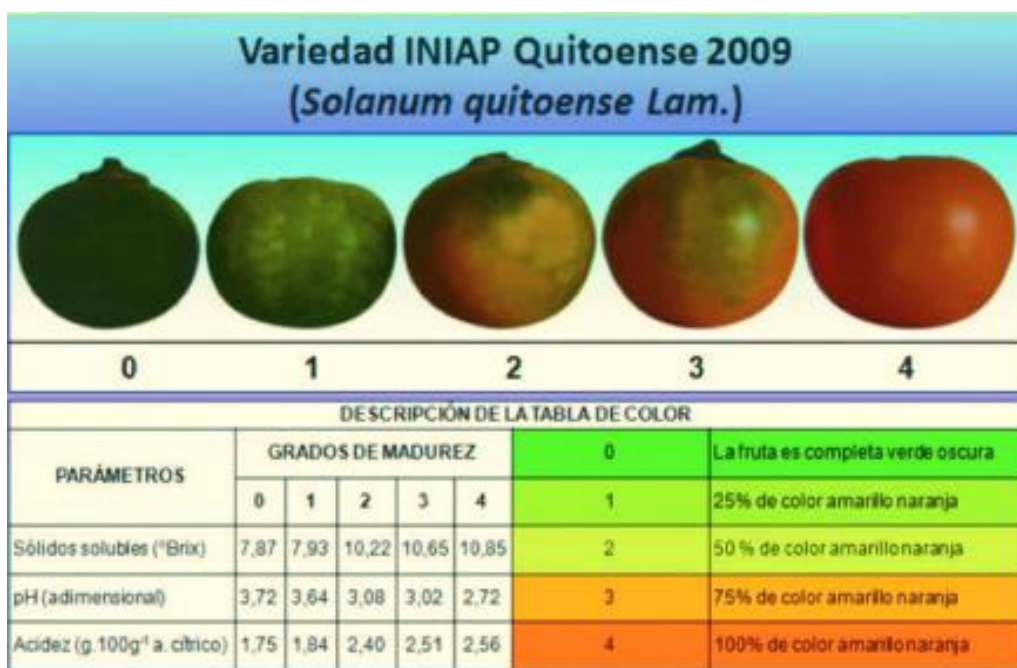


Figura 3. Tabla de color para la naranjilla variedad INIAP-Quitoense 2009 (*Solanum quitoense* Lam.).
Fuente: Brito Grandes et al. (2012).

Según **Brito Grandes et al. (2012)** se presentan cinco estados de madurez, donde se presenta el desarrollo fenológico de la fruta en la planta, el color está directamente relacionado, ya que el tono verde indica la presencia de clorofila. A medida que se va desarrollando el fruto comienzan a aparecer tonos amarillos y cuando alcanza su madurez total tiene un color amarillo o anaranjado intenso como se muestra en la Figura 3 (**Jara-Córdova, 2012**).

2.1.5. Cosecha y postcosecha

La cosecha se inicia después de 6 a 9 meses tras el trasplante. Después de un año se da la máxima producción del fruto. La producción es permanente, es decir, la planta siempre tiene flores y frutos de diferentes estados de maduración. La recolección se puede realizar cada 8 o 15 días, dependiendo del mercado en demanda. La forma de la cosecha y el grado de madurez tiene una gran influencia en la vida de postcosecha y comercialización **(Andrade y Chong, 2001; Brito Grandes et al., 2012)**.

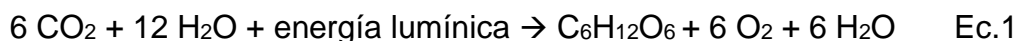
Se debe cosechar de forma manual con guantes, usando tijeras para cortar el pedúnculo, sin quitar el cáliz para que no haya deshidratación y ataque de enfermedades. El fruto debe estar en estado 3, donde presenta un 75 % de madurez (color amarillo). En este estado, la cáscara presenta cierta dureza que ayuda a evitar daño durante el transporte y la manipulación por la limpieza, clasificación y empaquetado. La fruta debe ser recolectada en canastas de plástico con una almohadilla para protegerla de los golpes **(Andrade Cuvi et al., 2016; Moreno et al., 2001)**.

La postcosecha empieza con la limpieza del fruto para retirar la pubescencia que se encuentra en toda la superficie, para así facilitar la manipulación. Esto se debe hacer con cuidado para que no exista daño en la fruta. Después de unos días de la cosecha, la fruta pierde peso, comienza a deteriorarse, aparecen arrugas, ablandamiento, pérdida del valor nutritivo y se descompone, por ello existen condiciones adecuadas para ser almacenadas y que se mantengan en buenas condiciones, llevándola a una temperatura de entre 4 a 8 °C y 80 % a 90% de humedad relativa. Las pérdidas postcosecha se deben al transporte, manipulación, mal embalaje y almacenamiento **(Gallozzi Cáliz y Duarte, 2007; Moreno Guerrero et al., 2013)**.

2.2. TASA RESPIRATORIA

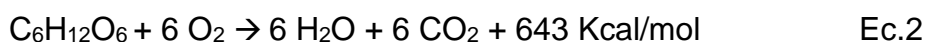
Las hojas, órganos especializados que interceptan la luz necesaria para la fotosíntesis, llevan a cabo esta función mediante los cloroplastos, complementada con el abastecimiento del agua de las vacuolas y los poros estomáticos que modifican rápidamente su apertura capturando el CO₂ **(Medina et al., 2008)**.

Durante la fotosíntesis, las plantas producen glucosa a partir de la energía solar, el agua del suelo y el dióxido de carbono presente en la atmósfera circundante (Ecuación 1) **(Gliessman, 2002; Koolman y Röhm, 2005)**.



Una vez cosechados, en los frutos se detienen los procesos fotosintéticos, pero continúan teniendo lugar los procesos metabólicos asociados a la respiración **(Barreiro y Sandoval, 2006)**.

La respiración consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, mediante las cuales las reservas alimenticias de la fruta (azúcares, ácidos orgánicos y otros componentes formados durante la fotosíntesis) se oxidan en presencia de oxígeno, produciendo dióxido de carbono, agua y liberando energía (Ecuación 2) **(Montenegro Rivera, 2015)**.



El nivel de actividad respiratoria se determina en base a la producción de dióxido de carbono (CO₂) y el consumo de oxígeno (O₂), así como por la relación entre ambos (coeficiente respiratorio), que es la relación molar entre ambas tasas de respiración (moles CO₂ producido / moles O₂ consumido) **(Diaz, 1986)**.

La energía faculta el desarrollo de las actividades fisiológicas que son necesarias para que la fruta pueda seguir viviendo. Los procesos metabólicos relacionados con la maduración generan procesos de degradación como la inactivación de enzimas, degradación de clorofila, hidrólisis de almidón, oxidación de sustancias, inactivación de compuestos fenólicos, solubilización de pectinas, ablandamiento de la pared celular y cambios en la permeabilidad de las membranas. Pero también existen procesos de biosíntesis, como el mantenimiento de la estructura mitocondrial, formación de carotenoides, interconversión de azúcares, aumento de la actividad del ciclo glicolítico y del ácido tricarbóxico, formación del ciclo de etileno y síntesis de aromas **(Jara-Córdova, 2012)**.

Existen cambios en la intensidad respiratoria de las frutas desde las fases iniciales del crecimiento hasta la senescencia. En la Figura 4 se observa que los frutos climatéricos se caracterizan por tener procesos de respiración que

aceleran la maduración, por lo que se debe tener un manejo especial para que no se active el climaterio y evitar alcanzar la senescencia rápidamente (**García y García, 2001**).

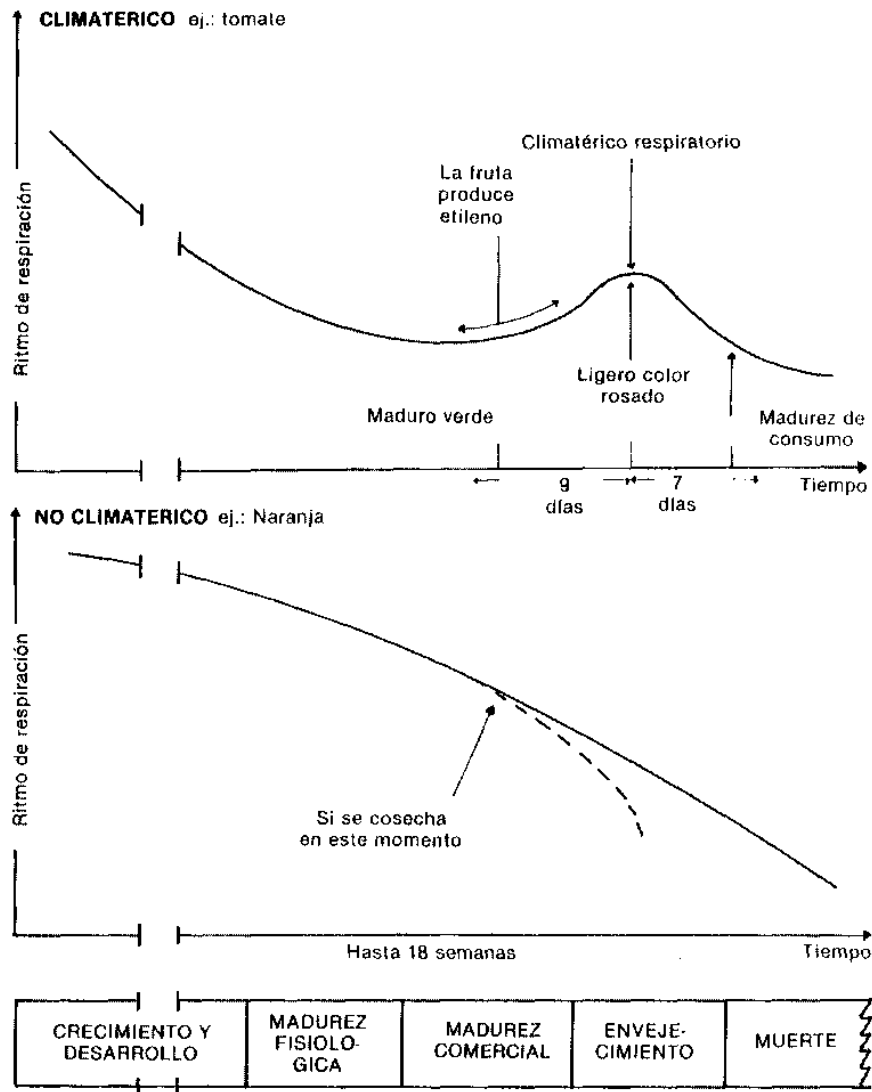


Figura 4. Patrones de respiración de frutas climatéricas y no climatéricas durante la maduración. **Fuente:** FAO (1987).

2.3. COMPUESTOS BIOACTIVOS

Los compuesto bioactivos, también conocidos como fitoquímicos y metabolitos secundarios, ayudan en el tratamiento y prevención de algunas enfermedades como: obesidad, cáncer, cardiovasculares, neurodegenerativas, gracias a su actividad antiinflamatoria, antioxidante y capacidad de quelar varios metales **(A. G. Hernández y López, 2010)**. Se encuentran en frutas y verduras, son sintetizados mediante el metabolismo secundario, tienen la función de proteger a las plantas del estrés biótico y abiótico, desarrollo de la planta, atracción de polinizadores, interacción planta-microorganismo, defensa de plantas, repulsión de herbívoros y dispersión de semillas. Estos se clasifican en: polifenoles, terpenos, derivados azufrados **(Zapata et al., 2014)**.

2.3.1. Polifenoles

Los polifenoles están relacionados de forma directa con las características del alimento como: el sabor, olor y el valor nutricional. Los polifenoles presentan una estructura molecular compuesta por uno o varios anillos fenólicos y un grupo hidroxilo, llegando a identificar 8.000 compuestos diferentes, los principales son: ácido fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides **(Padilla, Rincón y Bou-Rached, 2008)**.

Son solubles en agua, alcohol y éter. Forman colores rojos, azules violáceos por el hierro. Al estar en contacto con el aire se oxidan, formando quinonas que al polimerizarse forman sustancias melanoideas, las cuales dan un color pardo oscuro **(Yúfera, 1996)** (Figura 5).

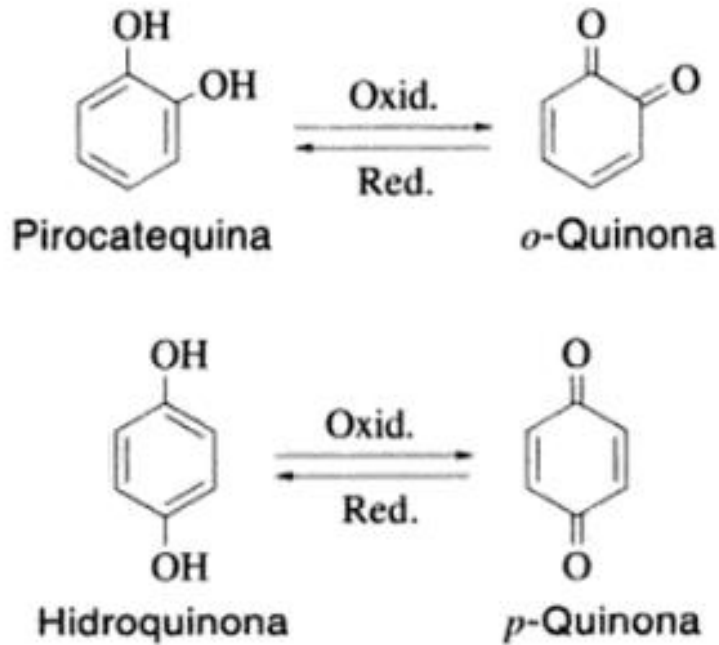


Figura 5. Proceso de oxidorreducción (redox) de los polifenoles. **Fuente:** Yúfera (1996).

2.3.2. Flavonoides

La palabra flavonoide (Figura 6), deriva del latín “flavus” que significa amarillo. Estas sustancias pertenecen al grupo de los polifenoles y son compuestos fenólicos presentes en verduras, frutas, frutos secos, flores, semillas, cereales, vino, cerveza, té negro y verde y soja. Tienen un bajo peso molecular, comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), formados por dos anillos de fenilos (A y B), unidos por un anillo C (heterocíclico) el cual presenta variaciones (Iglesias Neira, 2009).

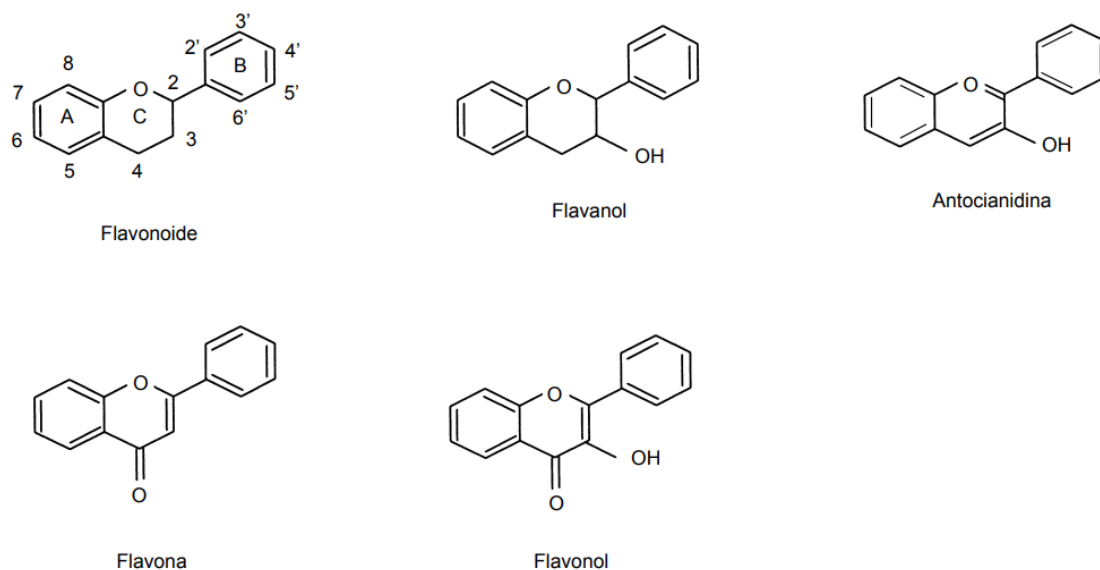


Figura 6. Estructura básica y tipos de flavonoides. **Fuente:** Martínez Flórez et al. (2002).

Se han llegado a identificar más de 5.000 flavonoides diferentes, los principales son: ciroflavonoides, isoflavonoides, genisteína, daidzeina, proantocianidinas, antocianidinas, ácido elágico, catequina y kaempferol **(Martínez Flórez et al., 2002)**.

2.3.3. Carotenoides

Los carotenoides (Figura 7), son pigmentos liposolubles de plantas, que dan un color rojo, amarillo y anaranjado. Se ha llegado a identificar más de 770 carotenoides diferentes, pudiendo separarse en dos grupos, los que están formados por estructuras hidrocarbonadas y las xantofilas. Entre los carotenoides más estudiados están α -caroteno, β -caroteno y licopeno; mientras que de las xantofilas es la luteína, zeaxantina y criptoxantina **(Biesalski y Grimm, 2007; A. G. Hernández y López, 2010)**.

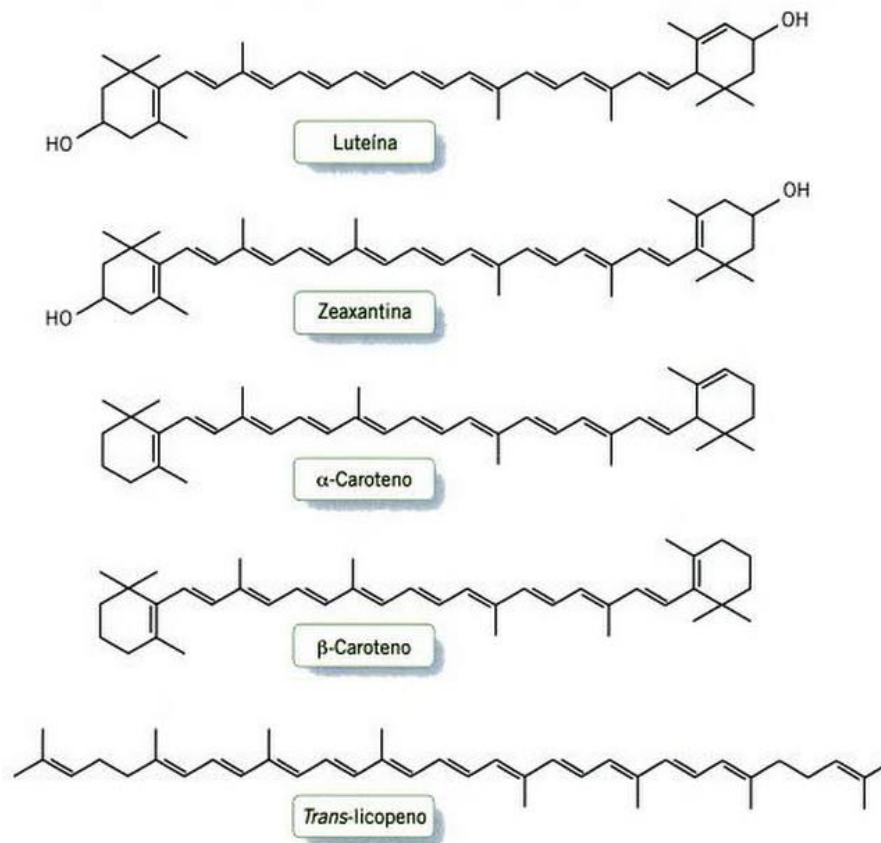


Figura 7. Diferentes estructuras de carotenoides. **Fuente:** A. G. Hernández y López (2010).

2.3.4. Clorofila

La clorofila (Figura 8), es el pigmento verde de las plantas. Se produce en la superficie de los tejidos, está formada por 20 carbonos, por ello resulta insoluble en agua, teniendo esta molécula en el centro un átomo de magnesio. Esta se encuentra en los cloroplastos, que son encargados de absorber la luz solar, la que se utiliza para transformar el dióxido de carbono en agua y azúcares (Delgado Pelayo, Gallardo Guerrero y Hornero Méndez, 2014; Martínez Álvarez y Rodríguez Yunta, 2007).

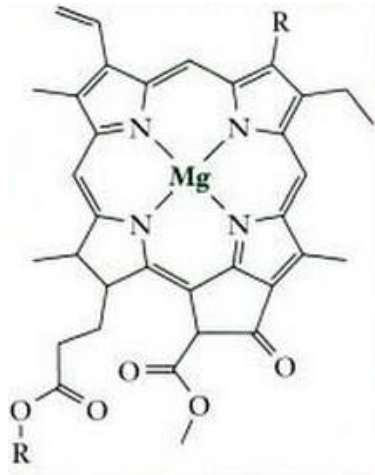


Figura 8. Estructura de la clorofila. Fuente: Martínez Álvarez y Rodríguez Yunta (2007).

2.4 ATMÓSFERAS MODIFICADAS

En la actualidad, existen diversas técnicas de conservación de la fruta fresca. Entre ellas, la aplicación de atmósferas controladas (AC) y atmósferas modificadas (AM) permiten prolongar su vida útil (**Beaudry, 1999; Day, 2001; García y García, 2001**).

El uso de AM es una técnica de conservación que consiste en eliminar el aire del interior de un empaque o contenedor y reemplazarlo generalmente por una mezcla de dióxido de carbono, oxígeno y nitrógeno en proporciones variables, en las que el nitrógeno es empleado generalmente como gas de relleno, pudiendo también emplearse otros tipos de gases (helio, argón, etc.). Para la aplicación de AM activa se retira todo el aire que se encuentra en el interior del envase y se reemplaza por la mezcla gaseosa deseada, mientras que la AM pasiva se genera con el tiempo en el interior del envase, ya que se obtiene por la respiración de la fruta en equilibrio con la permeabilidad del envase (**Kader et al., 1989; Tabares Arboleda y Velásquez Riascos, 2003**).

El oxígeno (O₂) y el dióxido de carbono (CO₂) son gases importantes para el metabolismo primario y secundario, ya que ayudan a prolongar la vida útil de las frutas y verduras. Al manipular estos compuestos existe un efecto en la producción de etileno, metabolitos primarios y secundarios (**Gorny, 1997; Sandhya, 2010**).

Los bajos niveles de O₂ reducen la respiración, la actividad de algunas enzimas, y el metabolismo de carbohidratos, mientras que los altos niveles de CO₂ retardan la síntesis de etileno, la degradación de la pared celular y producen cambios en el color, ya que disminuyen la utilización de azúcares. La disminución del contenido de O₂ y el aumento del CO₂, en la formación de atmósferas modificadas afectan de forma directa a tres procesos del metabolismo secundario como: metabolismo de pigmentos, fenoles y compuestos volátiles. La degradación de la clorofila, el pardeamiento por la acción de la enzima polifenoloxidasas y la síntesis de compuestos volátiles, todo esto disminuye ya que baja la presión parcial del O₂ (**M. Hernández et al., 2010; Zheng, Wang, Wang y Zheng, 2010**).

2.5. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

Delgado Pelayo et al. (2014), realizaron estudios en trece variedades de manzanas comerciales que tenían diferentes coloraciones (verde, roja, amarilla), analizaron el contenido de clorofila y carotenoides en la pulpa y cáscara y observaron que el contenido de pigmentos es mayor en la cáscara que en la pulpa para todas las muestras analizadas.

Zapata et al. (2014), realizaron un estudio en frutas y hortalizas de Colombia, analizaron el contenido de fenoles totales y la capacidad atrapadora de radicales de oxígeno (ORAC) y observaron que el contenido de fenoles totales y ORAC es mayor para verduras con respecto a frutas.

Gancel, Alter, Dhuique Mayer, Ruales y Vaillant (2008), realizaron estudios en naranjilla (*Solanum quitoense* Lam. var. Puyo). Primero analizaron las características fisicoquímicas, determinaron la composición del jugo, identificaron los carotenoides y polifenoles, y midieron la capacidad antioxidante, obteniendo como resultado, que la naranjilla es una fruta con un buen potencial nutricional.

2.6. HIPÓTESIS

H₀: La aplicación de diferentes combinaciones gaseosas mediante atmósferas modificadas no influye en las propiedades bioquímicas de la naranjilla.

H_a: La aplicación de diferentes combinaciones gaseosas mediante atmósferas modificadas influye en las propiedades bioquímicas de la naranjilla.

2.6.1. Señalamiento de variables de la hipótesis

a) Variable independiente

- Tratamientos gaseosos (combinaciones de gas/tiempo)

b) Variables dependientes

- Polifenoles (pulpa)
- Flavonoides (pulpa)
- Carotenoides (pulpa y cáscara)
- Clorofila (cáscara)

CAPÍTULO III.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Material vegetal

Para el desarrollo del proyecto de investigación, se utilizó naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) variedad INIAP Quitoense 2009, en estado de madurez entre grado 2-3 de acuerdo a lo establecido por el INIAP (**Brito et al., 2012**). La fruta fue recolectada en El Chaco, Parroquia Santa Rosa de Quijos perteneciente a la Provincia de Napo, siempre un día antes del ensayo. La cosecha se llevó a cabo en horas de la mañana, con guantes como protección de las espinas y tijeras para cortar el pedúnculo. Se colocó en gavetas plásticas desinfectadas con alcohol e inmediatamente se trasladó al Laboratorio de Procesamiento-Proyecto Canje de Deuda de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Aplicación de atmósferas modificadas

Para la aplicación de cinco combinaciones gaseosas, se utilizó un mezclador de gases KM100-3 FLOW (Witt Gasetechnik; Alemania), usando bombonas de gas a presión de oxígeno (pureza 99,5 %), nitrógeno (pureza 99,5 %) y dióxido de carbono (pureza 99,9 %), adquiridos de dos proveedores (Linde Ecuador y OXICEN 3). El gas generado se acumuló en un tanque de 10 litros de almacenamiento de acero inoxidable fabricado por WITT Gasetechnik, Alemania y se distribuyó mediante un sistema completo de carrocería neumática formado por reguladores de presión de doble etapa (tipo Harris), válvulas de control del caudal, válvulas de corte, reducciones, conexiones rápidas y tubería de teflón, poliuretano y poliamida (**Angós, 2008**).

Cada combinación gaseosa se comparó frente a un control, el cual fue generado con la inyección de aire atmosférico con la ayuda de un compresor (Marathon Electric, modelo 5KH33GN293KX; México), con un caudal de $450 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$. El gas empleado en las mezclas gaseosas y control se hizo pasar a través de un borboteador, donde se le hizo burbujear a través de agua, que permitió

humidificar la mezcla entrante al sistema hasta alcanzar una humedad relativa del 90 % aproximadamente. La mezcla gaseosa frente a su control se muestra en la Figura 9 (Guevara-Correa, 2017).

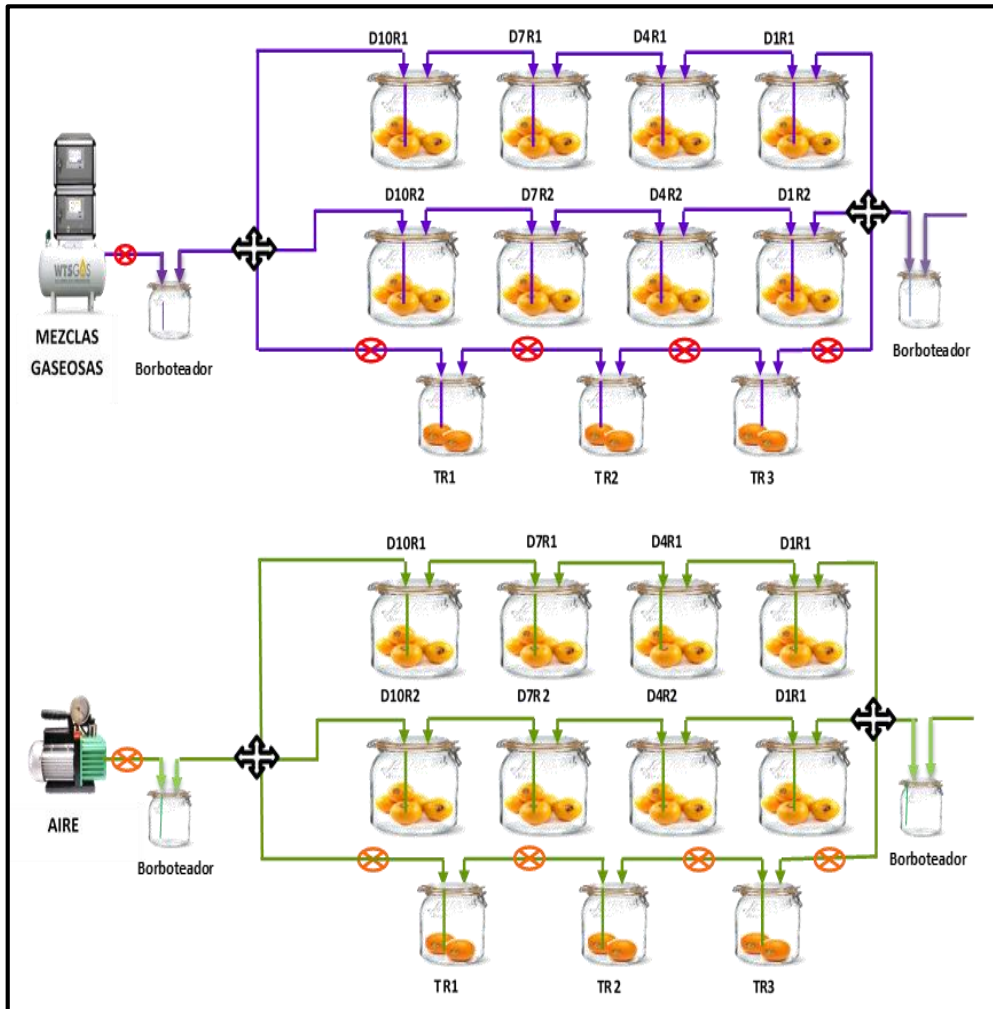


Figura 9. Esquema del sistema cerrado en el cual se aplicaron las cinco mezclas gaseosas. DR significa día que se retiraron los botes del sistema de mezcla gaseosa para ser analizados, con su réplica respectiva. **Fuente:** Guevara-Correa (2017).

3.2.2. Preparación de la muestra

En primera instancia, se desconectaron los botes de la línea según el día indicado. Se procedió a retirar la corteza y cortar a la fruta en trozos pequeños, ambos fueron colocados en fundas ziploc etiquetadas con su código respectivo. Las muestras se almacenaron en un ultracongelador (Binder, UFV 700; Tuttlingen, Alemania) a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ protegidas del oxígeno y la luz, como se muestra en la Figura 10.



Figura 10. Proceso de preparación de las muestras.

3.2.3. Determinación de los parámetros bioquímicos

Las muestras fueron trasladadas en una nevera portátil con hielo químico al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias – INIAP, Estación Experimental Santa Catalina ubicado en Quito, al Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos LSAIA en el Departamento de Nutrición y Calidad, donde fueron ingresadas para su respectivo análisis.

- **Liofilización**

La liofilización ayuda a reducir la pérdida de compuestos que son responsables del sabor y aroma en los alimentos por oxidación. Es un proceso de secado por sublimación que consta de dos partes; el primer paso consiste en congelar el producto a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que en el segundo reduce la presión hasta 1 Pa (Orrego, 2008). Para ello se utilizó un liofilizador LAB-KITS, FD 18-MR (Hong Kong, China). Finalmente, se guardaron las muestras en recipientes herméticos, debidamente rotuladas (Figura 11).

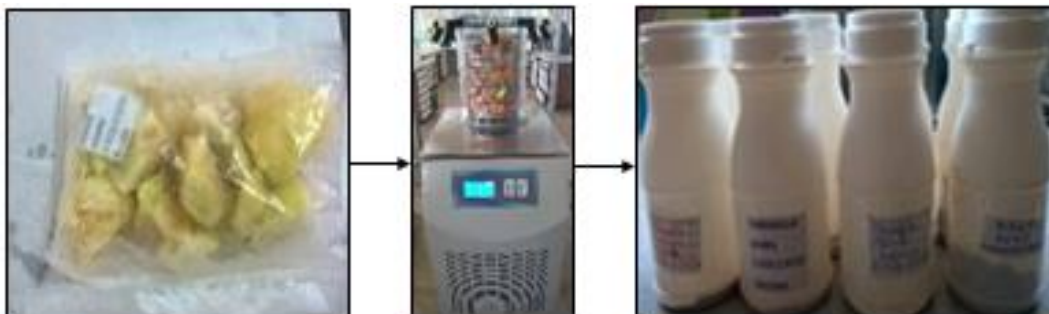


Figura 11. Proceso de liofilización de las muestras.

- **Polifenoles totales**

Para la determinación de polifenoles totales, se utilizó el método descrito por **Espín y Samaniego (2016)** (Figura 12). Se pesó la muestra liofilizada de naranjilla en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón) y se añadió una solución de metanol, agua, ácido fórmico 70/30/0,1 v/v/v. Para la extracción, se agitó la mezcla con un Vortex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos), se llevó a un baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH; Illinois, Estados Unidos) y se centrifugó en una centrífuga Damon (IEC, Serie 04938; Estados Unidos). Una alícuota de la solución extraída se hizo reaccionar con el reactivo Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio al 20 % y se llevó a un baño María (Memmert WNB7-45; Schwabach, Alemania). Por último, se pasó la solución a una celda de vidrio, para ser leída en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600 Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 760 nm.

Para la cuantificación del contenido de polifenoles totales se utilizó la Ecuación 8.

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

Donde: PT es el contenido de polifenoles totales en mg·ácido gálico·100 g⁻¹; A es la absorbancia; b y a son el punto de corte y la pendiente de la curva de calibración del ácido gálico, respectivamente; VT es el volumen total (L), PM es el peso de la muestra (g) y FD es el factor de dilución (adimensional).

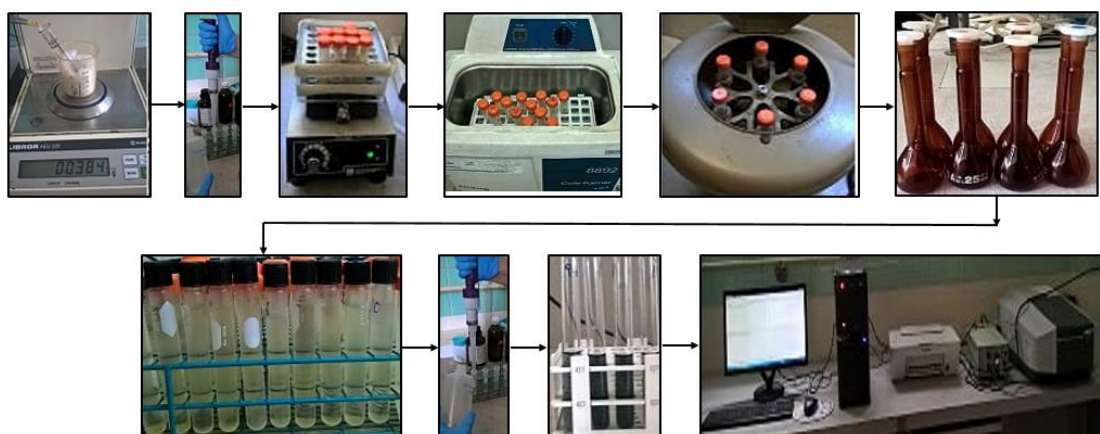


Figura 12. Método de determinación de polifenoles totales.

- **Flavonoides totales**

La determinación de flavonoides totales se realizó siguiendo el método descrito por **Zhishen, Mengcheng y Jianming (1999)** (Figura13). Inicialmente se pesó la muestra liofilizada de naranjilla en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón) y se añadió la solución de metanol, agua, ácido fórmico 70/30/0,1 v/v/v, para llevar a cabo la extracción. Se agitó la mezcla en un vórtex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos) se llevó a un baño de ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH; Illinois, Estados Unidos) y finalmente se centrifugó en un equipo Damon IEC Serie 04938 (Estados Unidos). Una alícuota del sobrenadante se hizo reaccionar con nitrato de sodio, cloruro de aluminio e hidróxido de sodio. Por último, se pasó la solución a una celda de vidrio, para leer la absorbancia a 490 nm (Espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS 2600 Kyoto, Japón).

Para la cuantificación del contenido de flavonoides totales se utilizó la Ecuación 7.

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

Donde: FT es el contenido de flavonoides totales en mg catequina·100 g⁻¹; A es la absorbancia; b y a son el punto de corte y la pendiente de la curva de calibración de la catequina, respectivamente; VT es el volumen total (L); PM es el peso de la muestra (g), FD es el factor de dilución (adimensional).

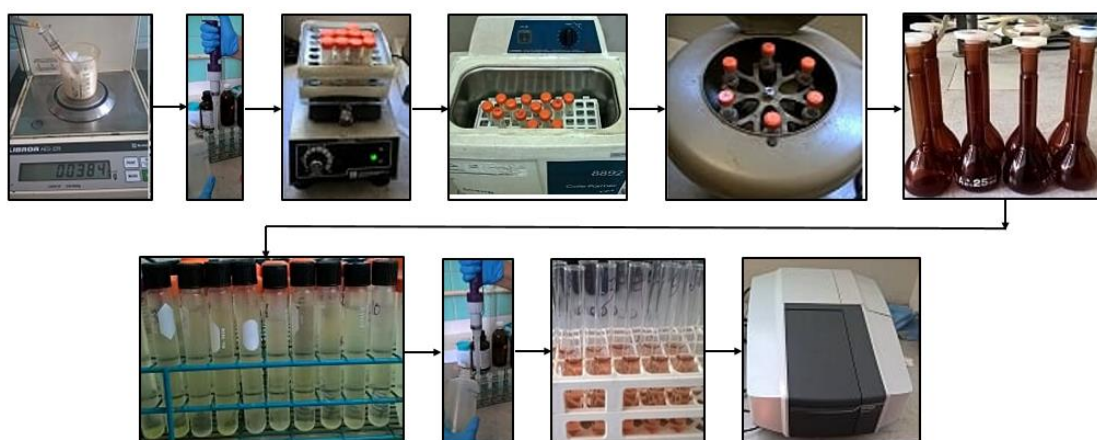


Figura 13. Método de determinación de flavonoides totales.

- **Carotenoides totales**

La determinación de carotenoides totales (Figura 14) se realizó siguiendo el método descrito por **Leong y Oey (2012)**. Se comenzó por pesar la muestra liofilizada de naranjilla en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón), seguido de 1.0 gr de cloruro de calcio y se añadió una solución de hexano, acetona, etanol y BHT 50/25/25/0,1 v/v/v/v, para llevar acabo la extracción. Se agitó la mezcla en un vórtex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos), y se centrifugó en un equipo Damon IEC, Serie 04938 (Estados Unidos). Por último, se pasó el extracto a una celda de vidrio, para leer la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS 2600 (Kioto, Japón).

Para la cuantificación de carotenoides totales se utilizó la Ecuación 3.

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

Donde: CT es el contenido de carotenoides totales en $\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; A es la absorbancia; ϵ es el coeficiente de extinción molar del β -caroteno en $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; b es el ancho de la celda en cm; VT es el volumen total en (L); PM es el peso de la muestra (g) y WM es la masa molecular del β -caroteno en $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$.



Figura 14. Método de determinación de carotenoides totales.

- **Clorofila total**

La determinación de clorofila a, clorofila b y clorofila total (Figura15) se realizó siguiendo el método descrito por **Arnon (1949)**. Se pesó la muestra liofilizada de naranjilla en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón), y se añadió una solución acuosa de acetona al 80%, para llevar a cabo la

extracción. Se agitó la mezcla en un vórtex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos) y se centrifugó en un equipo Damon IEC, Serie 04938 (Estados Unidos). Por último, se pasó el extracto a una celda de vidrio, para leer la absorbancia a 645 nm y 663 nm, respectivamente en un espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS 2600 (Kyoto, Japón).

Para la cuantificación se utilizaron las siguientes ecuaciones: clorofila a (Ecuación 4); clorofila b (Ecuación 5) y clorofila total (Ecuación 6).

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

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

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

Donde: C_a es la concentración de clorofila a; D_{645} es la absorbancia del extracto a 645 nm; C_b es la concentración de clorofila b; D_{663} es la absorbancia del extracto a 663 nm y C_{hT} es la concentración de clorofila total (mg/100 g).



Figura 15. Método de determinación de clorofila total.

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.3.1. Factores en estudio

Se consideraron como factores de estudio; la composición de la atmósfera modificada (mezcla de oxígeno, dióxido de carbono, nitrógeno) y el tiempo de almacenamiento (10 días), tal como se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1. Diseño experimental en el estudio de los factores que influyen en el contenido de compuestos bioquímicos de naranjilla almacenada bajo atmósfera modificada y refrigeración.

FACTOR	NIVEL	DESCRIPCIÓN DE NIVEL
Composición de la atmósfera Modificada	Ai	21% O ₂ - 79% N ₂
	G1	2,5% O ₂ - 2,5% CO ₂ - 95% N ₂
	G2	2,5% O ₂ - 5,0% CO ₂ - 92.5% N ₂
	G3	80,0% O ₂ - 10,0% CO ₂
	G4	80,0% O ₂ - 20,0% CO ₂
	G5	90,0% O ₂ - 10,0% CO ₂
Tiempo de almacenamiento	D1	Día 1
	D2	Día 4
	D3	Día 7
	D4	Día 10

3.3.2. Tratamientos

Los tratamientos constituyen la combinación de los factores en estudio: tipo de atmósfera modificada y el tiempo de almacenamiento (Tabla 2).

Tabla 2. Tratamientos obtenidos para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas y sus controles en la calidad bioquímica de naranjilla.

TRATAMIENTOS			
1. G1D1	11. G3D7	21. A1D1	31. A3D7
2. G1D4	12. G3D10	22. A1D4	32. A3D10
3. G1D7	13. G4D1	23. A1D7	33. A4D1
4. G1D10	14. G4D4	24. A1D10	34. A4D4
5. G2D1	15. G4D7	25. A2D1	35. A4D7
6. G2D4	16. G4D10	26. A2D4	36. A4D10
7. G2D7	17. G5D1	27. A2D7	37. A5D1
8. G2D10	18. G5D4	28. A2D10	38. A5D4
9. G3D1	19. G5D7	29. A3D1	39. A5D7
10. G3D4	20. G5D10	30. A3D4	40. A5D10

3.3.3. Diseño experimental

El conjunto de los tratamientos se organizó en un diseño experimental de 5 bloques (mezclas gaseosas) analizadas durante 4 momentos del almacenamiento (días de análisis), que se llevaron a cabo por duplicado.

Tabla 3. Análisis de fuentes de variación y grados de libertad del diseño experimental empleado para estudiar el efecto de las atmósferas modificadas en la calidad bioquímica de naranjilla.

FUENTE DE VARIACIÓN		GRADOS DE LIBERTAD
TOTAL	$F \times T \times R - 1$	39
Factor A	A - 1	4
Factor B	B - 1	3
Error experimental		$39 - 4 - 3 = 32$

3.3.4. 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. POLIFENOLES TOTALES

4.1.1. Validación del método

El análisis de polifenoles totales se llevó a cabo utilizando la metodología descrita en el Capítulo 3 para la naranjilla. La validación consistió en la obtención de la curva de regresión entre diversas soluciones estándar de ácido gálico y sus correspondientes absorbancias y el posterior cálculo de la bondad del ajuste lineal y la precisión y exactitud del método mediante técnicas estadísticas.

Linealidad

En la validación del método se realizó el estudio de linealidad, donde se utilizó un conjunto de estándares de ácido gálico con concentraciones 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 a partir de los nueve valores de absorbancia determinados para cada concentración de ácido gálico. En la Tabla 4 se presentan los resultados del análisis estadístico del ajuste lineal de la recta de regresión promedio entre la concentración de ácido gálico y la absorbancia de dichas soluciones estándar.

Tabla 4. Estudio de la linealidad de la curva patrón que relaciona la concentración de los estándares de ácido gálico y la absorbancia medida a 760 nm.

Parámetro	PROMEDIO
m (pendiente)	0,0117
Lo (ordenada al origen)	0,0789
R ²	0,9995
t _{r_obtenido}	82,6432
t _{r_tabla}	2,78

Observando los resultados de la Tabla 4 se estableció que la curva de ajuste lineal de calibración promedio presentó un coeficiente de determinación para la regresión lineal R² de 0,9995. De igual manera, mediante el análisis estadístico

con la prueba de t-Student se determinó la existencia de una correlación lineal significativa ($t_{\text{obtenido}} > t_{\text{tablas}}$) entre la variable X (concentración de ácido gálico ppm) e Y (absorbancia), lo que indica que existió una alta correlación lineal entre la absorbancia medida por el espectrofotómetro y la concentración de ácido gálico. En la Figura 16 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.

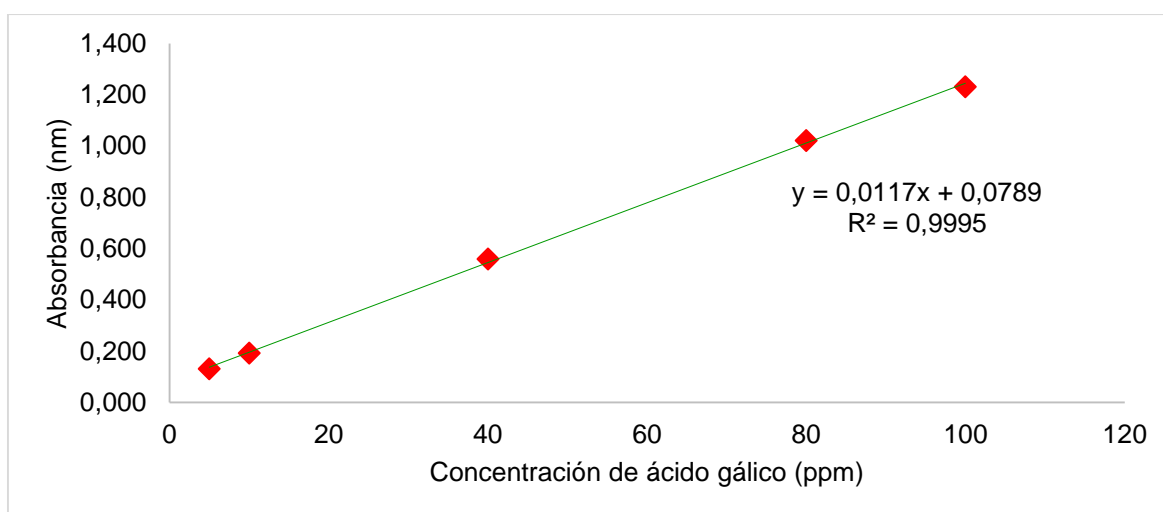


Figura 16. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles totales.

Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de polifenoles totales de una muestra liofilizada de pulpa de naranjilla con seis repeticiones, siguiendo el método descrito en el Capítulo 3, donde se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación del método (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.

MUESTRA	Polifenoles totales (mg ácido gálico/100 g ms)
1	597,5
2	543,2
3	567,6
4	555,6
5	560,6
6	570,1
Promedio	565,8
Des. Estándar	18,3
Coef. Variación (%)	3,2

ms: materia seca

En la Tabla 5, se observa que el coeficiente de variación en el ensayo de repetitividad fue de 3,2 %, el cual está dentro del límite permitido para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido por la ecuación de Horwitz (8 %), por lo cual se verificó que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

Exactitud

Para llevar a cabo el análisis de la exactitud método, se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de polifenoles totales de la muestra liofilizada de naranjilla, utilizando como solvente de extracción la solución de metanol/agua/acido fórmico 70/30/0,1 v/v/v (Figura 17). Este proceso se llevó a cabo por sextuplicado.

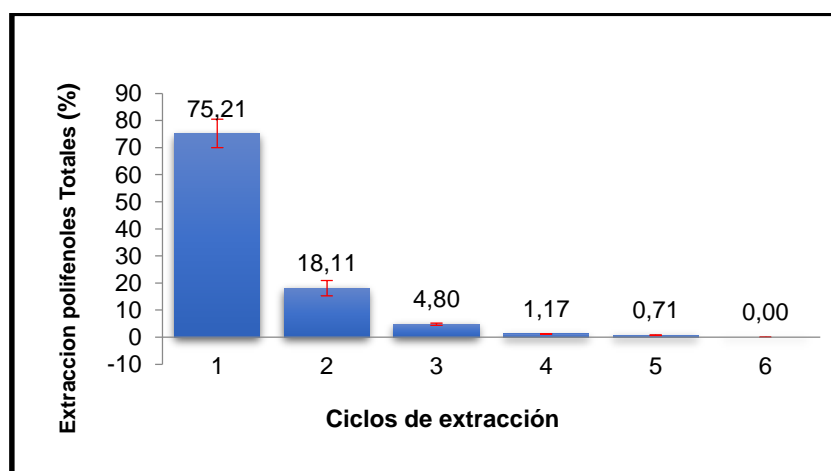


Figura 17. Resultados del ensayo de recuperación de los polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.

Observando los resultados de la Figura 17, se estableció que se requirieron cuatro ciclos de extracción para obtener el 99,29 % de recuperación de polifenoles totales.

Con estos resultados se determinó que el método es robusto, puesto que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se requiere determinar.

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

En la Tabla 6 se presentan los resultados promedio de los análisis de polifenoles totales en pulpa liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración por 10 días bajo diferentes atmósferas modificadas y sus controles (aire). Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 6. Contenido de polifenoles totales en pulpa de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C).

MEZCLA GASEOSA	Polifenoles totales (mg ac. gálico/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
G1	742,12	696,09	714,62	702,12
A1	760,27	842,25	802,26	747,14
G2	469,80	563,22	689,94	687,03
A2	467,16	674,11	827,05	723,79
G3	708,83	911,38	797,71	667,79
A3	798,93	752,20	697,62	670,06
G4	1053,72	1034,00	966,00	988,94
A4	1023,19	947,89	929,19	892,52
G5	785,62	842,53	720,11	655,54
A5	820,5	771,12	793,53	734,28

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂. ms: materia seca

En la Tabla 7 se muestra el análisis de varianza (ANOVA simple) con un nivel de confianza del 95 % del contenido de polifenoles totales promedio de la pulpa de naranjilla en las atmósferas modificadas y el aire control durante los 10 días de almacenamiento. El valor de diferencia absoluta se calculó restando al contenido de polifenoles totales de la naranjilla almacenada en aire del contenido de

polifenoles totales de la naranjilla almacenada en gas. La diferencia relativa indica la variación porcentual del contenido de polifenoles respecto al control. Cuando el porcentaje resultó con un signo positivo, el tratamiento experimental tuvo un efecto beneficioso respecto al control y cuando el porcentaje resultó con un signo negativo, el tratamiento experimental tuvo un efecto deletéreo con respecto al control.

Tabla 7. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales promedio de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: mg ac. gálico/100 g ms.

Tratamiento	AIRE	GAS	Diferencia absoluta	Diferencia relativa	Sig. 95 %
A1 vs G1	788,0	713,7	-74,2	-9%	***
A2 vs G2	673,0	602,5	-70,5	-10%	ns
A3 vs G3	729,7	771,4	41,7	6%	ns
A4 vs G4	948,2	1010,7	62,5	7%	***
A5 vs G5	779,9	751,0	-28,9	-4%	ns

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂ ns: no hay diferencias significativas entre tratamientos con un 95 de probabilidad (p>0,05, LSD) *** hay diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05; LSD).

Se observó que existió diferencias significativas en dos tratamientos respecto a sus controles, en relación al contenido de polifenoles en los diez días de almacenamiento. La cantidad de polifenoles totales respecto a su control fue menor en los tratamientos 2,5/2,5 de pulpa de naranjilla, pero existió mayor contenido de polifenoles totales respecto a su control en la pulpa de naranjilla almacenada en la combinación gaseosa 80/20. **Ospina Meneses y Cartagena Valenzuela (2008)**, mencionan que a bajo contenido de O₂, retarda la producción de metabolitos secundarios como los polifenoles prolongando la vida útil. **M. Hernández et al. (2010)**, en sus investigaciones indican que al momento de llegar la fruta al pico climatérico se desarrollan los polifenoles, ya que se consumen todos los azúcares y ácidos orgánicos de la fruta, pero llevándola a la senescencia.

Llerena Silva (2014), indica que el contenido de polifenoles totales en pulpa de naranjilla es de 897,58 ± 227,77 (mg ácido gálico/100 g muestra seca) esta fruta

proviene del Noroccidente de Pichincha, siendo de la variedad INIAP Quitoense 2009. Los valores obtenidos en el estudio varían ya que la temperatura, agua, radiación, altura sobre el mar, vientos y suelo influyen directamente en el contenido de nutrientes que ha adquirido la fruta en desarrollo, antes de ser cosechada (**Gómez Caicedo et al., 1999**).

4.2. FLAVONOIDES TOTALES

4.2.1. Validación del método

El análisis de flavonoides totales se llevó a cabo utilizando la metodología descrita en el Capítulo 3. La validación consistió en la obtención de la curva de regresión entre diversas soluciones estándar de catequina y sus correspondientes absorbancias y el posterior cálculo de la bondad del ajuste lineal y la precisión y exactitud del método mediante técnicas estadísticas.

Linealidad

En la validación del método se empezó por realizar el estudio de linealidad, donde se utilizó un conjunto de estándares de catequina con concentraciones 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 a partir de los nueve valores de absorbancia determinados para cada concentración de catequina. En la Tabla 8 se presentan los resultados del análisis estadístico del ajuste lineal de la recta de regresión promedio entre la concentración de catequina y la absorbancia de dichas soluciones estándar.

Tabla 8. Estudio de la linealidad de la curva patrón que relaciona la concentración de los estándares de catequina y la absorbancia medida a 490 nm.

Parámetro	Promedio
m (pendiente)	0,0032
Lo (ordenada al origen)	0,0685
R ²	0,9998
t _{r_obtenido}	47,0447
t _{r_tablas}	2,45

Observando los resultados de la tabla 8 se estableció que la curva de ajuste lineal de calibración promedio presentó un coeficiente de determinación para la regresión lineal R² de 0,9998. De igual manera, mediante el análisis estadístico con la prueba de t-Student se determinó la existencia de una correlación lineal significativa (t_{obtenido} > t_{tablas}) entre la variable X (concentración de catequina ppm) e Y (absorbancia), lo que indica que existió una alta correlación lineal entre la absorbancia medida por el espectrofotómetro y la concentración de catequina, como se puede ver en la Figura 18.

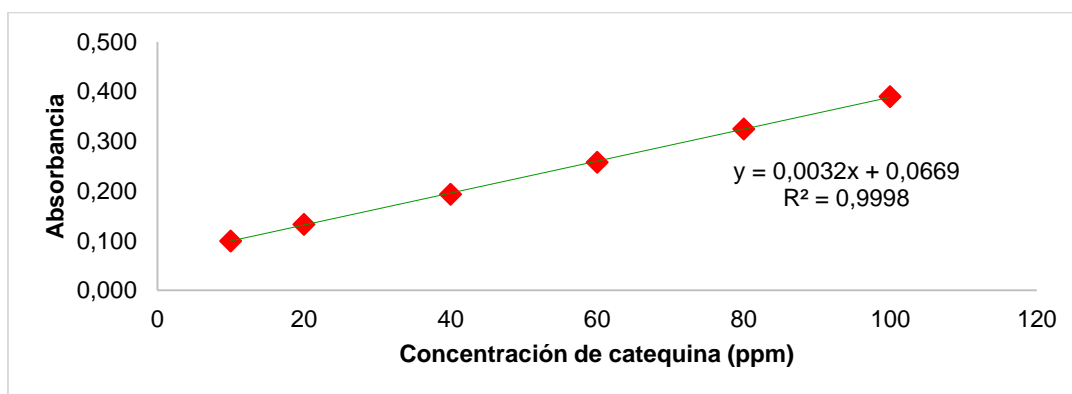


Figura 18. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales.

Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de flavonoides totales de una muestra liofilizada de pulpa de naranjilla con seis repeticiones, siguiendo el método descrito en el Capítulo 3, y se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación del conjunto de mediciones (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de flavonoides totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.

MUESTRA	Flavonoides totales mg catequina/100 g ms
1	987,1
2	943,0
3	953,6
4	954,1
5	1050,8
6	1060,8
Promedio	991,6
Des. Estándar	52,0
Coef. Variación (%)	5,3

ms: materia seca

En la Tabla 9 se observa que el coeficiente de variación en el ensayo de repetitividad fue de 5,3 %, el cual está dentro del límite permitido para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido por la ecuación de Horwitz (8 %), por lo cual se verificó que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

Exactitud

Para llevar a cabo el análisis de la exactitud método, se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de flavonoides totales de la muestra liofilizada de naranjilla, utilizando como solvente de extracción una solución de metanol/agua/ácido fórmico 70/30/0,1 v/v/v (Figura 19). Este proceso se llevó a cabo por quintuplicado.

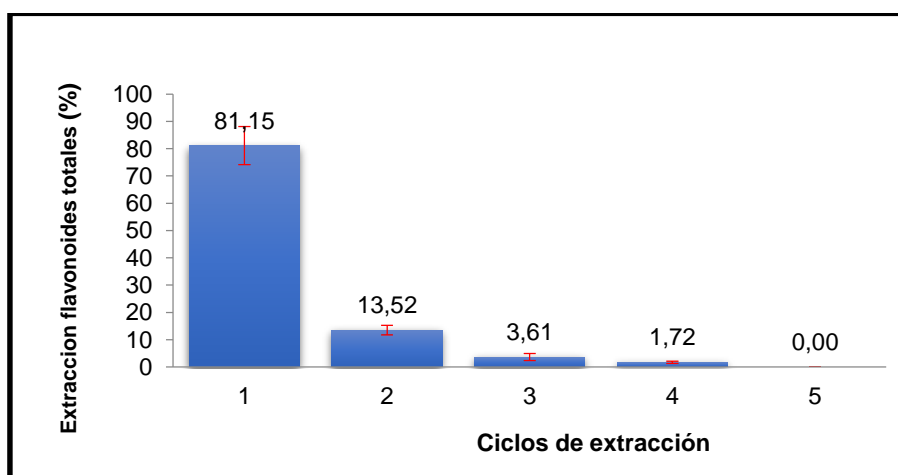


Figura 19. Resultados del ensayo de recuperación de los flavonoides totales.

Observando los resultados de la Figura 19, se estableció que se requirieron cuatro ciclos de extracción para obtener el 100 % de recuperación de flavonoides totales.

Con estos resultados se determinó que el método es robusto, puesto que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se necesitaba determinar.

4.2.2. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales.

En la Tabla 10 se presentan los resultados promedio del análisis de flavonoides totales en pulpa liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración por 10 días bajo diferentes atmósferas modificadas y sus controles (aire). Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 10. Contenido de flavonoides totales en pulpa de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C).

MEZCLA GASEOSA	Flavonoides totales (mg catequina/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
G1	385,96	319,94	376,42	388,10
A1	460,58	528,82	425,66	459,04
G2	242,39	218,86	283,80	262,88
A2	200,61	272,18	319,22	251,26
G3	502,01	537,01	612,25	413,78
A3	611,85	493,78	457,94	455,17
G4	467,99	360,79	342,10	322,33
A4	568,42	371,54	377,62	379,57
G5	271,57	268,06	320,87	234,27
A5	326,19	284,13	518,81	251,26

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂. ms: materia seca

En la Tabla 11 se muestra el análisis (ANOVA simple) con un nivel de confianza del 95 % del efecto de las atmósferas modificadas y el aire control sobre el contenido promedio de flavonoides en la pulpa de naranjilla, durante los 10 días de almacenamiento refrigerado.

Tabla 11. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales promedio de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: mg catequina/100 g materia seca

Tratamiento	AIRE	GAS	Diferencia absoluta	Diferencia relativa	Sig. 95 %
A1 vs G1	469,8	367,6	-102,2	-22%	***
A2 vs G2	260,8	252,0	-8,8	-3%	ns
A3 vs G3	504,7	516,3	11,6	2%	ns
A4 vs G4	424,3	373,3	-51,0	-12%	ns
A5 vs G5	345,1	273,7	-71,4	-21%	***

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂ ns: no hay diferencias significativas entre tratamientos con un 95 de probabilidad ($p>0,05$, LSD) *** hay diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$; LSD).

Se identificó la existencia de diferencias significativas en el contenido de flavonoides promedio de dos tratamientos respecto a sus controles. En el caso del tratamiento 2,5/2,5, existió menor cantidad de flavonoides totales en la pulpa de la naranjilla respecto a su control. Esto probablemente sucedió debido a que dicha atmósfera, al tener un bajo contenido de O₂, retardó el metabolismo primario respiratorio, que es el que genera, los precursores de la síntesis de flavonoides (**Martínez M., 2005**). En el caso del tratamiento 90/10, existió menor contenido de flavonoides totales respecto a su control. Debido a la gran cantidad de O₂ presente en dicho tratamiento, su actividad oxidante podría haber llegado a degradar los flavonoides, metabolitos secundarios generados en el proceso respiratorio, al haber acentuado la actividad de la enzima polifenoloxidasasa (**Barreiro y Sandoval, 2006**).

4.3. CAROTENOIDES TOTALES

4.3.1. Validación del método

El análisis de carotenoides totales se llevó a cabo utilizando la metodología descrita en el Capítulo 3. Para ello, se calculó la concentración de carotenoides del extracto utilizando el coeficiente de extinción molar del β -caroteno.

Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis carotenoides totales de una muestra liofilizada de pulpa y cáscara de naranjilla llevando a cabo seis repeticiones y se calculó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación del conjunto de mediciones (Tabla 12).

Tabla 12. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de carotenoides totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla.

MUESTRA	Carotenoides totales ($\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g ms}$)	
	Pulpa	Cáscara
1	31,0	74,6
2	30,8	78,4
3	31,2	71,4
4	31,0	77,6
5	30,8	68,1
6	31,2	74,0
Promedio	31,0	74,0
Des. Estándar	0,2	3,8
Coef. Variación (%)	0,6	5,2

ms: materia seca

Observando los resultados de la Tabla 12, se determinó que el coeficiente de variación en el ensayo de repetibilidad fue de 0,63 % en pulpa y 5,20 % en cáscara. Ambos valores estuvieron dentro del límite permitido para la concentración medida ($\mu\text{g/g}$) de acuerdo a lo establecido por la ecuación de Horwitz (12 %), por lo cual se verificó que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

Exactitud

Para el análisis de la exactitud, se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de carotenoides totales de la muestra liofilizada de naranjilla, utilizando como solvente de extracción una mezcla de hexano, acetona, etanol y BHT en proporción 50/25/25/0,1 (Figura 20). Este proceso se llevó a cabo por triplicado.

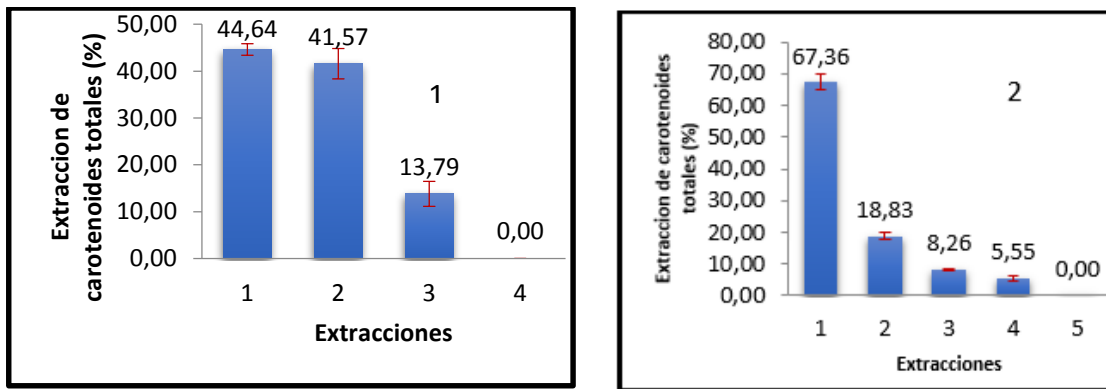


Figura 20. Resultados del ensayo de recuperación de carotenoides totales. 1: pulpa de naranjilla; 2: cáscara de naranjilla.

Observando los resultados de la Figura 20, se estableció que se requirieron tres ciclos de extracción para obtener el 100 % de recuperación de los carotenoides totales en pulpa de naranjilla y cuatro ciclos de extracción para obtener el 99,30 % de recuperación de carotenoides totales en cáscara de naranjilla. Con estos resultados se determinó que el método es robusto, puesto que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se necesitaba determinar.

4.3.2. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales.

En la Tabla 13 se presentan los resultados promedio del análisis de carotenoides totales en pulpa liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración por 10 días bajo diferentes atmósferas modificadas y sus controles (aire). Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 13. Contenido de carotenoides totales en pulpa de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C)

MEZCLA GASEOSA	Carotenoides totales (µg de β-caroteno /g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
G1	29,94	28,70	23,86	31,91
A1	24,61	29,10	28,59	31,31
G2	17,19	26,99	32,23	33,48
A2	17,23	28,80	28,94	34,83
G3	14,86	16,01	21,07	30,59
A3	13,91	11,94	16,86	32,65
G4	13,62	33,08	30,36	30,73
A4	25,40	32,52	35,05	37,68
G5	14,10	13,71	21,34	29,78
A5	14,03	14,37	30,53	32,09

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂. ms: materia seca

En la Tabla 14, se muestra el análisis de varianza (ANOVA simple) con un nivel de confianza del 95 % del efecto de las atmósferas modificadas y el aire control sobre el contenido promedio de carotenoides en la pulpa de naranjilla, durante los 10 días de almacenamiento refrigerado.

Tabla 14. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido promedio de carotenoides totales en pulpa de naranjilla, durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: µg β-caroteno /g ms

Tratamiento	AIRE	GAS	Diferencia absoluta	Diferencia relativa	Sig. 95 %
A1 vs G1	28,4	28,6	0,2	1%	ns
A2 vs G2	27,5	27,5	0,0	0%	ns
A3 vs G3	18,8	20,6	1,8	10%	ns
A4 vs G4	32,7	26,9	-5,7	-17%	***
A5 vs G5	22,8	19,7	-3,0	-13%	ns

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂ ns: no hay diferencias significativas entre tratamientos con un 95 de probabilidad (p>0,05, LSD) *** hay diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05; LSD).

Se observó que el tratamiento G4 (80% O₂ / 20 % CO₂) redujo significativamente la cantidad de carotenoides totales presentes en la pulpa de la naranjilla, respecto al tratamiento control durante el almacenamiento refrigerado. A este respecto, **Arnon (1949)** y **Meléndez Martínez, Vicario Romero y Heredia**

(2004) mencionan que una alta concentración de O₂ en la combinación gaseosa podría ser la causa de la oxidación de los carotenoides y, por tanto, de su menor presencia en la fruta almacenada bajo esta atmósfera.

Poveda-Núñez (2014), encontró que el contenido de carotenoides totales en pulpa de naranjilla fue de 47,27±1,19 y 25,75±3,57 (µg β caroteno /g ms), en frutas de la variedad INIAP Quitoense 2009 provenientes de Archidona y el Reventador, respectivamente. Los valores obtenidos en el estudio variaron probablemente debido al diferente estado de madurez.

En la tabla 15 se presentan los resultados promedio del análisis de carotenoides totales en cáscara liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración por 10 días en diferentes atmósferas modificadas y sus controles. Con estos resultados se realizó el análisis de varianza.

Tabla 15. Contenido de carotenoides totales en cáscara de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C)

MEZCLA GASEOSA	Carotenoides totales (µg de β-Caroteno/g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
G1	118,31	121,38	121,12	106,86
A1	90,69	97,44	109,37	107,15
G2	71,36	92,19	118,40	94,88
A2	62,87	64,07	102,17	91,35
G3	103,59	138,43	75,87	94,50
A3	82,08	106,76	113,88	146,22
G4	118,87	114,78	113,73	116,32
A4	120,65	107,84	107,00	94,75
G5	75,62	91,02	109,55	73,41
A5	94,09	86,57	105,62	89,90

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1**: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2**: 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3**: 80 % O₂-10 % CO₂; **G4**: 80 % O₂-20 % CO₂; **G5**: 90 % O₂- 10 % CO₂. ms: materia seca

En la Tabla 16 se muestra el análisis (ANOVA simple) con un nivel de confianza del 95 % del efecto de las atmósferas modificadas y el aire control sobre el contenido promedio de carotenoides en la cáscara de naranjilla, durante los 10 días de almacenamiento refrigerado.

Tabla 16. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido promedio de carotenoides totales en cáscara de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: µg β-caroteno/g materia seca

Tratamiento	AIRE	GAS	Diferencia absoluta	Diferencia relativa	Sig. 95 %
A1 vs G1	101,2	116,9	15,8	16 %	***
A2 vs G2	80,1	94,2	14,1	18 %	***
A3 vs G3	112,2	103,1	-9,1	-8 %	ns
A4 vs G4	107,6	115,9	8,3	8 %	***
A5 vs G5	94,0	87,4	-6,6	-7 %	ns

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂ ns: no hay diferencias significativas entre tratamientos con un 95 de probabilidad (p>0,05, LSD) *** hay diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05; LSD).

Gancel et al. (2008), encontraron que el contenido de carotenoides totales en la cáscara de frutos de la variedad híbrida Puyo proveniente de la provincia de Pichincha fue de 229,9±1,5 µg β-caroteno/g ms). Los valores obtenidos en el estudio varían respecto a los presentados en este trabajo, probablemente debido al diferente estado de madurez y variedad con la que se trabajó. Estos son superiores a los valores obtenidos en la pulpa, puesto que la cáscara tiene mayor cantidad de estos compuestos (**Badui Dergal, 2013**).

Se identificó que hubo diferencias significativas en relación al contenido de carotenoides en cáscara, existiendo un mayor contenido de carotenoides totales en la cáscara de la fruta sometida a los tratamientos 2,5/2,5, 2,5/5,0 y 80/20, respecto a su control en aire. De acuerdo a **Delgado Pelayo et al. (2014)** los carotenoides van apareciendo a medida que la fruta va madurando y tomando un color amarillo o anaranjado intenso. De esta forma, cabría pensar que la aplicación de estos gases podría acelerar la maduración de la naranjilla almacenada bajo dicha atmósfera pero, según lo reportado por **Guevara-Correa (2017)**, la piel de esta fruta sometida a dichos gases no presentó diferencias significativas en la luminosidad, tono o saturación del color, lo que no permitiría confirmar dicha hipótesis. Dicho con otras palabras, la fruta no maduró desde el punto de vista sensorial, pero sí que incrementó su contenido en carotenoides.

4.4. CLOROFILA TOTAL

4.4.1. Validación del método

El análisis de clorofila total se llevó a cabo utilizando la metodología descrita en el Capítulo 3.

Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de clorofila total de una muestra liofilizada de cáscara de naranjilla con seis repeticiones, siguiendo el método descrito en el Capítulo 3, y se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación del método (Tabla 17).

Tabla 17. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de clorofila total en muestra liofilizada de cáscara de naranjilla.

MUESTRA	Clorofila total (mg/100 g ms)
1	136,2
2	134,3
3	134,3
4	135,8
5	134,4
6	135,0
SUMATORIA	540,6
Promedio	135,0
Des. Estándar	1,0
C. variación (%)	0,7

ms: materia seca

Observando los resultados de la Tabla 17, se determinó que el coeficiente de variación en el ensayo de repetitividad fue de 0,7 %, el cual estuvo dentro del límite permitido para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido por la ecuación de Horwitz (12 %), por lo cual se verificó que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

Exactitud

Para el análisis de la exactitud, se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100 % de rendimiento de extracción de clorofila total de la muestra liofilizada de naranjilla, utilizando como solvente de extracción la solución acuosa de acetona al 80 % (Figura 21). Este proceso se llevó a cabo por triplicado.

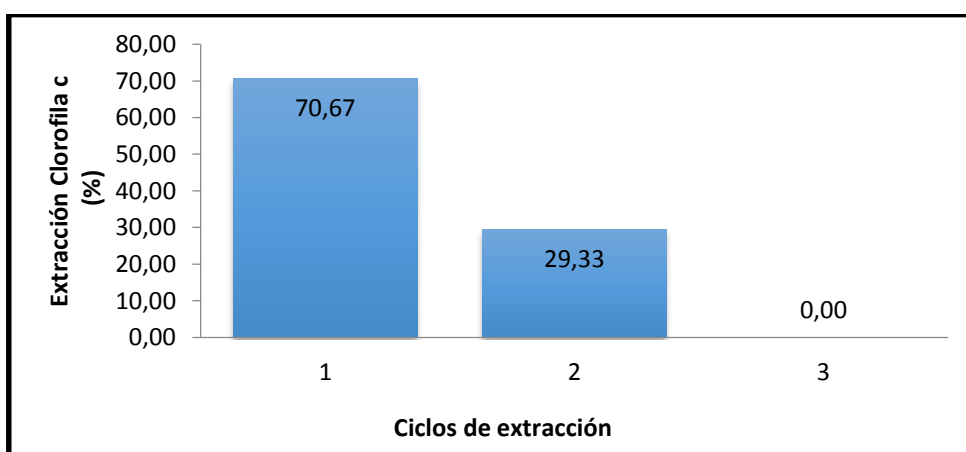


Figura 21. Resultados del ensayo de recuperación de clorofila total mediante solución acuosa de acetona al 80 %

Observando los resultados de la Figura 21, se estableció que se requirieron dos ciclos de extracción para obtener el 100 % de recuperación de clorofila total. Con estos resultados se determinó que el método es robusto, puesto que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se requiere determinar.

4.4.2. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila total.

En la Tabla 18 se presentan los resultados promedio del análisis de clorofila total en cáscara liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración por 10 días bajo diferentes atmósferas modificadas y sus controles (aire). Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 18. Contenido de clorofila total en cáscara de naranjilla almacenada bajo atmósferas modificadas y refrigeración (7 °C)

MEZCLA GASEOSA	Clorofila total (mg/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
G1	14.71	11.70	12.15	12.26
A1	14.02	12.34	10.54	11.22
G2	22.16	15.43	17.81	16.59
A2	23.36	15.41	25.22	20.15
G3	8.79	9.96	8.93	7.98
A3	11.90	8.76	8.26	26.54
G4	6.78	10.02	8.58	8.71
A4	9.67	8.55	7.10	6.89
G5	14.85	8.91	10.63	11.21
A5	17.12	11.89	11.97	12.31

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂. ms: materia seca

En la Tabla 19 se muestra el análisis (ANOVA simple) con un nivel de confianza del 95 % del efecto de las atmósferas modificadas y el aire control sobre el contenido promedio de clorofila en la cáscara de naranjilla, durante los 10 días de almacenamiento refrigerado.

Tabla 19. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila promedio en cáscara de naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C. Unidades: mg/100 g materia seca

Tratamiento	AIRE	GAS	Diferencia absoluta	Diferencia relativa	Sig. 95 %
A1 vs G1	12,0	12,7	0,7	6 %	ns
A2 vs G2	21,0	18,0	-3,0	-14 %	ns
A3 vs G3	13,9	8,9	-5,0	-36 %	ns
A4 vs G4	8,1	8,5	0,5	6 %	ns
A5 vs G5	13,3	11,4	-1,9	-14 %	ns

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. **G1:** 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; **G2:** 2,5 % O₂-5 % CO₂; **G3:** 80 % O₂-10 % CO₂; **G4:** 80 % O₂-20 % CO₂; **G5:** 90 % O₂- 10 % CO₂ ns: no hay diferencias significativas entre tratamientos con un 95 de probabilidad ($p > 0,05$, LSD) *** hay diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$; LSD).

Como resultado principal cabe señalar que no existieron diferencias significativas en ningún tratamiento respecto a su control, en relación al contenido de clorofila, en el conjunto del tiempo de almacenamiento. La clorofila se presenta cuando

los frutos son inmaduros generando así un color verde. Al empezar a desarrollarse la fruta, la clorofila forma compuestos incoloros y comienza a aparecer los pigmentos de los carotenoides que generan el color amarillo de la fruta (Astiasarán-Anchía y Martínez-Hernández, 2000; Badui Dergal, 2013; Barreiro y Sandoval, 2006).

4.5. DETERMINACIÓN DEL MEJOR TRATAMIENTO DE LAS DIFERENTES ATMÓSFERAS MODIFICADAS CON RESPECTO A SU CONTROL

En la Tabla 20, se realizó un análisis de las combinaciones gaseosas con respecto a su control, en función de los antioxidantes analizados en la pulpa y cáscara de naranjilla. Primero se identificó si existieron diferencias significativas en los tratamientos respecto a sus controles, en relación al contenido de antioxidantes en el conjunto del tiempo de almacenamiento. De esta forma, se asignó el valor +1 o -1 cuando existieron diferencias significativas positivas (a favor) o negativas (en contra) de la atmósfera experimental y cero si no hubo diferencias significativas en los tratamientos respecto a sus controles. Finalmente se realizó una sumatoria y se identificó que las mejores combinaciones gaseosas, en relación a su capacidad de retener mayor cantidad de antioxidantes, fueron: G2: 2,5 % O₂-5 % CO₂ y G4: 80 % O₂-20 % CO₂, ya que ambos obtuvieron el valor global más alto en la tabla (+1).

Tabla 20. Efecto global de las atmósferas modificadas con respecto a su control sobre el contenido de antioxidantes en naranjilla durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 7 °C.

Tratamientos	Polifenoles totales en pulpa	Flavonoides totales en pulpa	Carotenoides totales en pulpa	Clorofila total cáscara	Carotenoides totales en cáscara	Total global
A1 vs G1	-1	-1	0	0	+1	-1
A2 vs G2	0	0	0	0	+1	+1
A3 vs G3	0	0	0	0	0	0
A4 vs G4	+1	0	-1	0	+1	+1
A5 vs G5	0	-1	0	0	0	-1

Ai: atmósfera control (aire) de los diferentes bloques experimentales. G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; G2: 2,5 % O₂-5 % CO₂; G3: 80 % O₂-10 % CO₂; G4: 80 % O₂-20 % CO₂; G5: 90 % O₂- 10 % CO₂

4.6. MEJOR TRATAMIENTO G2: 2,5 % O₂-5,0 % CO₂

4.6.1. Contenido de carotenoides totales en muestra liofilizada de cáscara de naranjilla

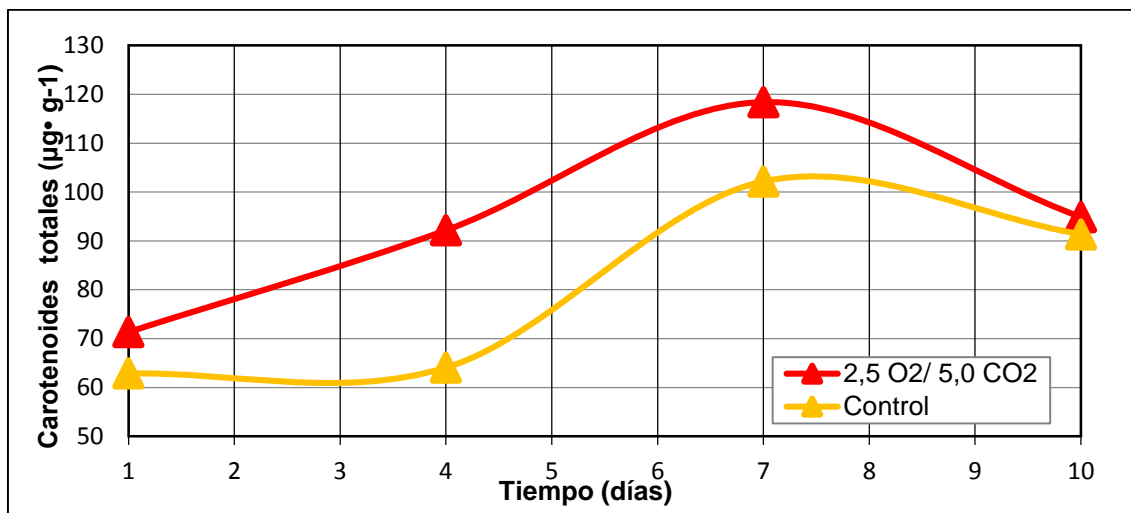


Figura 22. Evolución del contenido de carotenoides totales de muestras liofilizadas de cáscara naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días en el G2: 2,5 % O₂-5,0 % CO₂, con su aire control.

A partir de la Figura 22 se observó que el contenido de carotenoides totales en cáscara de naranjilla aumentó del día 1 al día 7 al almacenar la fruta bajo el gas 2,5 % O₂ – 5,0 % CO₂, lo que pudo deberse a la biosíntesis de carotenoides generados durante el proceso de maduración. Estos resultados confirman los estudios realizados por **Zheng et al. (2010)**. El día 10 existió una disminución de 0,80 veces del contenido de carotenoides en la cáscara, probablemente debida a procesos de oxidación (**Tabares Arboleda y Velásquez Riascos, 2003**). Por otro lado, en naranjilla almacenada bajo aire control, el contenido de carotenoides totales en cáscara tuvo un desarrollo paralelo al observado en el producto almacenado en gas, aunque significativamente menor durante los diez días del ensayo.

4.7. MEJOR TRATAMIENTO G4: 80 % O₂-20 % CO₂

4.7.1. Contenido de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla

Observando la Figura 23 se estableció que el contenido de polifenoles en fruta almacenada en el gas 80 % O₂ – 20 % CO₂ presentó una disminución de 0,94 veces su concentración desde el día 1 hasta el día 10, mientras que en el aire control el contenido de polifenoles de la naranjilla tuvo una disminución de 0,87 veces desde el día 1 hasta el día 10. Probablemente, el contenido de polifenoles disminuyó por efecto de oxidación, tal como lo reflejan los estudios realizados por Vallejo-Chuga y Velasco-Mena (2015) o Yúfera (1996).

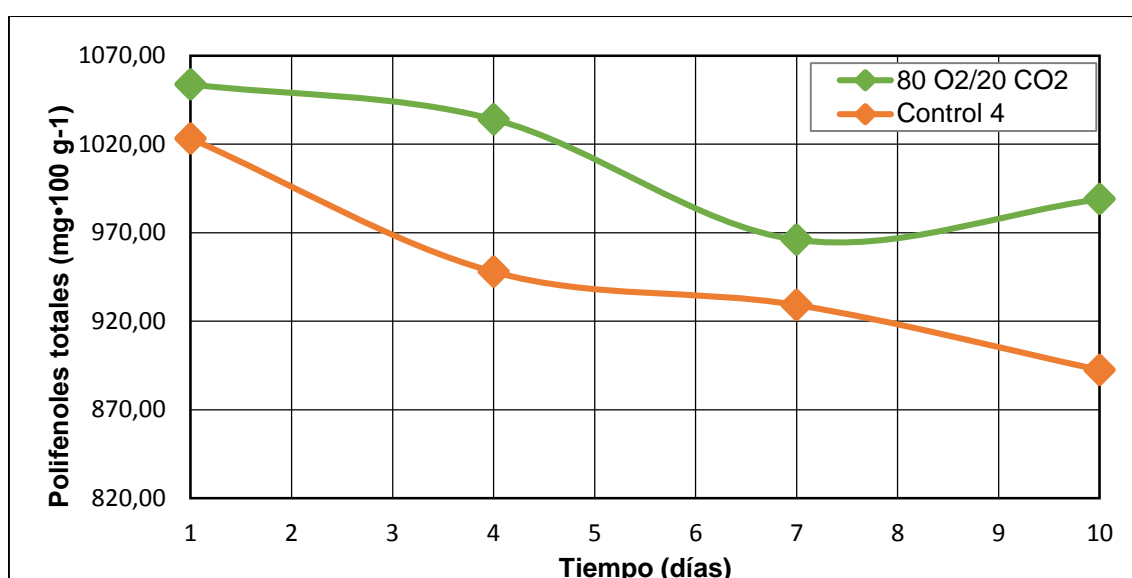


Figura 23. Evolución del contenido de polifenoles totales de muestras liofilizadas de pulpa de naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días en el G4: 80 % O₂-20 % CO₂, con su aire control.

4.7.2. Contenido de carotenoides totales en muestra liofilizada de pulpa de naranjilla

Observando la Figura 24 se estableció que el contenido de carotenoides totales en pulpa de naranjilla que estuvo en el gas 80 % O₂ – 20 % CO₂ tiene un aumento de 2,43 veces del día 1 al día 4, esto se debe a que a mayor contenido de oxígeno se produce biosíntesis de carotenoides en la pulpa, generando proceso

de maduración. Estos resultados confirman los estudios realizados por **Zheng et al. (2010)**.

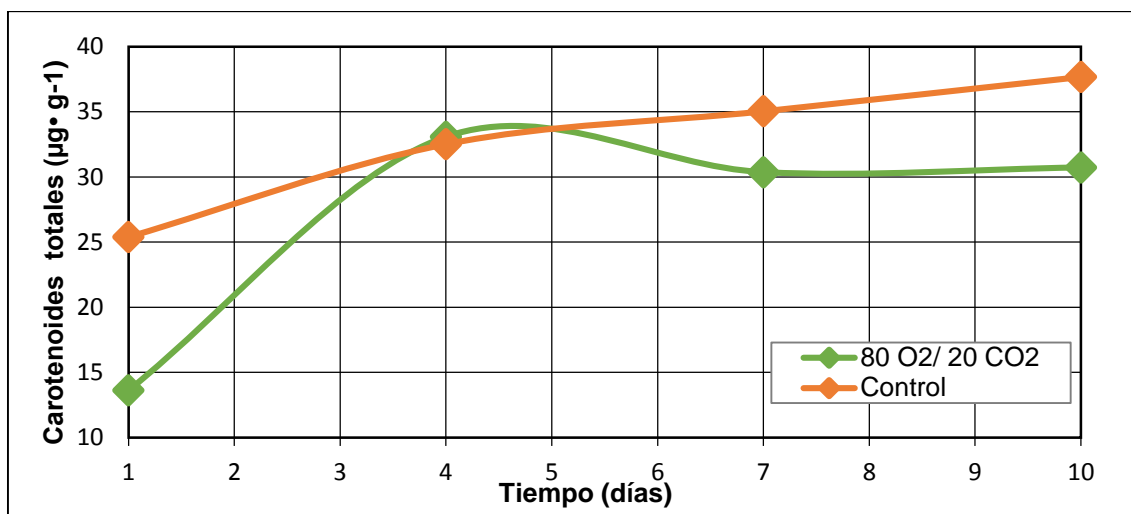


Figura 24. Evolución del contenido de carotenoides totales de muestras liofilizadas de pulpa de naranjilla almacenada en refrigeración (7°C) durante 10 días en el G4: 80 % O₂-20 % CO₂, con su aire control

Del día 4 al día 7 existió una disminución de 0,92 veces del contenido de carotenoides en pulpa debido a la procesos de oxidación (**Tabares Arboleda y Velásquez Riascos, 2003**). Mientras que en aire control, el contenido de carotenoides totales en pulpa incremento 1,48 veces su concentración desde el día 1 hasta el día 10, es decir se produjo biosíntesis de carotenoides (**Arango, Vélez y Vaillant, 1996; De la Vega, Cañarejo y Pinto, 2017**).

4.7.3. Contenido de carotenoides totales en muestra liofilizada de cáscara de naranjilla

Observando la Figura 25 se estableció que el contenido de carotenoides totales en cáscara de naranjilla que estuvo en el gas 80%O₂ – 20%CO₂, donde existió una disminución del día 1 al día 7 esto probablemente se debe a que a mayor contenido de oxígeno se produce oxidación de carotenoides, generando proceso de sobremaduración de la fruta, estos resultados confirman los estudios realizados por **Sepúlveda-Jiménez, Porta-Ducoing y Rocha-Sosa (2003) y Zheng et al. (2010)**.

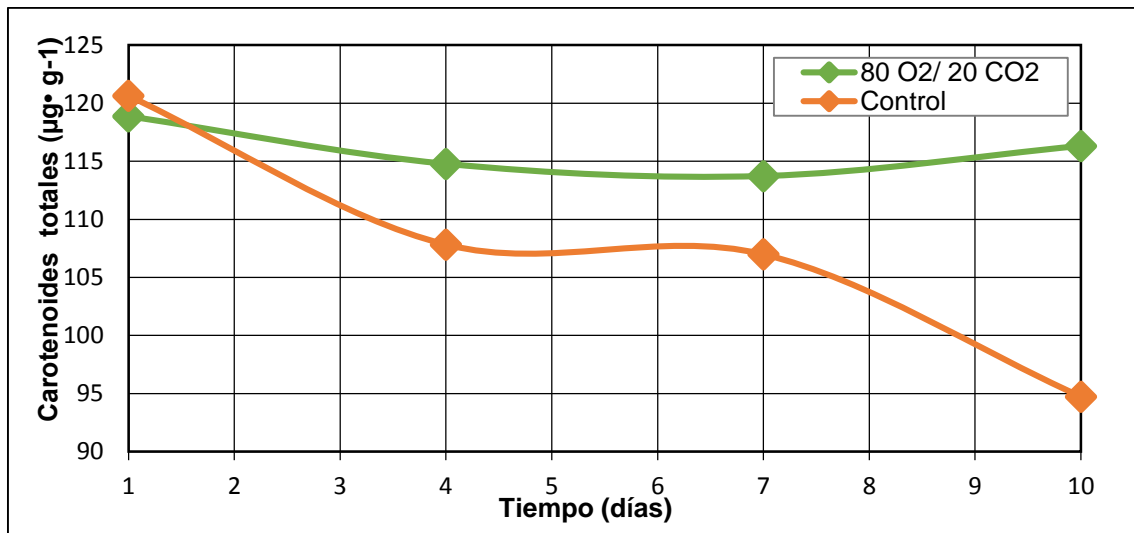


Figura 25. Evolución del contenido de carotenoides totales de muestras liofilizadas de cáscara de naranjilla almacenada en refrigeración (7°C) durante 10 días en el G4: 80 % O₂-20 % CO₂, con su aire control.

De igual manera el aire control, el contenido de carotenoides totales en cáscara tuvo una disminución durante los diez días de almacenamiento, esto pudo deberse a que los carotenoides son compuestos insaturados los cuales se van degradando (**Meléndez-Martínez, Vicario y Heredia, 2004**).

4.8. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

- Se observaron diferencias significativas en los tratamientos G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂ y G4: 80 % O₂-20 % CO₂ por el efecto de las mezclas gaseosas respecto a su control en el contenido de polifenoles totales de pulpa liofilizada de naranjilla almacenadas en refrigeración (7 °C) durante 10 días, aceptando la hipótesis alternativa. Existió excepción, en los tratamientos restantes, los cuales no presentaron diferencias significativas frente al control.
- La fruta sometida a las diferentes combinaciones gaseosas presentó diferencias significativas en los tratamientos G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂ y G5: 90 % O₂-10 % CO₂ respecto a su control en el contenido de flavonoides totales de pulpa liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días, aceptando la hipótesis alternativa. Existió excepción, en los tratamientos restantes, para los cuales no se observaron diferencias significativas frente al control.
- El contenido de carotenoides totales de pulpa liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días presentó diferencias significativas en el tratamiento G4: 80 % O₂-20 % CO₂ respecto a su control, aceptando la hipótesis alternativa. Existió excepción, en los tratamientos restantes, los cuales no presentaron diferencias significativas frente al control.
- El contenido de clorofila total de cáscara liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días no presentó diferencias significativas en ningún tratamiento por el efecto de las mezclas gaseosas respecto a su control.
- El contenido de carotenoides totales de cáscara liofilizada de naranjilla almacenada en refrigeración (7°C) durante 10 días presentó diferencias significativas en los tratamientos: G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; G2: 2,5 % O₂-5 % CO₂; G4: 80 % O₂-20 % CO₂; G5: 90 % O₂- 10 % CO₂ respecto a su control, aceptando la hipótesis alternativa. Existió excepción, en el tratamiento restante, que no presentó diferencias significativas frente al control.

CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las técnicas analíticas utilizadas para la determinación de carotenoides, clorofilas, flavonoides y polifenoles en cáscara y pulpa de naranjilla fueron validadas, obteniéndose valores confiables de los compuestos bioquímicos analizados.
- En la cáscara de la naranjilla almacenada en refrigeración (7 °C) durante 10 días las atmósferas: G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂; G2: 2,5 % O₂-5 % CO₂ y G4 80 % O₂-20 % CO₂, se obtuvo mayor contenido de carotenoides totales respecto a su control, mientras que para el contenido de clorofila total no tuvo diferencias significativas en ninguna de las mezclas gaseosas respecto a su control.
- En la pulpa de la naranjilla almacenada en refrigeración durante 10 días la atmósfera G4: 80 % O₂-20 % CO₂, provocó la retención de un menor contenido de carotenoides totales respecto a su control. Mientras que el contenido de flavonoides totales en las atmosferas G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂ y G5: 90 % O₂- 10 % CO₂ fue menor respecto a su control. El contenido de polifenoles totales de la naranjilla almacenada en la atmósfera G1: 2,5 % O₂-2,5 % CO₂ fue menor respecto a su control y en la atmósfera G4: 80 % O₂-20 % CO₂ fue mayor respecto a su control.
- Las combinaciones gaseosas estudiadas en este trabajo actuaron de diferente manera sobre los parámetros bioquímicos de la naranjilla, determinándose como tratamientos más beneficiosos el G2: 2,5 % O₂-5 % CO₂; y el G4: 80 % O₂-20 % CO₂.

5.2. RECOMENDACIONES

- La naranjilla seleccionada ha de provenir de un productor único, debe tener un estado de madurez adecuado y ser lo más homogéneo posible, para reducir la variabilidad de los parámetros fisicoquímicos que permitan poder realizar comparaciones entre tratamientos.
- Las muestras no deben romper la cadena de frío ni tampoco tener contacto con el oxígeno y la luz hasta ser liofilizadas, ya que esto afecta a la composición bioquímica de la naranjilla.
- Las muestras deben ser guardadas en envases herméticos para evitar que se hidraten ya que eso perjudicial para el análisis.

CAPITULO V.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, Ó., Pérez, A. M., y Vaillant, F. (2009). Chemical characterization, antioxidant properties, and volatile constituents of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) cultivated in Costa Rica. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 59(1), 88.
- ALADI (2016). Exportaciones de Ecuador por ítem arancelario hacia. *Lulo (naranjilla) (Solanum quitoense)*. Retrieved 21/02/2017, from http://consultawebv2.aladi.org/sicoexV2/jsf/comercio_exterior_item_arancelario_resultado.seam?retorno=comercioPorItem&anio=2016&tipoComercio=E&item=&paisInfCod=239&glosa=Lulo+%28naranjilla%29+%28Solanium+quitoense%29++++++%0A&cid=26512
- Andrade Cuvi, M., Moreno Guerrero, C., Bravo Vásquez, J., Guijarro Fuertes, M., Monar Bósquez, V., Cevallos Navarrete, C., y Concellón, A. (2016). EFECTO DEL ESTADO DE MADUREZ SOBRE LA CALIDAD DE TRES VARIETADES DE NARANJILLA (*Solanum quitoense* Lam). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 17, 217-230.
- Andrade, F., y Chong, L. (2001). *Exportación de Naranjilla en conserva hacia los Estados Unidos y su efecto en la economía ecuatoriana*. Facultad de Economía y Negocios. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.
- Angós, I. (2008). *Empleo de atmósferas ricas en CO₂ y altas concentraciones de O₂ en la mejora de las características de calidad de patata mínimamente procesada del cv. Monalisa almacenada en refrigeración*. (Tesis Doctoral), Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España.
- Angulo Carmona, R. I., Cooman, A., Gómez, D., Fuentes, L. S., Niño, N., Medina, A., y Escobar, H. (2006). *Lulo: el cultivo*. Bogotá-Colombia: Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología Francisco Jose de Caldas, Bogotá (Colombia).
- Arango, H., Vélez, C., y Vaillant, F. (1996). *Manejo Pre Y Post-Cosecha De Frutales Y Hortalizas Para Exportacion*. Quito-Ecuador: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1.
- Astiasarán-Anchía, I., y Martínez-Hernández, A. (2000). *Alimentos: composición y propiedades*. Madrid-España: McGraw-Hill.
- Badui Dergal, S. (2013). *Química de los alimentos*. Mexico: Pearson.
- Barreiro, J. A., y Sandoval, A. J. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Caracas- Venezuela: Equinoccio.

- Beaudry, R. M. (1999). Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3), 293-303. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00092-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00092-1)
- Biesalski, H. K., y Grimm, P. (2007). *Nutrición: texto y atlas*. Madrid-España: Médica Panamericana.
- Brito, B., Espín, S., Vásquez, W., Viteri, P., López, P., y Jara, J. (2012). Manejo poscosecha, características físicas y nutricionales de la naranjilla para el desarrollo de pulpas y deshidratados. In INIAP, FONTAGRO y SENESCYT (Eds.), *Plegable* (Vol. 386). Quito-Ecuador: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Santa Catalina.
- Brito Grandes, B., Espín, S., Vásquez, C., Viteri, D., López Jaramillo, A. P., y Jara Córdova, J. X. (2012). Manejo poscosecha, características físicas y nutricionales de la naranjilla para el desarrollo de pulpas y deshidratados (Vol. 386). Quito-Ecuador: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP.
- Day, B. (2001). Modified atmosphere packaging of fresh fruit and vegetables – an overview *Acta hortícola* (Vol. 1, pp. 585-590). Jerusalem-Israel: Acta Hort 553, ISHS 2001.
- De la Vega, J. C., Cañarejo, M. A., y Pinto, N. S. (2017). Avances en Tecnología de Atmósferas Controladas y sus Aplicaciones en la Industria. Una Revisión. *Información tecnológica*, 28(3), 75-86.
- Delgado Pelayo, R., Gallardo Guerrero, L., y Hornero Méndez, D. (2014). Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of commercial apple fruit varieties. *Food Research International*, 65(Part B), 272-281. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.025>
- Díaz, I. P. (1986). *Mercadeo de Productos Agropecuarios* (Vol. 311). Colombia: IICA.
- Dixon, G. R., y Aldous, D. E. (2014). *Horticulture: Plants for People and Places, Volume 3: Social Horticulture* (Volume 3 ed.). Queensland-Australia: Springer Netherlands.
- Espín, S., y Samaniego, I. (2016). Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao. Quito-Ecuador: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias - INIAP.
- FAO. (1987). Manual para el mejoramiento del manejo poscosecha de frutas y hortalizas. from <http://www.fao.org/docrep/x5055s/x5055s02.htm>
- 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)

- Forero, D. P., Masatani, C., Fujimoto, Y., Coy-Barrera, E., Peterson, D. G., y Osorio, C. (2016). Spermidine Derivatives in Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) Fruit: Sensory (Taste) versus Biofunctional (ACE-Inhibition) Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(26), 5375-5383. doi: 10.1021/acs.jafc.6b01631
- Gallozzi Cáliz, R., y Duarte, O. (2007). Cultivos de diversificación para pequeños productores de frijol y maíz en América Central Managua-Nicaragua: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Gancel, A. L., Alter, P., Dhuique Mayer, C., Ruales, J., y Vaillant, F. (2008). Identifying carotenoids and phenolic compounds in naranjilla (*Solanum quitoense* Lam. var. Puyo hybrid), an Andean fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), 11890-11899.
- García, M. C., y García, H. R. (2001). Manejo Cosecha y Postcosecha de mora, lulo y tomate de árbol (pp. 107). Bogotá-Colombia: Cooperación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA).
- Gliessman, S. R. (2002). *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Costa Rica: CATIE.
- Gómez Caicedo, L. E., Barragán Quijano, E., Rivera Varón, J. J., Prada Peña, R., Sánchez, M. Y., Miranda Lasprilla, D., . . . Mendoza, L. Á. (1999). Manejo integrado del cultivo del lulo. Colombia: Centro de investigación "Nataima".
- Gómez, M. S. H., García, J. A. B., Melgarejo, L. M., Bardales, X., y Ltda, G. D. (2004). *Caracterización y usos potenciales del banco de germoplasma de ají amazónico*: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas-SINCHI.
- Gorny, J. R. (1997). Modified atmosphere packaging in fresh-cut revolution. *Perishables Handling Newsletter*, 90, 4-5.
- Guevara-Correa, J. F. (2017). *Mejora de la conservación postcosecha de la naranjilla (Solanum quitoense Lam) mediante atmósferas modificadas*. (Ingeniero en Alimentos), Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/26604/1/AL%20648.pdf>
- Hernández, A. G., y López, M. D. R. (2010). *Tratado de nutrición Composición Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos* (Vol. 2). Madrid-España: Editorial Médica Panamericana.
- Hernández, M., Barrera, J., y Melgarejo, L. (2010). Fisiología poscosecha. *Experimentos en Fisiología Vegetal. Bogotá (Colombia): Laboratorio de Fisiología y bioquímica vegetal, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia*, 167-186.

- Iglesias Neira, J. (2009). *Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca*. (Doctor), Univ Santiago de Compostela. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=ydkQjZWnSRUC>
- INEC. (2016). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2016. from http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2016/Informe%20ejecutivo%20ESPAC_2016.pdf
- Jara-Córdova, J. X. (2012). *Obtención de Productos Deshidratados de Naranja (Solanum quitoense Lam) Utilizando Procesos Térmicos de Secado con Aire Forzado*. (Bioquímica Farmacéutica), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Riobamba - Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/1367/1/iniapsctJ37ob.pdf>
- Jarrín Pereira, J. G. (2009). *Síntomas y Control Químico de Antracnosis en Naranja*. Escuela politécnica del Ejército, Sangolquí-Ecuador. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=r5QzAQAAMAAJ>
- Kader, A. A., Zagory, D., Kerbel, E. L., y Wang, C. Y. (1989). Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28(1), 1-30. doi: 10.1080/10408398909527490
- Koolman, J., y Röhm, K.-H. (2005). *Bioquímica: texto y atlas*. Madrid-España: Ed. Médica Panamericana.
- 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.
- Loaiza Gonzalez, D. I., Santos Ordoñez, L. E., Mahecha Vanegas, P., y Amariles Vasquez, H. D. (2014). Cambios en las propiedades fisicoquímicas de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) cosechados en tres grados de madurez. *Acta Agronómica*, 63(1), 11-17.
- Lozano, J. E. (2006). *Fruit manufacturing*. Bahia Blanca-Argentina: Springer.
- Llerena Silva, W. M. (2014). *Estudio de la relación entre el color y el contenido de antioxidantes de seis frutas tropicales y andinas: Arazá (Eugenia stipitata), Mora (Rubus glaucus) variedad Iniap Andimora 2013, Mortiño (Vaccinium floribundum Kunth), Naranja (Solanum quitoense) variedad Iniap Quitoense 2009, Tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) variedad Anaranjado Gigante y Uvilla (Physalis peruviana L.) variedad Golden Keniana*. (Ingeniero en Alimentos), Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador.
- MAGAP (2016). Boletín de Precios al Productor - Nacional. *Análisis de variaciones*. Retrieved 21/02, 2017, from <http://www.agricultura.gob.ec/>
- Martínez Álvarez, R., y Rodríguez Yunta, M. J. (2007). *Química: un proyecto de la American Chemical Society*. Barcelona-España: Reverté.

- 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.
- Martínez M., A. (2005). Flavonoides. Medellín-Colombia: Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia.
- Medina, C., Sánchez, D., Camayo, G., Lobo, M., y Martínez, E. (2008). Anatomía foliar comparativa de materiales de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) con y sin espinas. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 9, 5-13.
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., y Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(2), 209-215.
- Meléndez Martínez, A. J., Vicario Romero, I., y Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(2), 208-215.
- Montenegro Rivera, L. G. (2015). *Estudio de la inhibición del pardeamiento enzimático por irradiación y de la calidad poscosecha durante el almacenamiento refrigerado de la naranjilla (Solanum quitoense Lam.) irradiada*. (Ingeniero Químico), Escuela Politécnica Nacional, Quito. Retrieved from <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/12035/1/CD-6621.pdf>
- Moreno Guerrero, C., Andrade Cuví, M. J., Concellón, A., y Díaz Navarrete, G. (2013). Estudio de la Capacidad Antioxidante Durante el Almacenamiento Refrigerado de Naranjilla (*Solanum quitoense*) Tratada con Radiación UV-C. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(2).
- Moreno, I., Játiva, M., Vera, A., Faillos, J., Baquero, J., Portilla, A., y René, A. (2001). *Cultivos De La Amazonia Ecuatoriana*. Quito-Ecuador.
- Ochoa L., J. B., y Jeffrey Alwang, M. A. E. (2009). *El Manejo de la Fusariosis como base para un cultivo ecológico de la naranjilla en el Ecuador*. Quito-Ecuador.
- Orrego, C. E. (2008). *Congelación y Liofilización de Alimentos*. Manizales-Colombia.
- Ospina Meneses, S. M., y Cartagena Valenzuela, J. R. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de investigación*, 5(2).
- Padilla, F. C., Rincón, A. M., y Bou-Rached, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 58(3), 303-308.
- Pinto Bocancho, P. S. (2015). *Estudio de factibilidad para la instalación de una planta artesanal procesadora de la naranjilla (Solanum quitoense lam. Producida por agricultores de la Parroquia Río Cerde, Provincia*

- Tungurahua*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/9354/1/AL%20553.pdf>
- Poveda-Núñez, M. C. (2014). *Determinación de la influencia de las zonas de producción sobre el contenido de componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de cinco frutas andinas*. (Ingeniería bioquímica), Universidad Técnica de Ambato Amabato-Ecuador.
- PROECUADOR. (2014). Análisis Sectorial Frutas Exóticas. from file:///C:/Users/Pc/Downloads/PROEC_AS2016_FRUTASEXOTICAS.pdf
- Quinchia C., F., y Cabrera C., A. (2006). Manual técnico del cultivo del Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) en el departamento de Huila. *Gobernación del Huila. Neiva, Huila. Colombia*.
- Revelo, J., Viteri, P., Vásquez, W., León, J., y Gallegos, P. (2010). Manual del cultivo ecológico de la naranjilla. Quito-Ecuador: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias - INIAP.
- Sandhya. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT-Food Science and Technology*, 43(3), 381-392.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Porta-Ducoing, H., y Rocha-Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3).
- SINAGAP. (2016). Boletín situacional tomate de árbol y maracuyá. from http://sinagap.agricultura.gob.ec/phocadownloadpap/cultivo/2016/boletin_situacional_tomate_arbol_maracuya_2015.pdf
- Tabares Arboleda, C., y Velásquez Riascos, J. (2003). *Estudio de la vida de anaquel del tomate de árbol (Cyphomandra Betacea)-osmodeshidratado empacado en atmósferas modificadas*. (Ingeniero Químico), Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.
- Vallejo-Chuga, J. D., y Velasco-Mena, Á. A. (2015). *Aplicación de la tecnología de empaque bajo atmosferas modificadas (MAP) en la conservación y vida útil de arveja (Pisum sativum L.) variedad obonuco andina*. (Ingeniero Agroindustrial), Universidad de Nariño, San Juan de Pasto- Colombia. Retrieved from <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/91363.pdf>
- Viteri D., P., Vásquez C., W., León F., J., Viera, W., Posso M., M., Hinojosa A., M., y Ochoa L., J. (2009). Naranjilla de jugo (*Solanum quitoense* Lam.) injerta en patrones de solanaceas silvestres a *Fusarium oxysporum* ya *Meloidogyne incognita* (Vol. 354). Quito-Ecuador: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa Nacional de Fruticultura.
- Yúfera, E. P. (1996). *Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria* (Vol. 1). Barcelona-España: Universidad Politécnica de Valencia.

- Zapata, S., Piedrahita, A. M., y Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *2014*, 16(1), 12.
- Zheng, Y., Wang, C., Wang, S., y Zheng, W. (2010). *Effect of superatmospheric oxygen on anthocyanins, phenolics and antioxidant activity of blueberries and strawberries*. Paper presented at the IX International Controlled Atmosphere Research Conference 857.
- 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.