



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 arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh).

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.

Proyecto de trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previa a la obtención de título de Ingeniero 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 Honorable Consejo Universitario y financiado por el Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Técnica de Ambato. Resolución 1373-CU-P-2014.

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

Autor: David Andrés Cando Collaguazo

Tutor: Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz

Ambato – Ecuador

Marzo - 2018

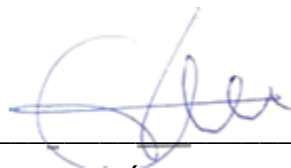
APROBACIÓN DEL TUTOR

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 de 2018



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

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, David Andrés Cando Collaguazo, 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.



David Andrés Cando Collaguazo
C.I. 172204791-5
AUTOR

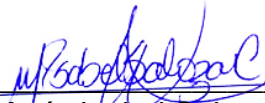
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

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. María 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.



David Andrés Cando Collaguazo
C.I. 172204791-5
AUTOR

DEDICATORIA

La única lucha que se pierde es la que se abandona (Che Guevara)

Este trabajo va dedicado a mis amados padres José Luis y Amparo que gracias al apoyo incondicional y su esfuerzo, logré este objetivo, son mi mayor ejemplo a seguir.

A mi hermana Dayana que con sus palabras de aliento ayudaron a nunca rendirme en el transcurso de la etapa universitaria. A mi primo querido Alex que desde el cielo siempre me cuidó durante toda la estancia en Ambato.

David

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarme por el camino del bien para poder culminar la etapa universitaria.

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos por haberme impartido los conocimientos necesarios a lo largo de la carrera

A mi tutor PhD. Ignacio Angós y A la Ing. Wilma que impartieron sus conocimientos para la culminación de la tesis. Al departamento de nutrición y calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuaria (INIAP) en especial al Doctor Iván, a los analistas Bladimir, Carmita, Roció, Verito que con su ayuda y consejos contribuyeron en la culminación del proyecto de graduación.

A Jeka que fue un pilar muy importante en mi carrera Universitaria y en mi vida desde que la conocí nunca me dejo caer con sus palabras de aliento y ánimos para seguir y culminar.

A mis compañeros Melissa, Pedro, Diana, que nos ayudamos mutuamente para conseguir el mismo objetivo.

A mis amigas Vane, Tefa, Jessica y mi pana Jorge alias el chino que desde el día que los conocí y formé parte del mismo curso supe que contaría siempre con su amistad en las buenas y malas.

A mis tíos Víctor Collaguazo y flia, Martha Collaguazo y flia., que siempre estuvieron pendientes de mi bienestar cuando estaba lejos de mi hogar.

ÍNDICE GENERAL

PORTADA.....	i
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	5
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
CAPÍTULO I.- EL PROBLEMA.....	10
1.1. TEMA.....	10
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ATMÓSFERAS MODIFICADAS EN LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DEL ARAZÁ (<i>Eugenia stipitata</i> McVaugh).....	10
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	10
1.3. OBJETIVOS.....	11
1.3.1. Objetivo general	11
1.3.2. Objetivos específicos	11
CAPÍTULO II.- MARCO TEÓRICO	13
2.1. ARAZÁ.....	13
2.1.1. Botánica	13
2.1.2. Cosecha	13
2.1.3. Postcosecha.....	15
2.1.4. Respiración	16
2.1.5. Tasa Respiratoria (TR).....	17

2.1.6.	Atmósfera Modificada (AM).....	18
2.1.7.	Antioxidantes.....	18
2.2.	ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	19
2.3.	HIPÓTESIS.....	20
2.3.1.	Señalamiento de variables de la hipótesis	21
CAPÍTULO III.- MATERIALES Y MÉTODOS.....		22
3.1.	Materiales	22
3.1.1.	Materia orgánica.....	22
3.2.	Métodos.....	22
3.2.1.	Aplicación de atmósferas modificadas	22
3.2.2.	Preparación de la muestra	23
3.2.3.	Polifenoles totales	24
3.2.4.	Flavonoides totales	25
3.2.5.	Carotenoides totales en pulpa y cáscara	25
3.2.6.	Clorofila	26
3.3.1.	Factores en estudio.....	27
3.3.2.	Tratamientos	28
3.3.3.	Diseño experimental.....	28
3.3.4.	Análisis estadístico.....	29
CAPÍTULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		30
4.1.	Polifenoles totales.....	30
4.1.1.	Adaptación del método para análisis de polifenoles totales	30
4.1.2.	Linealidad.....	30
4.1.3.	Precisión	31
4.1.4.	Exactitud	32
4.1.5.	Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales durante el almacenamiento refrigerado	33
4.2.	Flavonoides	35
4.2.1.	Adaptación del método para análisis de flavonoides totales	35
4.2.2.	Linealidad.....	35
4.2.3.	Precisión	36
4.2.4.	Exactitud	37

4.2.5. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales en arazá.....	38
4.3. Carotenoides en pulpa y cáscara.	40
4.3.1. Adaptación del método para análisis de carotenoides totales..	40
4.3.2. Precisión	40
4.3.3. Exactitud	41
4.3.4. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales en pulpa de arazá.....	42
4.3.5. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales en cáscara de arazá.....	44
4.4. Clorofila total.....	46
4.4.1. Adaptación del método de análisis de clorofila total.....	46
4.4.2. Precisión	46
4.4.3. Exactitud	46
4.4.4. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila total en cáscara de arazá.....	47
4.5. Selección de la mejor atmósfera modificada para la conservación de compuestos bioactivos del arazá.....	49
4.5.1. Análisis de polifenoles totales en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O ₂ / 5 % CO ₂	50
4.5.2. Análisis de flavonoides totales en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O ₂ / 5 % CO ₂	51
4.5.3. Análisis de carotenoides totales en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O ₂ / 5 % CO ₂	52
4.5.4. Análisis de clorofila total en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O ₂ / 5 % CO ₂	53
4.6. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	54
CAPÍTULO V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
5.1. Conclusiones	56
5.2. Recomendaciones	57
CAPITULO VI.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXOS.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Desarrollo de frutas climatéricas y no climatéricas. Fuente: Montalvo (2011).....	17
Figura 2. Esquema del sistema cerrado para la determinación de tasas de respiración y generación de las mezclas gaseosas. TR: cámaras para determinación de la tasa de respiración con tres réplicas (botes para respiración); DR: cámaras para determinación de ensayos destructivos. Fuente: (Guevara, 2017).	23
Figura 3. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles.	31
Figura 4. Recuperación de los polifenoles totales en muestra liofilizada de arazá en función de los ciclos de extracción.	32
Figura 5. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales en arazá.....	36
Figura 6. Recuperación de flavonoides totales en muestra liofilizada de arazá en función de los ciclos de extracción	38
Figura 7. Recuperación de los carotenoides totales en muestra de pulpa liofilizada de arazá en función de los ciclos de extracción	41
Figura 8. Recuperación de los carotenoides totales en muestra liofilizada de cascara de arazá en función de los ciclos de extracción.....	42
Figura 9. Resultados del ensayo de recuperación de clorofila total.....	47
Figura 10. Evolución del contenido de polifenoles totales de pulpa de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O ₂ /5 % CO ₂	50
Figura 11. Evolución del contenido de flavonoides totales de pulpa de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O ₂ /5 % CO ₂	51
Figura 12. Evolución del contenido de carotenoides totales de pulpa de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O ₂ /5 % CO ₂	52
Figura 13. Evolución de clorofila total de cascara de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O ₂ /5 % CO ₂	53
Figura 14. Pesaje de muestra liofilizada para su posterior análisis.....	63
Figura15. Pipeteado de solución extractora.....	63
Figura 16. Agitación y homogenización de la muestra.....	63
Figura 17. Muestra en baño ultrasónico.....	63
Figura 18. Centrifugado de muestra para análisis.	63
Figura 19. Balones ámbar con muestra para polifenoles.....	63
Figura 20. Lavado para la separación de hexano y acetona	64
Figura 21. Solución de clorofila.....	64
Figura 22. Medición de soluciones en el espectrofotómetro	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Escala de color durante el desarrollo y maduración del Arazá	14
Tabla 2. Factores en estudio para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas en la calidad fisicoquímica, bioquímica en el arazá.....	27
Tabla 3. Tratamientos obtenidos para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas en la calidad fisicoquímica y bioquímica del arazá.	28
Tabla 4. Análisis de fuente de variación y grados de libertad del diseño experimental empleado para estudiar el efecto de las atmósferas modificadas en la calidad bioquímica del arazá.	29
Tabla 5. Resultados del estudio de regresión lineal para la validación del método de análisis de polifenoles en arazá.....	30
Tabla 6. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de arazá.....	31
Tabla 7. Evolución del contenido de polifenoles totales presentes en pulpa de arazá almacenado en refrigeración (12 °C) durante 10 días.	33
Tabla 8. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales promedio en pulpa de arazá almacenado en refrigeración a 12 °C durante 10 días.....	34
Tabla 9. Resultados del estudio de regresión lineal para el método de análisis de flavonoides totales en arazá.....	35
Tabla 10. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de flavonoides totales en muestra liofilizada de pulpa de arazá.....	37
Tabla 11. Resultados de flavonoides totales en muestra liofilizada de pulpa de arazá almacenado de atmósfera modificada y refrigeración (12 °C) durante 10 días	39
Tabla 12. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales promedio del arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.....	39
Tabla 13. Resultados del análisis de precisión del método de análisis de carotenoides totales en muestra liofilizada de arazá.....	41
Tabla 14. Resultados de carotenoides totales en muestra liofilizada de pulpa de Arazá almacenado 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.	43
Tabla 15. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales promedio de pulpa de arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.....	43
Tabla 16. Resultados de Carotenoides Totales en muestra liofilizada de cáscara de Arazá por 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.	44
Tabla 17. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales promedio del arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.....	45

Tabla 18. Resultados del análisis de precisión del método de análisis de clorofila total.	46
Tabla 19. Resultados de Clorofila Total en muestra liofilizada de cáscara de Arazá por 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.....	47
Tabla 20. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila total promedio de cáscara de arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.	48
Tabla 21. Diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones medias de los compuestos bioactivos de los 5 tratamientos gaseosos.	49

RESUMEN

La finalidad del presente trabajo fue evaluar los efectos de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la composición bioquímica del arazá a una temperatura de 12 °C por diez días de almacenamiento. La primera fase del estudio consistió en validar los métodos para la cuantificación de los compuestos bioactivos. La segunda fase evaluó el efecto de la aplicación de mezclas gaseosas de baja y alta concentración de oxígeno sobre los componentes bioactivos. Las mezclas gaseosas de baja concentración de oxígeno fueron: G1: 2,5/2,5; G2: 2,5/5; y las mezclas de alta concentración de oxígeno fueron G3: 80/10; G4: 80/20 y G5: 90/10 (% O₂ % CO₂), todos los análisis se realizaron con sus respectivas muestras control que corresponde al aire atmosférico.

Las mezclas gaseosas que ayudaron a conservar los polifenoles fueron el tratamiento G1 con una diferencia relativa del 103 % con respecto a su aire control de igual manera el tratamiento G2 con el 88,49 %; respecto a los flavonoides las mezclas mencionadas anteriormente conservan con un mayor porcentaje dichos compuestos a diferencia de su aire su aire control con un 66,64 % G1 y 76,05 % G2.

La mezcla que mostro una diferencia relativa en el contenido de carotenoides y no permitió el desarrollo de los mismos en pulpa fue tratamiento el G2 con, - 36,32 % y para el análisis de carotenoides en cascara el tratamiento que mostro una diferencia relativa fue el G5 con un 10,70 %. Mientras que para mantener la clorofila, fue el tratamiento G2 que mostro una diferencia relativa de 34,99%.

Palabras clave: atmósferas modificadas, evaluación bioquímica, arazá, conservación de alimentos, compuestos bioactivos.

ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the effects of the application of modified atmospheres on the biochemical composition of the arazá at a temperature of 12°C for ten days of storage. The first phase of the study is to validate the methods for the quantification of bioactive compounds. The second phase evaluated the effect of the application of gaseous mixtures of low and high oxygen concentration on the bioactive components. The gas mixtures with low coffee concentration were: G1: 2.5 / 2.5; G2: 2.5 / 5; and mixtures of high oxygen concentration were G3: 80/10; G4: 80/20 and G5: 90/10 (% O₂% CO₂), all analyzes were performed with their respective control samples corresponding to atmospheric air.

The gaseous mixtures that helped to conserve the polyphenols were the G1 treatment with a relative difference of 103% with respect to its control air, in the same way the G2 treatment with 88.49%; respect to the flavonoids, characteristic, previously, conservation, with, a, greater, percentage, said, compounds, a, difference, of, its, air, air, control, with, a 66.64%, G1, and, 76, 05%, G2.

The mixture that showed a relative difference in carotenoid content and did not allow the development of pulp in the G2 treatment with -36.32% and for the analysis of carotenoids in the shell The treatment that showed a difference was the G5 with a 10.70% While to maintain chlorophyll, it was the G2 treatment that showed a relative difference of 34.99%.

Keywords: modified atmospheres, biochemical evaluation, arazá, food preservation, bioactive compounds.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la producción de frutas amazónicas ha ganado un gran espacio en el mercado global, particularmente el arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) que es considerado una fruta exótica y de alto contenido en antioxidantes. Ello significa que su consolidación en forma de cadena de valor puede traer beneficios económicos y sociales a los productores de este fruto **(Hernández, Barrera, Carrillo, et al., 2007)**. En el Ecuador, el cultivo de arazá es de 704 ha de superficie plantada a nivel nacional, y de forma silvestre y en sistemas agroforestales en las provincias del oriente es de 250 ha **(INEC, 2000)**.

El arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) pertenece a la familia de las mirtáceas y es originario del Alto Amazonas (Colombia, Brasil, Perú y Ecuador). Se desarrolla en climas en los que la temperatura oscila entre los 18 °C a 30 °C, se adapta a suelos con alta saturación de aluminio y bajos niveles de fertilidad, con un pH de 4,5 a 5,5 **(Coronel, 2001)**. Según **Garzón et al. (2012)**, el arazá es un fruto alto en contenidos fenólicos, por lo tanto la fruta tiene un alto contenido antioxidante.

El uso de atmósferas modificadas es una técnica que ayuda a la reducción del daño por frío a baja temperatura y la deshidratación y también retrasan el desarrollo del color en las frutas, pérdida de peso, firmeza y mantienen los niveles de ácidos orgánicos y demás nutrientes **(Gallego et al., 2002)**.

Se ha demostrado que las frutas son ricas en antioxidantes, capaces de inhibir la acción de radicales libres, es decir, no detienen la formación de éstos sino que al reaccionar con ellos los estabilizan, produciendo radicales menos reactivos **(Cozzano, 2009)**.

CAPÍTULO I.- EL PROBLEMA

1.1. TEMA

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ATMÓSFERAS MODIFICADAS EN LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DEL ARAZÁ (*Eugenia stipitata* McVaugh)

1.2. JUSTIFICACIÓN

El Ecuador es pionero en el sector frutícola por la gran variedad de frutas que aquí se producen. En la Amazonía, se producen frutales con alto potencial de exportación como es el arazá, cuyo fruto es rico en vitaminas, minerales y antioxidantes (**Mena Chimba, 2009**). Su pulpa ácida contiene altos niveles de vitamina C, provitamina A, proteínas y ácido málico y tiene un aroma muy agradable. Los componentes bioactivos del arazá poseen beneficios en la salud humana debido a las propiedades antioxidantes del fruto pues estos antioxidantes neutralizan radicales libres los cuales son precursores del cáncer (**Yahia, 2011**).

Existen diversas formas de conservación de frutos, siendo la refrigeración una de las técnicas más convenientes para productos perecederos, existiendo además métodos químicos y físicos (**Acero, 2006**). Entre éstas, el uso de atmósferas modificadas es una técnica interesante desde el punto de vista de la calidad, ya que no deja residuos químicos en los productos. Su finalidad es cambiar el microambiente del producto envasado o almacenado, inyectando mezclas de gases que habitualmente están compuestas por proporciones variables de oxígeno (O₂), dióxido de carbono (CO₂), y nitrógeno (N₂) (**García, 2007**).

La utilización de atmósferas modificadas ayuda a la prolongación de la vida útil de los alimentos, debido a que minimizan las tasas de degradación bioquímica, enzimática y microbiana (**Kirtil et al., 2015**).

El mecanismo de acción de las atmósferas modificadas permite frenar el metabolismo del fruto y reducir la respiración, retrasando su deterioro fisiológico y microbiano **(Calero, 2006)**. De igual manera la aplicación de atmósferas modificadas ayudan a la disminución del contenido de la clorofila y la biosíntesis de carotenoides presentes en las frutas **(Kader, 1986)**. Las atmósferas modificadas restringen los cambios de composición como el desarrollo de antocianos, prevención de la rancidez y el pardeamiento enzimático, manteniendo el color mismo que determina el estado de madurez e indica que en el interior de la fruta existen una gran cantidad de antioxidantes (polifenoles, flavonoides, antocianos) y protegiendo las vitaminas de los productos frescos **(Ospina y Cartagena, 2008)**.

Con este estudio se propone evaluar el efecto de la aplicación de cinco mezclas gaseosas compuestas por O₂, CO₂, y N₂ en la composición bioquímica del arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) que permita elegir la mejor concentración gaseosa para optimizar la conservación de los compuestos bioactivos del fruto.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de atmósferas modificadas sobre la composición bioquímica del arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh).

1.3.2. Objetivos específicos

- Adecuar y validar las técnicas analíticas de determinación de carotenoides, clorofilas, flavonoides y polifenoles en cáscara y pulpa de arazá.
- Determinar el contenido de carotenos totales y clorofilas a, b y c en la cáscara del arazá almacenado 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 arazá almacenado 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.

CAPÍTULO II.- MARCO TEÓRICO

2.1. ARAZÁ

2.1.1. Botánica

El arazá (*Eugenia Stipitata* McVaugh) es originario del suroeste de la Amazonia brasileña, la cual acoge la mayor diversidad genética del fruto. La planta de arazá pertenece a la familia de las Mirtáceas y su desarrollo óptimo se da a una temperatura que oscila entre 18 y 30 °C (**Romero Haro y Saquina Pilco, 2012**).

Según **Hernández et al. (1999)**, los suelos en el que se desarrolla el arazá no son necesariamente altos en fertilidad. Para la siembra del arazá, el suelo debe contener: fósforo, calcio y magnesio, elevada saturación de aluminio (80 %) y acidez. Existen dos subespecies de Arazá, la *E. stipitata* subsp. *stipitata* que es un arbusto de tamaño medio con mayor cantidad de estambres y con hojas, flores y frutos de mayor tamaño a comparación de *E. stipitata* subsp. *Sororia*, que presentan estambres, hojas, flores, y frutos de menor tamaño (**Hernández, Barrera y Carrillo, 2004**). La subespecie más extendida en el campo agrícola es la *E. stipitata* subsp. *sororia* debido a la alta producción de frutos y la resistencia a enfermedades. En el Ecuador, la producción de Arazá se encuentra dividida en varias zonas, la mayor parte se ubica en las provincias de Sucumbíos, Napo, Orellana, Pastaza; con menor producción se produce en las provincias de los Ríos y Santo Domingo de los Tsáchilas (**Espín Chávez y Alvarez Bonilla, 2007**). El arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) posee las siguientes características: piel del fruto del arazá, en su madurez, de color amarillo, de forma esférica con un diámetro de 8 a 12 cm y un peso entre 100 a 200 g. La pulpa es ácida y de color amarillento (**Toledo, 2010**).

2.1.2. Cosecha

Según **Hernández et al. (2006)**, la maduración es un factor que hay que tomar en cuenta antes de la cosecha debido a que es la transición entre el

crecimiento, el desarrollo y la senescencia e involucra cambios de color, sabor, y la textura.

El parámetro sensorial más eficaz para identificar estados de madurez del arazá es, en general, el color, para lo cual se presenta la Tabla 1.

Tabla 1. Escala de color durante el desarrollo y maduración del Arazá

Escala de color	Estado	Color		Descripción
		Descripción	Valores coordenadas	
1	Inmaduro	Verde	L=52-54 C=32-37 H=106-108	Color verde oscuro, leve modificación a tonalidad mate
2	Verde-Maduro	Verde-mate	L=54-57 C=38-41 H=101-105	Color verde claro sin brillo
3	Pintón	Verde-amarillo	L=58-60 C=42-44 H=95-99	Color verde con 10-25 % de color
4	Pintón $\frac{3}{4}$	Verde-amarillo	L=61-64 C=45-48 H=89-94	Color amarillo del 50 %
5	Maduro	Amarillo	L=65-67 C=49-54 H=83-88	Color amarillo en el 100 % de la superficie
6	Sobre maduro	Amarillo Oscuro	L=68-71 C=55-69 H=80-84	Color amarillo oscuro, fruto blando

Fuente: Fernández-Trujillo et al. (2011).

La recolección de la fruta debe realizarse de forma manual cuando el color de la fruta es verde amarillento, en el transcurso de la novena semana tras el cuajado. La recolección de la fruta se recomienda que se la haga en bandejas plásticas perforadas y poco profundas, puesto que la fruta madura es muy delicada y no tolera la manipulación **(Toledo, 2010)**. Debido a su alta perecibilidad, la vida útil del arazá difícilmente puede mantenerse estable más allá de 5 días **(M. Hernández et al., 2009)**.

2.1.3. Postcosecha

El arazá es un fruto altamente perecible debido a un alto porcentaje de humedad de alrededor del 90 %, lo cual incide en el incremento de la tasa respiratoria. Para retrasar la perecibilidad existen varios factores de la postcosecha que se deben tener en cuenta. El fruto debe colocarse en cajas rígidas y resistentes con menos de tres hileras de frutos y transportarlos de manera cuidadosa para evitar el aplastamiento de los mismos **(Laverde Acurio, 2010)**. Los frutos deben ser almacenados en refrigeración con una temperatura entre 8-10 °C. y una humedad relativa entre 85-90 % **(Hernández, Barrera, Páez, et al., 2004)**.

Existen factores bióticos y abióticos que intervienen en el deterioro postcosecha del arazá. Los factores bióticos hacen referencia a reacciones biológicas que se dan en el fruto como ataque de microorganismos que provocan plagas; los microorganismos causantes de estas plagas son *Atractomerus inmigrans* (Coleótera, curculionidae) y *Conotrachelus eugeniae* que provocan al fruto puntos negros y paralizan el crecimiento y maduración. La enfermedad más conocida e importante que ataca el arazá es la antracnosis causada por *Gloesporium* spp. la cual ocasiona necrosis en la superficie del fruto. Estos microorganismos pueden afectar al fruto desde sus fases inmaduras apreciándose el daño después de la cosecha, durante el almacenamiento **(Acevedo y Arenas, 2015)**. Los factores abióticos hacen referencia a factores externos como el clima, temperatura, y el suelo. Estos factores influirán en el fruto ayudando a que sea más perecedero y no conservando sus características organolépticas después de la cosecha **(Hernández, Barrera, Trujillo, et al., 2007)**.

2.1.4. Respiración

Según **Barreiro y Sandoval (2006)**, la respiración a nivel celular ocurre por diferentes vías metabólicas, de las cuales se pueden citar: la secuencia de la glicólisis, el ciclo de ácido tricarboxílico y el ciclo de las pentosas.

La secuencia de la glicólisis permite la transformación metabólica de las hexosas en piruvato, es decir, transforma una molécula de hexosa en dos moléculas de piruvato. Esto ayuda a la obtención de energía y precursores biosintéticos tanto en condiciones anaerobias como aerobias (**Peretó, 2007**).

La siguiente fase de la respiración celular es el ciclo del ácido tricarboxílico que consiste en la oxidación a CO_2 de los carbonos donados por el grupo acetilo y los electrones que pasan a los transportadores de electrones. La coenzima A es el nexo entre la oxidación del ácido pirúvico y el ciclo de Krebs. En el transcurso de estas reacciones parte de la energía liberada por la oxidación de los enlaces C-H y C-C se usa para convertir ADP en ATP (una molécula por ciclo) y otra parte para producir NADH y H^+ a partir del NAD (tres moléculas por ciclo). Así, el rendimiento energético total del ciclo de Krebs para una molécula de glucosa es de dos moléculas de ATP, seis moléculas de NADH y dos moléculas de FADH_2 (**Schne et al., 2008**).

El ciclo de las pentosas o ciclo de Calvin es un proceso anabólico, es decir, elabora azúcar a partir de moléculas más pequeñas y consume energía. El carbono al entrar en el ciclo de Calvin ingresa en forma de CO_2 y sale en forma de azúcar. Para realizar el ciclo se consume ATP como fuente de energía y consume NADPH como poder reductor para agregar electrones de alta energía para elaborar el azúcar. El hidrato de carbono producido por este ciclo en realidad no es glucosa, sino un azúcar a partir de tres carbonos llamados gliceraldehído-3-fosfato (**Campbell y Reece, 2007**).

2.1.5. Tasa Respiratoria (TR)

Según **Montalvo (2011)**, el valor máximo de la tasa respiratoria de un fruto se denomina pico climatérico o climaterio. Esto se ve influenciado por la producción de CO₂ y de etileno (C₂H₄), ayudando al desarrollo de las características organolépticas y fisicoquímicas de la fruta (Figura 1).

Al cambiar de forma notoria la respiración de frutos climatéricos en su maduración, se utiliza la tasa respiratoria (mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹) del fruto como indicador del estado de madurez. Además permite identificar los daños producidos en el fruto, debido a que cualquier tipo de daño tanto físico, bioquímico o por frío provocan el incremento de la tasa de respiración (**Almenar et al., 2013**).

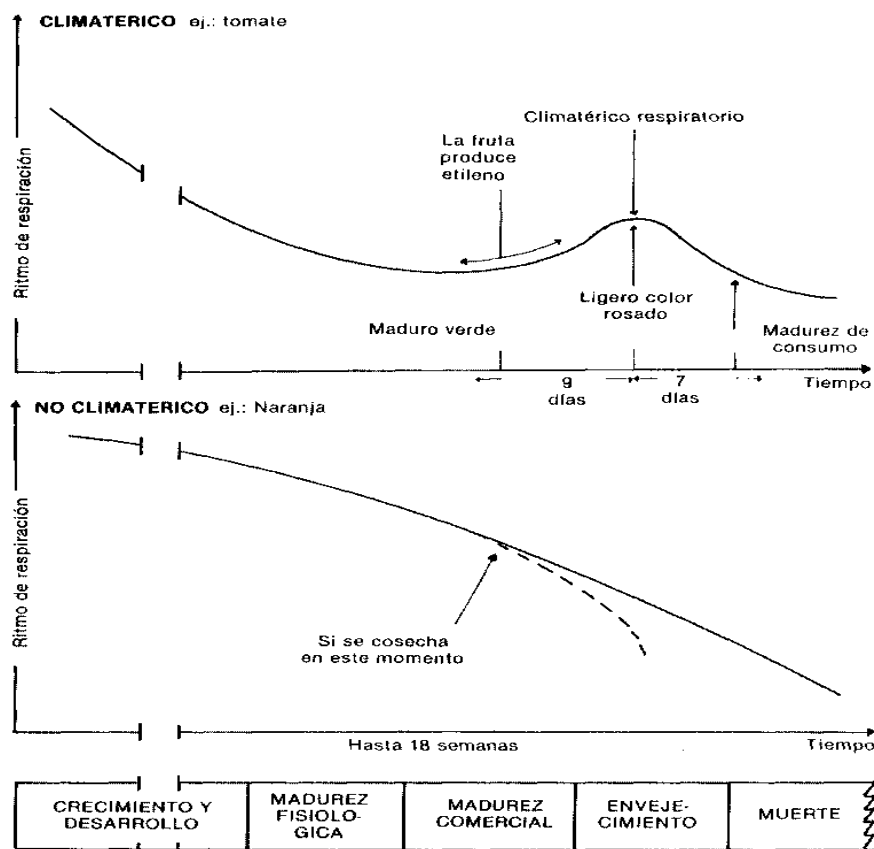


Figura 1. Desarrollo de frutas climatéricas y no climatéricas. Fuente: **Montalvo (2011)**

2.1.6. Atmósfera Modificada (AM)

La utilización de atmósferas modificadas es una técnica que ayuda a extender la vida útil de frutas y vegetales retrasando el proceso de maduración. Al usar bajas concentraciones de O₂ se ralentiza el proceso de respiración y la producción de etileno. Las altas concentraciones de CO₂ disminuyen el proceso de maduración ya que este actúa como inhibidor competitivo del etileno **(Sora et al., 2006)**.

Las concentraciones de los distintos gases a aplicar dependen del tipo de fruta o de la variedad de la misma, ya que distintos estudios han demostrado que las frutas y hortalizas tienen un límite específico de tolerancia a diferentes combinaciones de O₂ y de CO₂ **(Sánchez, 2017)**.

2.1.7. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos químicos que se encuentran mayoritariamente en frutas y verduras. Entre los más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides (quercitina, robinutina, luteolina, kaempferol, catequinas, etc.), las antocianinas, los carotenoides o los ácidos fenólicos (ácido cafeico, ferúlico, gálico o clorogénico) **(Paulino, 2013)**. Según **Ferraro (2016)**, los polifenoles pueden clasificarse de acuerdo al número de carbonos presentes en su estructura base. Un ejemplo es el grupo fenol C₆-C₁, cuyo componente más común en las frutas es el ácido gálico. Esta estructura es adecuada para ejercer una acción antioxidante, es decir, atrapa radicales libres.

Los carotenoides son responsables de dar el color y tonalidad a la fruta. La roja, naranja y la amarilla, además de dar color, tienen una acción vitamínica (α y β caroteno) al ser precursores de la vitamina A. Estos pigmentos se encuentran en las células vegetales, en el interior de orgánulos específicos, como los cloroplastos y cromoplastos **(Mosquera, 2005)**. Según **Mariano (2004)**, la reducción de carotenoides en la conjugación produce formas amarillas, mientras que su oxidación genera formas rojas. Los carotenos son tetraterpenos liposolubles, los cuales son considerados como ocho unidades de isopreno (C₅H₈) que forman una estructura alifática alicíclica.

Los flavonoides son un numeroso grupo de compuestos que tienen en su estructura el conjunto C₆-C₃-C₆, el cual se caracteriza por tener un alto poder antioxidante, el mismo que protege del desarrollo tumoral (**Bello Gutiérrez, 2000**).

Los polifenoles son compuestos pertenecientes a la familia de los fenoles, sustancias presentes en la naturaleza que poseen anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos. Dichos compuestos son potentes antioxidantes, en la mayoría de los casos por su estructura, que donan H⁺ (poder reductor) o electrones. Estos compuestos suelen encontrarse en frutas, verduras, semillas. (**Kinsella, 1993**).

La presencia del grupo hidroxilo del fenol es el que determina la acidez de este, mientras que a su vez el anillo aromático es el que caracteriza la basicidad del compuesto polifenólico. A tal efecto, los polifenoles tienen un bajo punto de fusión, se cristalizan en prismas incoloros, con un olor ligeramente picante. La miscibilidad en agua es ilimitada, aunque por encima de ciertas temperaturas aumenta y dependiendo de la presencia de grupos hidroxilo metilados puede aumentar o disminuir, según sea más alta o más baja la concentración de estos, respectivamente, aunque es fácilmente soluble en disolventes orgánicos como hidrocarburos aromáticos, alcoholes, cetonas, éteres, ácidos e hidrocarburos halogenados y menos soluble en hidrocarburos alifáticos (**Rappaport, 2004**).

2.2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Cuéllar y Anzola (2012) evaluaron la capacidad antioxidante de polifenoles y carotenos tanto de la cáscara como de la pulpa de arazá, en cuatro estados de madurez (verde, pintón, maduro y sobremaduro). Para la extracción de compuestos fenólicos se utilizó como solvente una mezcla de agua y acetona (70:30) y su análisis se llevó a cabo con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Además se identificaron parcialmente por HPLC en fase reversa, con arreglo de diodos. Los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes:

El contenido de polifenoles en la pulpa fue mayor en el estado verde (1200 mg/1000 g fruto en base húmeda, BH) seguido del maduro (1100 mg/1000 g fruto BH), pintón (905 mg/1000 g fruto BH) y sobremaduro (550 mg/1000 g fruto BH), mientras que en la cáscara fue mayor en los estados maduro (170 mg/1000 g fruto BH) y verde (295 mg/1000 g fruto BH), seguidos del pintón (100 mg/1000 g fruto BH) y sobremaduro (50 mg/1000 g fruto BH). Para los resultados de carotenos, los investigadores obtuvieron que la pulpa del arazá presentó una mayor cantidad en estado maduro (110 mg/1000 g fruto BH) y pintón (90 mg/1000 g fruto BH), mientras que en la cáscara fue mayor en el estado sobremaduro (50 mg/1000 g fruto BH) seguido del verde (45 mg/1000 g fruto BH). Concluyeron que la mayoría de los antioxidantes se encuentran en el estado verde y maduro.

Vargas y Narváez (2005), evaluaron el comportamiento de los compuestos antioxidantes del arazá. Para esto la fruta fue cosechada en su madurez fisiológica y almacenada por 6 días a 25 °C. Al realizar esta experimentación determinaron que los compuestos fenólicos se vieron afectados durante el almacenamiento debido a los procesos metabólicos de maduración y se encontró que los frutos presentaron su máximo climatérico luego de dos días de almacenamiento. En su madurez de consumo, el contenido de fenólicos totales (7,8 mg de catequina/ g pulpa en arazá en base seca, BS o 1,2 mg de catequina/ g pulpa en arazá en base húmeda, BH) se encontró en el intervalo de contenido de catequina de diferentes frutas.

2.3. HIPÓTESIS

H₀: La aplicación de diferentes combinaciones gaseosas mediante atmósferas modificadas no influye en la composición bioquímica del arazá

H_a: La aplicación de diferentes combinaciones gaseosas mediante atmósferas modificadas influye en la composición bioquímica del arazá

2.3.1. Señalamiento de variables de la hipótesis

a) Variables independientes

- 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. Materia orgánica

Para el desarrollo del trabajo de investigación se empleó el fruto del arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) en estado de madurez grado 2 y 3, tal como lo describieron **Fernández-Trujillo et al. (2011)**. Este fruto se obtuvo de la provincia de Orellana, sector “Las Tecas”. Los frutos fueron transportados durante la noche, posteriormente aclimatados a la temperatura de ensayo de 12 °C y finalmente sometidos a las distintas combinaciones de gases utilizadas para la generación de atmósferas modificadas.

3.2. Métodos

3.2.1. Aplicación de atmósferas modificadas

La generación de las diferentes combinaciones gaseosas se realizó empleando un mezclador de gases KM100-3 FLOW (WITT Gasetechnik, Alemania) usando como suministro bombonas de gas a presión de oxígeno (pureza 99,5 %), nitrógeno (pureza 99,5 %) y CO₂ (pureza 99,9 %) de diversos proveedores locales (Linde Ecuador, OXICEN 3), un tanque de almacenamiento de mezcla de acero inoxidable (10 L) fabricado por WITT Gasetechnik (Alemania) y un sistema completo de racorería neumática que incluyó reguladores de presión de doble etapa (tipo Harris), válvulas de control de caudal, válvulas de corte, reducciones, conexiones rápidas y tubería de material polimérico, teflón y poliamida (**Angós et al., 2008**).

Sánchez, (2017), aplicó combinaciones gaseosas estudiadas que se compararon frente atmósferas control, las cuales se generaron mediante la inyección de aire atmosférico con un compresor de membrana, libre de aceite (Marathon Electric, modelo 5KH33GN293KX, México), a un caudal de 450 mL h⁻¹, para arrastrar de forma efectiva los gases generados en el interior de las cámaras de respiración y almacenamiento. Todas las mezclas gaseosas generadas se humidificaron previamente a su inyección en las cámaras de

respiración mediante borbotado a través de un recipiente con agua, hasta alcanzar aproximadamente un 90 % de humedad relativa (Guevara, 2017). Dicho procedimiento se muestra en la Figura 2.

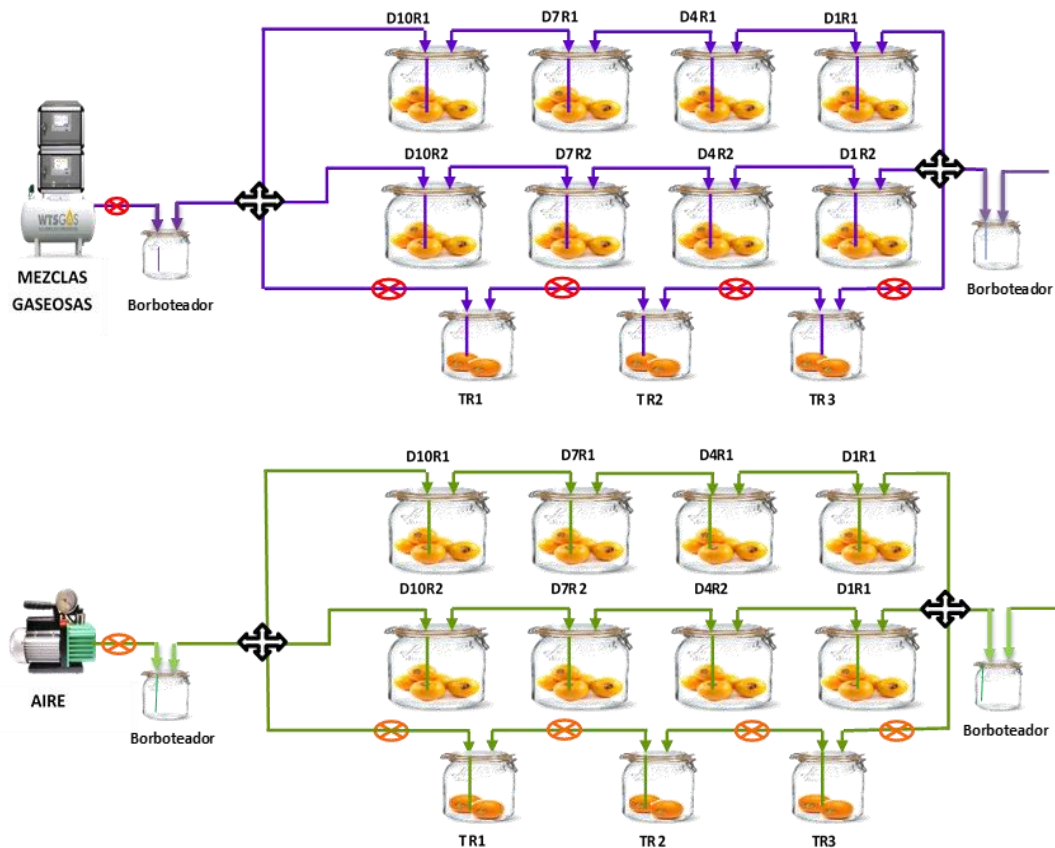


Figura 2. Esquema del sistema cerrado para la determinación de tasas de respiración y generación de las mezclas gaseosas. TR: cámaras para determinación de la tasa de respiración con tres réplicas (botes para respiración); DR: cámaras para determinación de ensayos destructivos. **Fuente: (Guevara, 2017).**

3.2.2. Preparación de la muestra

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, específicamente 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**

Las muestras fueron liofilizadas para 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 °C, mientras que el segundo consiste en mantener una presión de 1 Pa durante el tiempo suficiente para conseguir la evaporación del agua presente en el producto (Orrego, 2008). Para esta operación se utilizó un liofilizador LAB-KITS, modelo FD 18-MR (Hong Kong, China).

3.2.3. Polifenoles totales

Para la determinación de polifenoles totales se utilizó el método descrito por **Espín y Samaniego (2016)**. Se pesó la muestra liofilizada de arazá 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 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), se centrifugó en una centrifuga 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 la absorbancia en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600 Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 760 nm.

Para la cuantificación de polifenoles totales se utilizo la ecuación 1

$$PT = \frac{A-b}{a} * \frac{VT}{PM} * FD * 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde **PT** es el contenido de polifenoles totales (mg-ácido gálico 100 g⁻¹ materia seca), **A** es la absorbancia (adimensional), **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 (mL), **PM** es el peso de la muestra (g) y **FD** es el factor de dilución (adimensional).

3.2.4. Flavonoides totales

La determinación de flavonoides totales se realizó siguiendo el método descrito por **Zhishen et al. (1999)**. Se pesó la muestra liofilizada de arazá en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón) y se añadió una solución de metanol, agua y 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) y se llevó a un baño de ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH; Illinois, Estados Unidos) y 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 2

$$FT = \frac{A-b}{a} * \frac{VT}{PM} * FD * 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde **FT** son el contenido de flavonoides totales (mg-catequina 100 g⁻¹ materia seca), **A** es la absorbancia (adimensional), **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 (mL), **PM** es el peso de la muestra (g), **FD** es el factor de dilución (adimensional).

3.2.5. Carotenoides totales en pulpa y cáscara

La determinación de carotenoides totales se realizó siguiendo el método descrito por **Leong y Oey (2012)**. Inicialmente se pesó la muestra liofilizada

de arazá en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón), seguido de cloruro de calcio, la función de este es separar la fase orgánica e inorgánica, y se añadió una solución de hexano, acetona, etanol, 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 450 nm (Espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS 2600 Kyoto, Japón).

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

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

Donde **CT** es el contenido de carotenoides totales en mg·100 g⁻¹, **A** es la absorbancia, ϵ es el coeficiente de extinción molar del β -caroteno en L·mol⁻¹·cm⁻¹, **b** es el ancho de la celda en cm, **VT** es el volumen total en mL, **PM** es el peso de la muestra en g, **WM** es la masa molecular del β -caroteno en g·mol⁻¹.

3.2.6. Clorofila

La determinación de clorofila se realizó siguiendo el método descrito por **Arnon (1949)**. Para ello se pesó la muestra liofilizada de arazá 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 y se determinó espectrofotométricamente la absorbancia a 645 nm (fracción “a” de la clorofila) y 663 nm (fracción “b” de la clorofila) en un equipo Shimadzu UV-VIS 2600 (Kioto, Japón).

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

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

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

$$C_t = 0,0202 D_{645} + 0,00802D_{663} \quad \text{Ec. 6}$$

Donde: **C_a** es la concentración de clorofila a, **D₆₄₅** es la absorbancia del extracto a 645 nm, **C_b** es la concentración de clorofila b, **D₆₆₃** es la absorbancia del extracto a 663 nm y **C_T** es la concentración de clorofila total.

3.3. Análisis estadístico

3.3.1. Factores en estudio

Para cada fruta se consideró como factores en estudio la composición de la atmósfera modificada (mezcla de oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno) determinada en ensayos preliminares y el tiempo de almacenamiento (10 días) como se detalla en la Tabla 2.

Tabla 2. Factores en estudio para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas en la calidad fisicoquímica, bioquímica en el arazá

FACTOR	NIVEL	DESCRIPCIÓN DE NIVEL
Composición de la Atmósfera Modificada (Mezcla oxígeno y dióxido de carbono)	Ai	21 % O ₂ -79 % N ₂
	G1	2,5% O ₂ -2,5 % CO ₂ -90 % N ₂
	G2	2,5 % O ₂ -5,0 % CO ₂ -92,5 % N ₂
	G3	80,0 % O ₂ -10,0 % CO ₂ -10 % N ₂
	G4	80,0 % O ₂ %-20,0 % CO ₂ -0 % N ₂
	G5	90,0 % O ₂ -10,0 % CO ₂ -0 % N 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 3).

Tabla 3. Tratamientos obtenidos para determinar la influencia de cinco atmósferas modificadas en la calidad fisicoquímica y bioquímica del arazá.

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

Tabla 4. Análisis de fuente de variación y grados de libertad del diseño experimental empleado para estudiar el efecto de las atmósferas modificadas en la calidad bioquímica del arazá.

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 estadístico

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 %.

CAPÍTULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Polifenoles totales

4.1.1. Adaptación del método para análisis de polifenoles totales

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

4.1.2. Linealidad

En la estandarización del método se realizó el estudio de linealidad, donde se utilizó un conjunto de estándares de ácido gálico con concentraciones entre 0 y 100 ppm por triplicado, en tres días diferentes. Posteriormente se realizó el estudio de regresión lineal y se estableció una curva de calibración promedio del método. En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos en el análisis estadístico de los datos.

Tabla 5. Resultados del estudio de regresión lineal para la validación del método de análisis de polifenoles en arazá.

Parámetro	Promedio
m (pendiente)	0,0117
Lo (ordenada al origen)	0,0789
R ²	0,9995
t _{obtenido}	82,64
t _{tabla}	2,78

Mediante los resultados de la Tabla 5 se estableció que la curva de ajuste lineal de calibración promedio presentó un coeficiente de determinación R² de 0,9994, lo que indica que el ajuste lineal fue adecuado, ya que casi toda la variabilidad de los datos experimentales pudo ser explicada por dicho modelo de regresión, lo que pudo verificarse mediante un test de Student, mediante el que se observó la existencia de una significativa correlación lineal positiva entre la absorbancia medida por el espectrofotómetro y la concentración de

ácido gálico analizada. En la Figura 3 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.

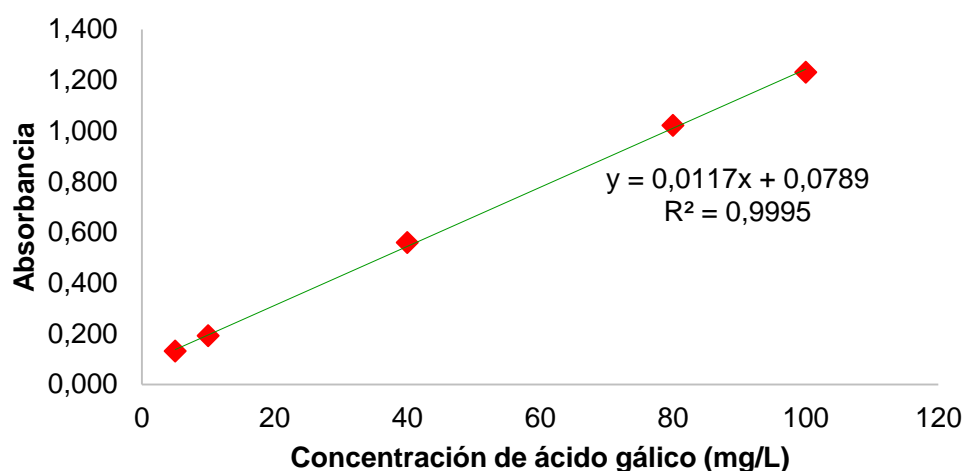


Figura 3. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles.

4.1.3. Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de polifenoles totales de una muestra liofilizada de pulpa de arazá con seis repeticiones siguiendo el método descrito en el Capítulo 3, estableciéndose la desviación estándar y el coeficiente de variación del método (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de polifenoles totales en muestra liofilizada de pulpa de arazá.

MUESTRA	Arazá mg/100 g ms
1	919,6
2	877,1
3	919,0
4	898,5
5	890,8
6	919,3
Promedio	904,0
Desv. estándar	18,0
Coef. variación (%)	2,0

ms = materia seca

Observando los resultados de la Tabla 6, se determinó que el coeficiente de variación en el ensayo de repetibilidad fue de 2 %, el cual estuvo dentro del límite permitido para el rango de magnitudes de concentraciones medidas (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.

4.1.4. Exactitud

La exactitud del método se determinó como porcentaje de recuperación de polifenoles en cada ciclo de extracción. Para ello se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para la obtención del 100 % de rendimiento de extracción de polifenoles, utilizando como solvente de extracción la solución de metanol/agua/ácido fórmico (Figura 4).

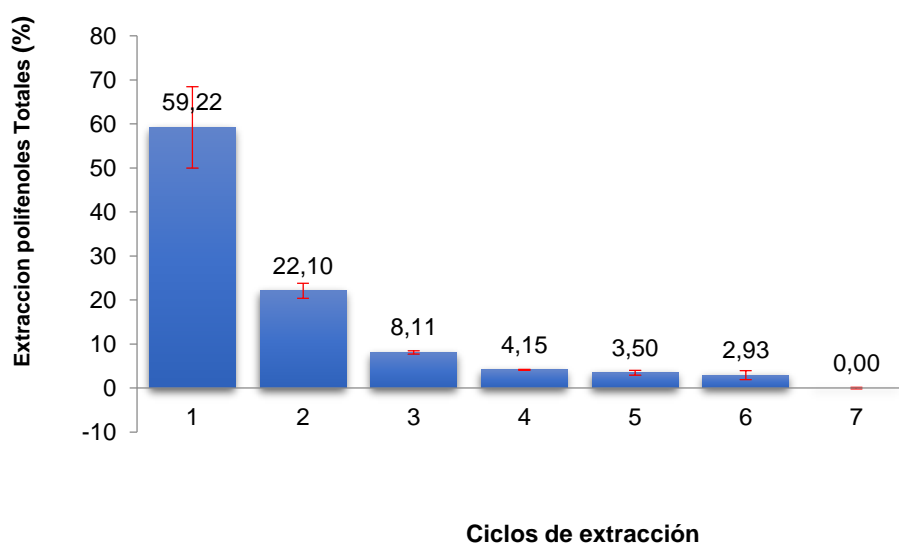


Figura 4. Recuperación de los polifenoles totales en muestra liofilizada de arazá en función de los ciclos de extracción.

Observando la Figura 4, se estableció que a partir de la séptima extracción no permitió detectar la presencia de polifenoles residuales en la solución extractora, por tanto, seis ciclos de extracción fueron suficientes para obtener prácticamente el 100 % de recuperación de polifenoles, resultando en un

método robusto, que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se quiso determinar.

4.1.5. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales durante el almacenamiento refrigerado

En la Tabla 7 se presentan la evolución de los resultados promedio de los análisis de polifenoles totales en muestras de pulpa de arazá almacenados en refrigeración por 10 días en diversas atmósferas modificadas (AM) con su respectivo testigo. Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 7. Evolución del contenido de polifenoles totales presentes en pulpa de arazá almacenado en refrigeración (12 °C) durante 10 días.

Mezcla gaseosa	Polifenoles totales (mg de ácido gálico/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
Gas 1 (2,5/2,5)	1193,75	2519,19	4186,21	1035,49
Aire 1 (control)	864,70	1331,91	1063,08	1143,04
Gas 2 (2,5/5,0)	4858,56	5641,88	2036,90	1283,35
Aire 2 (control)	1014,81	4400,23	1346,85	1283,35
Gas 3 (80/10)	1354,63	1013,18	1071,59	767,56
Aire 3 (control)	501,44	815,90	885,11	742,06
Gas (80/20)	1771,45	1187,17	1190,22	977,02
Aire 4 (control)	762,06	1053,03	956,41	981,66
Gas 5 (90/10)	4353,37	3614,68	1227,34	1280,49
Aire 5 (control)	722,04	983,46	1079,87	5036,70

ms: materia seca

La Tabla 8 muestra el ANOVA de los valores medios de polifenoles totales de la fruta almacenada bajo las mezclas gaseosas y aire control durante 10 días de almacenamiento a una temperatura de 12 °C.

Tabla 8. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de polifenoles totales promedio en pulpa de arazá almacenado en refrigeración a 12 °C durante 10 días.

Polifenoles	AIRE	GAS	DIFERENCIA ABSOLUTA	DIFERENCIA RELATIVA	SIG 95%
A1 vs G1	1100,7	2234,6	1133,9	103,02 %	***
A2 vs G2	1833,1	3455,2	1622,1	88,49 %	***
A3 vs G3	736,1	1051,7	315,6	42,87 %	***
A4 vs G4	938,3	1281,5	343,2	36,58 %	***
A5 vs G5	1955,5	2619,0	663,5	33,93 %	n.s.

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 observa que las atmósferas modificadas influyeron sobre el contenido de polifenoles totales en la pulpa de arazá, existiendo diferencias significativas en los tratamientos G1, G2, G3 y G4 con respecto a su tratamiento control. En el tratamiento G5 no existió influencia significativa sobre la concentración de polifenoles.

Al analizar las diferencias relativas entre las mezclas de gases y el aire control se pudo observar que la fruta almacenada bajo los tratamientos G1 (2.5-2.5)y G2 (2,5-5) retuvieron un alto porcentaje de polifenoles 103 % y 88 % en relación a la almacenada bajo la atmósfera de aire control. En otras palabras, esta atmósfera mantuvo a las frutas en el estado de madurez 3 el cual fue el estado en el que se cosecharon. Según **Cuéllar y Anzola (2012)** el mayor número de polifenoles se encuentra entre los estados 2 a 3, es decir, de verde a pintón. Hay que tener en cuenta que dicho estudio se realizó en condiciones atmosféricas normales, ya que podría haber un efecto diferente al usar otro tipo de atmósfera.

En la mezcla de gases que con altas concentraciones de oxígeno (G3, G4 y G5), los porcentajes de polifenoles con relación al aire control no llegaron ni a al 50 %, es decir el proceso de maduración y sobremaduración continuaron en estos tratamientos, debido a reacciones de oxidación. Estos resultados confirman los estudios realizados por **Vargas y Narváez (2005)**, los cuales

mencionan que las frutas al momento de alcanzar el pico climatérico comienzan a producir mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno (**Zaro et al.**) que dañan los componentes celulares y las cuales se presentan cuando existe un alto metabolismo oxidativo.

4.2. Flavonoides

4.2.1. Adaptación del método para análisis de flavonoides totales

Para el análisis de flavonoides totales se procedió a la extracción del analito de arazá, utilizando la metodología descrita en el Capítulo 3. La cuantificación se realizó por reacción de una solución de cloruro de aluminio en medio básico, formando un cromóforo de color rosado sobre una curva de calibración realizada con un set de estándares de catequina.

4.2.2. Linealidad

En la estandarización del método se realizó el estudio de linealidad, donde se utilizó un conjunto de estándares de catequina con concentraciones entre 0 a 100 ppm por triplicado en tres días diferentes, posteriormente se realizó el estudio de regresión lineal y se estableció una curva de calibración promedio del método. En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos en el análisis estadístico de los datos.

Tabla 9. Resultados del estudio de regresión lineal para el método de análisis de flavonoides totales en arazá.

Parámetro	Promedio
m (pendiente)	0,0032
Lo (ordenada al origen)	0,0669
R²	0,9998
tr_{obtenido}	47,0447
tr_{tabla}	2,45

Mediante los resultados de la Tabla 9 se estableció que la curva de calibración promedio presentó un coeficiente de determinación lineal R² de 0,9970, lo que

indica que el ajuste lineal fue adecuado, ya que casi toda la variabilidad de los datos experimentales pudo ser explicada por dicho modelo de regresión, lo que pudo verificarse mediante un test de Student, mediante el que se observó la existencia de una significativa correlación lineal positiva entre la absorbancia medida por el espectrofotómetro y la concentración de ácido gálico analizada. En la Figura 5 se presenta la curva de calibración promedio con la cual se realizó la cuantificación del contenido de flavonoides totales para todas las muestras de este estudio.

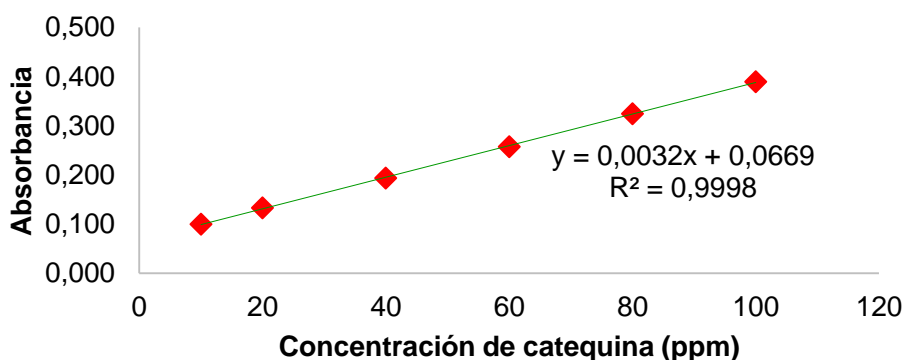


Figura 5. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales en arazá

4.2.3. Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de flavonoides totales de una muestra liofilizada de pulpa de arazá con seis repeticiones siguiendo el método de flavonoides totales, estableciéndose la desviación estándar y el coeficiente de variación del método (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de flavonoides totales en muestra liofilizada de pulpa de arazá.

Muestra	Arazá mg catequina/100 g ms
1	301,73
2	319,03
3	344,49
4	362,03
5	344,60
6	318,82
Promedio	331,78
Desv. Estándar	22,25
Coef. Variación (%)	6,71

ms=materia seca

Observando los resultados de la Tabla 10, se determinó que el coeficiente de variación en el ensayo de repetitividad fue de 6,71 %, el cual estuvo dentro del límite permitido para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a lo establecido por la ecuación de Horwitz (8 %), por lo cual se estableció que el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.2.4. Exactitud

La exactitud del método se determinó como porcentaje de recuperación de flavonoides en cada ciclo de extracción. Se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para la obtención del 100 % de rendimiento de extracción de polifenoles, utilizando como solvente de extracción la solución de metanol/agua/ácido fórmico (Figura 6).

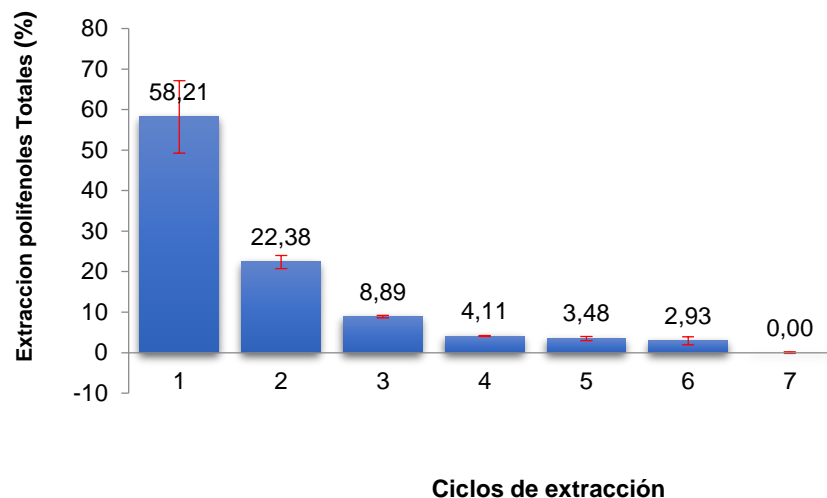


Figura 6. Recuperación de flavonoides totales en muestra liofilizada de arazá en función de los ciclos de extracción

Observando la Figura 6, se estableció que a partir de la séptima extracción, no se pudo detectar la presencia de flavonoides residuales en la solución extractora, por tanto con seis ciclos de extracción fue suficiente para obtener prácticamente el 100 % de recuperación de flavonoides, resultando en un método robusto, que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se necesitó determinar.

4.2.5. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales en arazá.

En la Tabla 11 se presentan los resultados promedio del análisis de flavonoides totales en muestras de pulpa de arazá almacenados en refrigeración por 10 días en diversas atmósferas modificadas con su respectivo testigo. Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 11. Resultados de flavonoides totales en muestra liofilizada de pulpa de arazá almacenado de atmósfera modificada y refrigeración (12 °C) durante 10 días

MEZCLA GASEOSA	Flavonoides Totales(mg de catequina/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
Gas 1 (2,5/2,5)	48,92	90,40	124,94	46,66
Aire 1 (control)	31,74	61,77	37,32	55,76
Gas 2 (2,5/5,0)	148,43	150,29	69,09	42,25
Aire 2 (control)	32,25	114,11	44,95	41,62
Gas 3 (80/10)	45,02	56,08	43,85	34,39
Aire 3 (control)3	39,00	43,58	46,27	45,72
Gas (80/20)	74,73	29,11	81,58	34,95
Aire 4 (control)	106,16	39,97	34,38	39,39
Gas 5 (90/10)	190,48	161,20	33,72	97,90
Aire 5 (control)	70,73	69,55	101,12	145,75

ms: materia seca

La Tabla 12 indica el ANOVA de los efectos de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales frente a su aire control teniendo una diferencia significativa en las mezclas de gases G1 y G2 con respecto a sus aires control, obteniendo así un porcentaje de 66,64 % y 76,06 % respectivamente que corresponden a una concentración baja de oxígeno y dióxido de carbono, cuyas mezclas son de 2,5/2,5 para G1 y 2,5/5,0 para G2.

Tabla 12. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de flavonoides totales promedio del arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.

Flavonoides	AIRE	GAS	DIFERENCIA ABSOLUTA	DIFERENCIA RELATIVA	SIG 95%
A1 vs G1	46,6	77,7	31,1	66,64%	***
A2 vs G2	58,2	102,5	44,3	76,05%	***
A3 vs G3	43,6	44,8	1,2	2,74%	ns
A4 vs G4	55,0	55,1	0,1	0,22%	ns
A5 vs G5	96,8	120,8	24,0	24,83%	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).

Tal como se ve reflejado en los resultados de la Tabla 12, los promedios tanto para el tratamiento G1 y G2 fueron de 77,7 mg/100 g y 102,5 mg/100 g de catequina. Estos valores resultaron mayores que los hallados para las muestras almacenadas en aire, en las cuales los valores de concentración de flavonoides totales fue menor puesto que sus valores se encontraron entre 46,6 mg/100 g (A1) y 58,2 mg/100 g de catequina (A2) (Tabla 12). Estos resultados confirman el estudio realizado por **Ospina y Cartagena (2008)**, según el cual las atmósferas bajas en O₂ disminuyen la tasa respiratoria del arazá, por lo cual favorecen la conservación de los compuestos bioactivos (flavonoides).

4.3. Carotenoides en pulpa y cáscara.

4.3.1. Adaptación del método para análisis de carotenoides totales.

Para el análisis del contenido total de carotenoides se adaptó el método a muestras de pulpa y cáscara de arazá, de característicos colores amarillos, utilizando la metodología descrita en el Capítulo 3. En el extracto obtenido se determinó la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro UV-visible y se calculó la concentración directamente utilizando el coeficiente de extinción molar del β -caroteno.

4.3.2. Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de una muestra liofilizada de pulpa y cáscara arazá con 6 repeticiones siguiendo el método completo y se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación (Tabla 13).

Tabla 13. Resultados del análisis de precisión del método de análisis de carotenoides totales en muestra liofilizada de arazá.

MUESTRA	Arazá pulpa g/100 g ms	Arazá cáscara mg/100 g ms
1	1,99	31,02
2	2,04	30,74
3	2,02	31,24
4	2,03	31,02
5	2,10	30,74
6	2,06	31,24
Promedio	2,04	31,00
Desv. estándar	0,037	0,22
Coef. Var (%)	1,80	0,72

ms=materia seca

Observando los resultados de la Tabla 13 se determinó que el coeficiente de variación en el ensayo de repetibilidad fue de 1,80 %, para la pulpa y 0,72 % para cáscara, valores que están dentro de los límites permitidos para la concentración medida (mg/100 g) de acuerdo a la ecuación de Horwitz (12 %), por lo cual el método tuvo la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.3.3. Exactitud

Para el análisis de exactitud como porcentaje de recuperación se realizó la determinación del número de ciclos de extracción necesarios para obtener el 100% de rendimiento de extracción de los carotenoides en pulpa y en cascara en cada una de las matrices estudiadas para esta investigación (Figura 7).

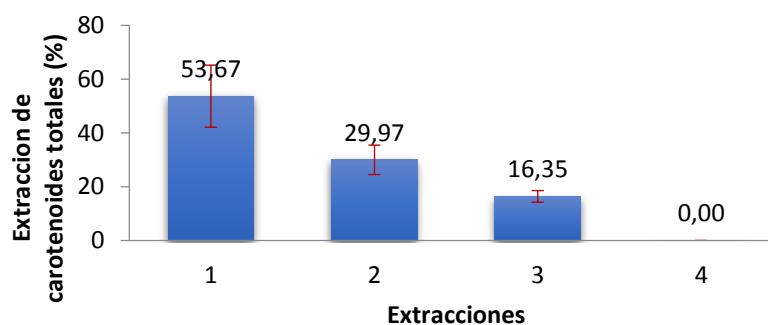


Figura 7. Recuperación de los carotenoides totales en muestra de pulpa liofilizada de arazá en función de los ciclos de extracción

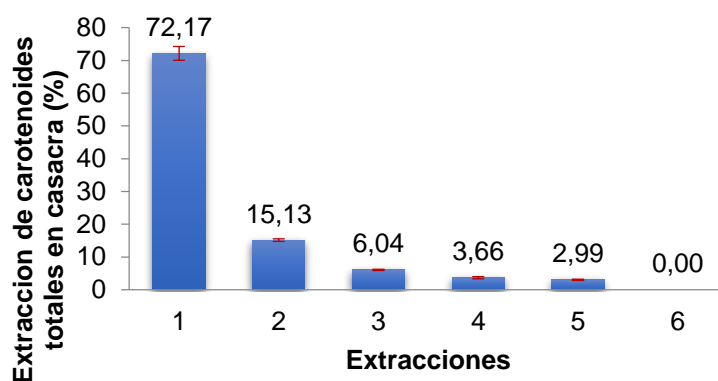


Figura 8. Recuperación de los carotenoides totales en muestra liofilizada de cascara de arazá en función de los ciclos de extracción

Observando los resultados de la Figura 7, se estableció que para el caso de la pulpa de arazá se requirió 3 ciclos de extracción y para la cáscara de arazá se necesitó 5 ciclos de extracción tal como lo indica la Figura 8 acompañados de 3 minutos por vórtex y 5 minutos en baño ultrasonido para obtener el 100 % de recuperación de los carotenoides. Con estos resultados se determinó que el método fue robusto puesto que presentó la precisión y exactitud adecuada para el nivel de concentración medido.

4.3.4. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales en pulpa de arazá.

En la Tabla 14 se presentan los resultados promedio del análisis de carotenoides totales en muestras de pulpa de arazá almacenados en refrigeración por 10 días en diversas atmósferas modificadas (AM) con su respectivo testigo. Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 14. Resultados de carotenoides totales en muestra liofilizada de pulpa de Arazá almacenado 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.

MEZCLA GASEOSA	Carotenoides Totales (mg/100g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
Gas 1 (2,5/2,5)	3,2	3,3	2,8	2,9
Aire 1 (control)	3,1	3,6	3,9	2,7
Gas 2 (2,5/5,0)	1,3	1,2	1,9	1,6
Aire 2 (control)	2,3	1,6	2,9	2,6
Gas 3 (80/10)	2,0	1,8	2,2	2,3
Aire 3 (control)	2,1	2,2	2,4	2,1
Gas (80/20)	2,2	2,0	1,6	1,7
Aire 4 (control)	1,8	1,7	1,6	1,9
Gas 5 (90/10)	1,3	1,7	2,2	1,8
Aire 5 (control)	1,7	2,2	1,7	0,9

ms: materia seca

La Tabla 15 muestra el ANOVA de los valores medios tanto de las mezclas gaseosas como las del aire control durante 10 días de almacenamiento a una temperatura de 12 °C. De igual manera se observó que las atmósferas modificadas influyen sobre el contenido de carotenoides totales en la pulpa de arazá, teniendo así una diferencia significativa en la mezcla gaseosa 2,5 O₂/5 CO₂ (G2) con respecto a su aire control. En los restantes tratamientos no existió influencia alguna sobre la concentración de carotenoides ya que no se observaron diferencias significativas.

Tabla 15. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales promedio de pulpa de arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.

Carotenos Pulpa	AIR E	GAS	DIFERENCIA ABSOLUTA	DIFERENCIA RELATIVA	SIG 95%
A1 vs G1	3,3	3,1	-0,3	-8,17 %	Ns
A2 vs G2	2,3	1,5	-0,8	-36,32 %	***
A3 vs G3	2,2	2,1	-0,1	-5,97 %	Ns
A4 vs G4	1,8	1,9	0,1	6,28 %	Ns
A5 vs G5	1,6	1,8	0,1	7,11 %	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).

Al analizar el contenido de carotenoides en la pulpa de arazá se pudo observar que con la mezcla gaseosa 2,5 % O₂ y 5 % CO₂ se obtuvo un resultado promedio de 1,5 mg β-caroteno /100 g ms que fue un valor menor al de la muestra control que tuvo una media de 2,3 mg β-caroteno /100 g ms. Según **Hernández, et al. (2004)** para el desarrollo de carotenoides es necesario la degradación de la clorofila que se da por la acción de las enzimas clorofilasas, las cuales son degradadas al incrementarse el pH del interior de la célula. Según lo reportado por **Sánchez (2017)**, el efecto de las atmósferas con baja concentración de oxígeno no llegaron a aumentar significativamente el pH de la pulpa de arazá almacenado bajo esta mezcla gaseosa, por lo que hay que pensar que el efecto inhibitor podría más bien deberse a la baja concentración de oxígeno, que afectaría al rendimiento de la actividad de las enzimas (**Barreiro y Sandoval, 2006**).

4.3.5. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales en cáscara de arazá.

En la Tabla 16 se presentan los resultados promedio del análisis de carotenoides totales en muestras de cáscara de arazá almacenados en refrigeración por 10 días en diversas atmósferas modificadas (AM) con su respectivo testigo. Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 16. Resultados de Carotenoides Totales en muestra liofilizada de cáscara de Arazá por 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.

MEZCLA GASEOSA	Carotenoides totales en cáscara (mg/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
Gas 1 (2,5/2,5)	29,51	26,58	16,46	19,57
Aire 1 (control)	25,91	23,72	24,95	21,21
Gas 2 (2,5/5,0)	14,81	13,56	15,50	18,44
Aire 2 (control)	11,34	12,67	17,05	18,31
Gas 3 (80/10)	15,54	13,86	14,36	16,99
Aire 3 (control)	13,53	17,57	18,22	15,42
Gas (80/20)	20,01	14,60	12,95	16,25
Aire 4 (control)	17,40	18,39	16,10	15,85
Gas 5 (90/10)	16,05	16,70	16,19	20,63
Aire 5 (control)	14,78	14,62	15,71	17,73

ms: materia seca

La Tabla 17 muestra el ANOVA de los valores medios tanto de las mezclas gaseosas como las del aire control durante 10 días de almacenamiento a una temperatura de 12 °C. De igual manera se observa que el efecto de las atmósferas modificadas influyó sobre el contenido de carotenoides totales en la cáscara de arazá, teniendo así una diferencia significativa entre la mezcla gaseosa 90 O₂/10 CO₂ (G5) y su aire control. En los tratamientos sobrantes no existió influencia alguna sobre la concentración de carotenoides totales en cáscara de arazá ya que no se apreció existencia de diferencias significativas.

Tabla 17. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de carotenoides totales promedio del arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.

Carotenos cáscara	AIRE	GAS	DIFERENCIA ABSOLUTA	DIFERENCIA RELATIVA	SIG 95%
A1 vs G1	23,9	23,0	-0,92	-3,85 %	ns
A2 vs G2	14,8	15,6	0,73	4,92 %	ns
A3 vs G3	16,2	15,2	-1,00	-6,21 %	ns
A4 vs G4	16,9	15,9	-0,99	-5,83 %	ns
A5 vs G5	15,7	17,4	1,68	10,70 %	***

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).

El contenido de carotenoides totales en la cáscara de arazá se vio influenciada por el tratamiento 90 O₂/10 CO₂ (G5), ya que como se observa en la Tabla 17, la media del gas 17,4 mg/100 g fue mayor a la del aire control 15,7 mg/100 g, por lo tanto dicho tratamiento no ayudó a detener la síntesis de carotenos sino aceleró dichas reacciones. Según **Meléndez et al. (2004)** los carotenoides son inestables con la presencia de oxígeno, al contener 9 o más enlaces conjugados inactivan ciertas formas reactivas de oxígeno. En este sentido el β-caroteno se diferencia del resto de antioxidantes, por ser más efectivo a bajas concentraciones de oxígeno.

4.4. Clorofila total

4.4.1. Adaptación del método de análisis de clorofila total

Para el análisis de clorofila total se procedió a la extracción del analito de la cáscara de arazá, utilizando la metodología descrita en el capítulo 3.

4.4.2. Precisión

Para determinar la precisión del método, se realizó el análisis de una muestra liofilizada de cáscara de arazá con 6 repeticiones siguiendo el método de clorofila total, estableciéndose la desviación estándar y el coeficiente de variación del método (Tabla 18).

Tabla 18. Resultados del análisis de precisión del método de análisis de clorofila total.

MUESTRA	Clorofila Total (mg/100 g ms)
1	40,68
2	41,55
3	43,12
4	39,84
5	40,78
6	41,48
SUMATORIA	165,19
Promedio	41,24
Desv. estándar	1,40
Coef. Variación (%)	3,40

ms: materia seca

Observando los resultados de la Tabla 18, se determinó que el error máximo obtenido en el ensayo de repetibilidad fue de 3,40 %, 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 estableció que el método tiene la precisión adecuada para realizar el análisis.

4.4.3. Exactitud

Para el análisis de la exactitud como porcentaje de recuperación, se determinó el número de ciclos de extracción necesarios para la obtención del 100 % de rendimiento de extracción de clorofila total (Figura 10).

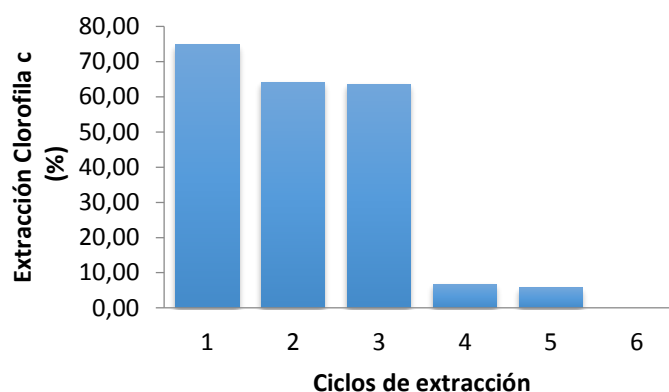


Figura 9. Resultados del ensayo de recuperación de clorofila total

Observando la Figura 10, se estableció 5 ciclos de extracción, para obtener el 100 % de recuperación de clorofila. Con estos resultados se determinó que el método fue robusto, puesto que presentó una exactitud y precisión adecuada para el nivel de concentración que se requirió determinar.

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

En la Tabla 19 se presentan los resultados promedio del análisis de clorofila total en muestras de cáscara de arazá almacenado en refrigeración por 10 días en diversas atmósferas modificadas (AM) con su respectivo testigo. Con estos resultados se realizó el análisis estadístico.

Tabla 19. Resultados de Clorofila Total en muestra liofilizada de cáscara de Arazá por 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C

MEZCLA GASEOSA	Clorofila total en Cáscara (mg/100 g ms)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10
Gas 1 (2,5/2,5)	122,92	80,98	83,04	96,39
Aire 1 (control)	87,48	85,00	83,97	84,24
Gas 2 (2,5/5,0)	103,01	92,23	100,70	111,42
Aire 2 (control)	69,65	64,20	82,16	85,77
Gas 3 (80/10)	98,33	71,72	86,45	96,54
Aire 3 (control)	86,12	92,65	89,73	70,80
Gas (80/20)	69,95	88,29	77,96	112,26
Aire 4 (control)	83,22	91,28	112,30	91,92
Gas 5 (90/10)	92,61	90,55	96,79	97,69
Aire 5 (control)	73,74	97,26	90,50	90,74

ms: materia seca

La Tabla 20 muestra el ANOVA de los valores medios tanto de las mezclas gaseosas como las del aire control durante 10 días de almacenamiento a una temperatura de 12 °C. De igual manera se observa que las atmósferas modificadas influyeron, sobre el contenido de clorofila total en cáscara de arazá teniendo así una diferencia significativa entre la mezcla gaseosa 2,5 O₂/5 CO₂ (G2) y su aire control. En los tratamientos sobrantes no existió influencia alguna sobre la concentración de clorofila total en cáscara de arazá ya que no existió diferencia significativa.

Tabla 20. Efecto de las atmósferas modificadas sobre el contenido de clorofila total promedio de cáscara de arazá durante 10 días de almacenamiento refrigerado a 12 °C.

Clorofila total	AIRE	GAS	DIFERENCIA ABSOLUTA	DIFERENCIA RELATIVA	Sig. 95 %
A1 vs G1	85,17	85,15	-0,02	-0,02 %	Ns
A2 vs G2	75,45	101,84	26,40	34,99 %	***
A3 vs G3	84,83	88,26	3,43	4,05 %	Ns
A4 vs G4	94,68	87,11	-7,57	-7,99 %	Ns
A5 vs G5	88,06	94,41	6,35	7,21 %	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).

La Tabla 20 permite apreciar el contenido de clorofila total promedio de cáscara de arazá sometida a diferentes mezclas gaseosas con su control, se observa que existió diferencia significativa en el tratamiento G2 que corresponde a 2,5 O₂/5 CO₂, donde se apreció un mayor contenido de clorofila (34,99 %) respecto al aire control. Esto se debe a la baja concentración de oxígeno en el tratamiento. Lo contrario sucedió con concentraciones altas de oxígeno debido a que la degradación de la clorofila es afectada por el oxígeno y su acción enzimática se activa en condiciones de estrés fisiológico, como la senescencia y almacenamiento prolongado de las frutas, al incrementar la actividad respiratoria y climática de las frutas (**Barreiro y Sandoval, 2006**).

4.5. Selección de la mejor atmósfera modificada para la conservación de compuestos bioactivos del arazá.

Tras la realización de todos los análisis estadísticos pertinentes para la elección del mejor tratamiento entre las mezclas gaseosas en orden a optimizar la conservación de los diferentes compuestos bioactivos estudiados en el experimento, se procedió a dar una puntuación +1 a un resultado favorable a la atmósfera modificada frente a su control, 0 cuando no se encontraron diferencias significativas y un valor -1 a un resultado desfavorable a la atmósfera modificada frente a su control (Tabla 21).

Tabla 21. Diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones medias de los compuestos bioactivos de los 5 tratamientos gaseosos.

Tratamientos	PFT pulpa	FT pulpa	CT pulpa	CT cáscara	ClorT cáscara	TOTAL
Gas1 vs A1	+1	+1	0	0	0	+2
Gas2 vs A2	+1	+1	-1	0	+1	+3
Gas3 vs A3	+1	0	0	0	0	+1
Gas4 vs A4	+1	0	0	0	0	+1
Gas5 vs A5	0	0	0	+1	0	+1

+1: diferencia significativa a favor del bioactivo almacenado en Mezcla de Gases; 0: no tiene diferencia significativa del bioactivo entre Mezcla de Gases y aire; -1: diferencia significativa en contra del bioactivo almacenado en mezclas gaseosas; PFT: polifenoles totales; FT: flavonoides totales; CT: carotenos totales ClorT: clorofila total.

Al observar la Tabla 21 con las diferentes puntuaciones se pudo determinar que la mezcla gaseosa idónea para el almacenamiento y conservación de la mayoría de compuestos bioactivos (polifenoles, flavonoides, carotenoides en pulpa y clorofila en pulpa) del arazá fue la compuesta por 2,5% O₂ / 5% CO₂.

4.5.1. Análisis de polifenoles totales en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O₂ / 5 % CO₂.

En la Figura 10 se puede apreciar que los polifenoles llegaron a su concentración máxima el día 4, incrementando 1,5 veces su concentración desde el día 1 hasta el día 4, es decir se produjo biosíntesis de polifenoles por efecto de maduración y luego de eso comenzaron a oxidarse a partir del día siete.

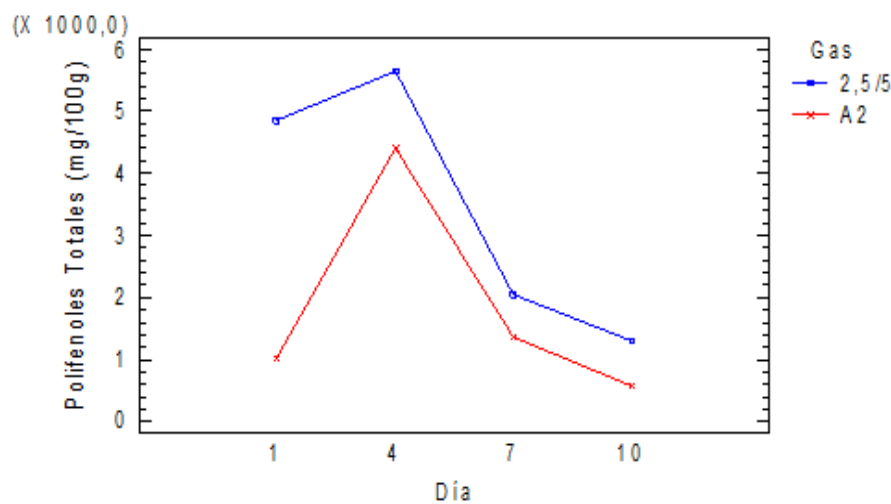


Figura 10. Evolución del contenido de polifenoles totales de pulpa de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O₂ / 5 % CO₂.

Según **Carriel et al. (2014)**, las frutas que tengan altos niveles de compuestos polifenólicos son más susceptible al ataque de la enzima polifenol oxidasa que es la responsable de la oxidación provocando el pardeamiento de frutos; por lo cual como se describió anteriormente en el día cuatro el fruto tuvo un alto contenido de polifenoles y es donde la enzima comenzó a actuar.

De igual manera la Figura 10 indica que la cantidad de polifenoles en el día 1 tiene una amplia diferencia entre el tratamiento de aire como el de mezclas gaseosas. Esto se dio porque disminuyó la concentración de O₂, lo cual redujo

las reacciones enzimáticas del pardeamiento, y el aumento de la concentración de CO₂ inhibió la síntesis de metabolitos fenólicos. Mientras que en el aire control existe mayor disponibilidad de oxígeno, lo cual ayudo a que se aceleren las reacciones enzimáticas que se dan por la polifenol oxidasa (Pérez, 2003).

4.5.2. Análisis de flavonoides totales en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O₂ / 5 % CO₂.

En la Figura 11 se presenta la evolución de los flavonoides totales en pulpa de arazá, alcanzando los valores máximos los días 1 y 4 ya que incrementaron 1,06 veces su contenido. Después del 4^o día los flavonoides empezaron a degradarse por efecto de la sobremaduración o senescencia (Barreiro y Sandoval, 2006).

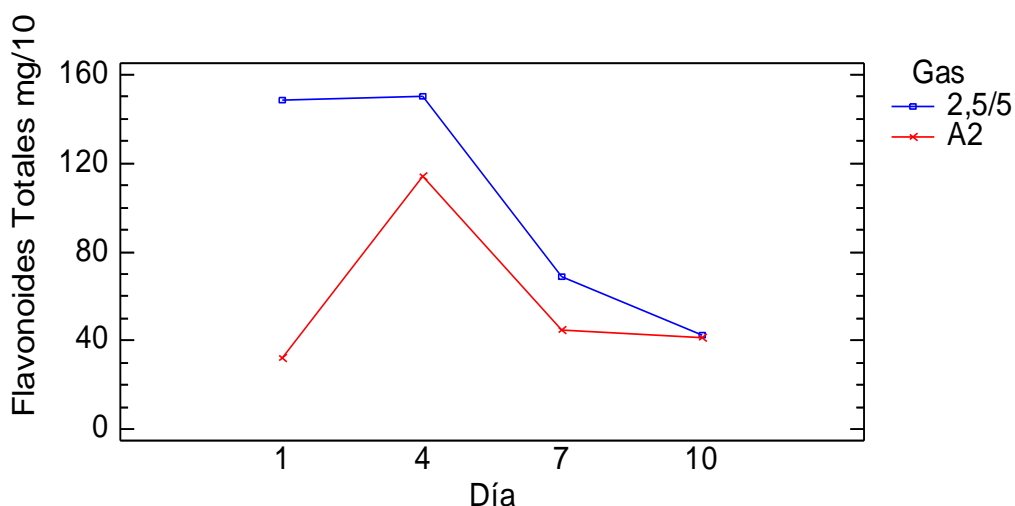


Figura 11. Evolución del contenido de flavonoides totales de pulpa de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O₂ / 5 % CO₂..

La degradación de los flavonoides fue debido a que los frutos contenían catequinas y quercetinas que son sustratos para la polifenoloxidasas (PPO), que es la enzima encargada del pardeamiento enzimático. Esto se observó en la Figura 11 que después del día 4 es donde existió mayor cantidad de

compuestos fenólicos y es por eso que la actividad de la enzima polifenoloxidasas es más notoria en el experimento. Esto se corroboró con la investigación de **Nidelvia et al. (2011)**, mientras la concentración de compuestos fenólicos decrece, la actividad de la enzima polifenoloxidasas (PPO) disminuye, lo que sugiere que la enzima PPO utiliza estos compuestos como sustrato para formar quinonas, disminuyendo sensiblemente la actividad de la enzima PPO cuando las concentraciones del sustrato son cercanas a cero.

4.5.3. Análisis de carotenoides totales en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O₂ / 5 % CO₂.

En la Figura 12 se observa la evolución del contenido de carotenoides en la pulpa de arazá durante 10 días de almacenamiento, existiendo un incremento de 1,46 veces entre el día 1 y el día 7. Esto se produjo mediante la biosíntesis de carotenos por efecto del proceso de maduración.

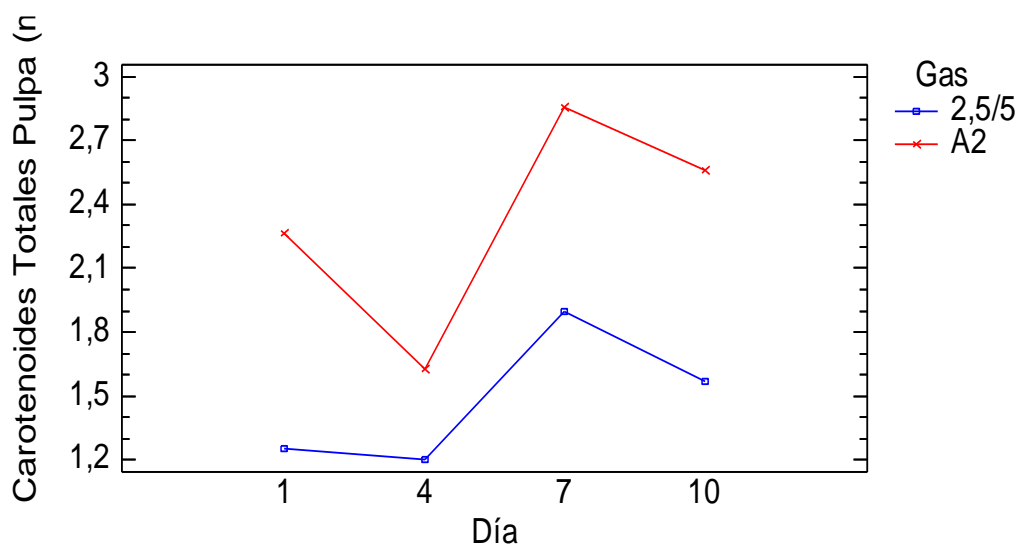


Figura 12. Evolución del contenido de carotenoides totales de pulpa de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O₂ / 5 % CO₂.

Tal como lo indican **Ligia et al. (2010)**, a medida que el estado de madurez de las frutas aumenta la cantidad de carotenos evoluciona de igual manera. A partir del día 7 el contenido de carotenos disminuyó por efecto de la

sobremaduración, fase en la que el fruto entra en senescencia debido a reacciones de oxidación.

Las reacciones de oxidación son la causa principal para la degradación o pérdida de carotenoides, dependiendo de la disponibilidad del oxígeno, luz, humedad y temperatura. Estos procesos oxidativos implican reacciones de epoxidación, formación de apocarotenoides (carotenoides de menos de 40 átomos de carbono) e hidroxilación, dando como resultado compuestos de bajo peso molecular. Debido a esto los carotenoides pierden su color y propiedades beneficiosas para la salud, pero a su vez se desarrollan compuestos aromáticos, en unos casos agradables, y en otros no (Meléndez, et al., 2004).

4.5.4. Análisis de clorofila total en pulpa de arazá almacenado 10 días a 12 °C bajo el tratamiento 2,5 % O₂/ 5 % CO₂.

La fruta sometida a la atmósfera 2,5 % O₂/ 5,0 % CO₂ obtuvo un contenido alto de clorofila total en la cáscara de arazá. Esto se ve reflejado en la Figura 13 en la cual se puede observar que la concentración de clorofila se mantuvo hasta el día 10.

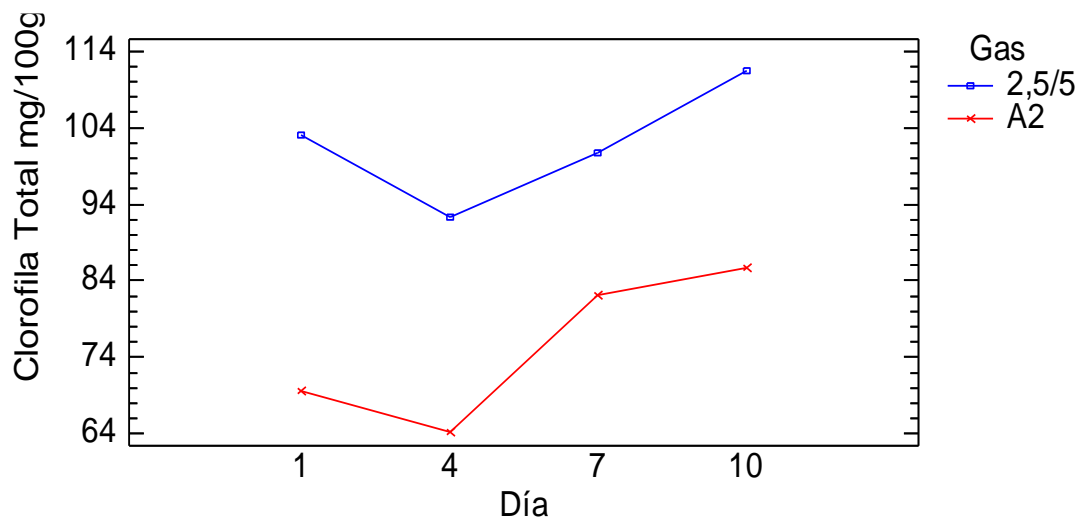


Figura 13. Evolución de clorofila total de cascara de arazá almacenado durante 10 días de almacenamiento a 12 °C en aire (A2) y bajo la atmósfera modificada 2,5 % O₂ /5 % CO₂.

Al aplicar concentraciones bajas en O₂ y altas CO₂ se afectan diversos procesos del metabolismo secundario, en este caso el metabolismo de los pigmentos. Esto quiere decir que bajo las atmósferas bajas en oxígeno se produjo una reducción de la degradación de la clorofila, tal como se observó también en el trabajo de **Hernández et al. (2010)**. La degradación de clorofila se ve afectada por varios factores como la luz, la temperatura, el pH, el oxígeno o la acción de ciertas enzimas. En relación a los factores mencionados anteriormente, se observa en la Figura 13 que probablemente hubo una menor actividad de la enzima clorofilasa en la atmósfera 2,5/2,5, ya que esta reduce su actividad al tener baja disponibilidad de oxígeno (**Barreiro y Sandoval, 2006**), aspecto concomitante con la reducción de la tasa respiratoria observada también por **Sánchez (2017)** trabajando con la misma fruta.

4.6. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

- La aplicación de las diferentes combinaciones gaseosas mediante atmósferas modificadas durante 10 días de almacenamiento a 12 °C influye en el contenido de polifenoles, por lo cual se acepta la hipótesis alternativa. Existió una excepción correspondiente al tratamiento 80 % O₂/ 20 % CO₂, el cual no presentó diferencias significativas con respecto al aire control.
- Las frutas almacenadas bajo las atmósferas modificadas 80/10, 80/20, 90/10, no sufrieron cambios significativamente diferentes en el contenido de flavonoides en relación a las almacenadas en aire, mientras que la fruta almacenada bajo las mezclas gaseosas 2,5/2,5 y 2,5/5,0 y 90/10, mostraron diferencias significativas, por lo que se acepta la hipótesis alternativa.
- El contenido de carotenoides en pulpa de arazá presentó únicamente diferencias significativas en el tratamiento G2 (2,5/5,0) respecto al control, no observándose diferencias en el resto de mezclas gaseosas, aceptándose por tanto la hipótesis alternativa.
- Las combinaciones gaseosas no influenciaron de forma significativa en el contenido de carotenoides totales en la cáscara de la fruta. En el tratamiento G5 (90/10) se observaron diferencias significativas en este atributo, debido a esto se aceptó la hipótesis alternativa.

- El contenido de clorofila de la fruta se vio influenciado significativamente por la combinación gaseosa G2 (2,5/5,0), por lo que se aceptó la hipótesis alternativa. En el resto de los tratamientos no se obtuvo ninguna diferencia significativa del atributo descrito anteriormente.

CAPÍTULO V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El uso de atmósferas modificadas con bajas concentraciones de oxígeno contribuyó de forma positiva a mantener la composición bioquímica del fruto del arazá, mientras que las atmósferas ricas en oxígeno proporcionaron resultados adversos.
- Se consiguió adecuar y validar las diferentes técnicas analíticas para la determinación del contenido de carotenoides, clorofila, flavonoides y polifenoles en cáscara y pulpa de arazá. Para ello, se verificó la linealidad de las curvas de calibración y se determinó el número de extracciones necesarias para recuperar el 100 % de los compuestos bioactivos presentes, así como la precisión y exactitud de los métodos, de acuerdo a los criterios de Horwitz.
- La atmósfera óptima para mantener el contenido de carotenoides en cáscara resultó ser la mezcla gaseosa 90 % O₂/10 % CO₂, mientras que para optimizar el contenido de clorofila, la mezcla gaseosa 2,5 % O₂/5 % CO₂ resultó ser la mejor.
- Las atmósferas que optimizaron el contenido de polifenoles y flavonoides en pulpa resultaron ser las más bajas en oxígeno 2,5 % O₂ /2,5 CO₂ y 2,5 % O₂ /5 % CO₂, mientras que, por el contrario, las atmósferas ricas en oxígeno degradaron más rápidamente estas especies químicas.
- La atmósfera que permitió alcanzar un mejor resultado global respecto a las variables bioquímicas estudiadas resultó ser la atmósfera 2,5 % O₂ /5 % CO₂, optimizando el contenido de polifenoles, flavonoides y clorofilas totales durante un almacenamiento de 10 días en refrigeración (12 °C).

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda cosechar los frutos de la manera más homogénea, es decir de un solo estado de madurez para que no exista variabilidad en los resultados de la experimentación.
- Se recomienda utilizar combinaciones gaseosas bajas en oxígeno para retardar el metabolismo oxidativo y poder alargar su vida útil.
- Realizar los análisis de los compuestos bioactivos en lugares con la menor luz posible ya que este es un factor que influye en los análisis.

CAPITULO VI.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acero, E. (2006). *Nayarit: reforma y desarrollo* (Vol. 2): Univ. Autónoma de Nayarit.
- Acevedo, E. M. C. y Arenas, C. J. (2015). CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL FRUTO DE ARAZÁ (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). *Ingenierías & Amazonia*, 6(2).
- Almenar, M. I. V., Rodie, J. U., Cortada, G. E., Sarle, J. G., Ayala, I. L. y Ginjuan, D. I. R. (2013). *Poscosecha de pera, manzana y melocotón*: Mundi-Prensa Libros.
- Angós, I., Vírseda, P., y Fernández, T. (2008). Control of respiration and color modification on minimally processed potatoes by means of low and high O₂/CO₂ atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 48(3), 422- 430. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.019>
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiol*, 24(1), 1-15.
- Barreiro, J. y Sandoval, A. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*: Equinoccio.
- Calero, F. (2006). El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 7(2), 61-85.
- Campbell, N. A. y Reece, J. B. (2007). *Biología*: Ed. Médica Panamericana.
- Carriel, J. M., Obrebska, A. A., Rodríguez, J. E. N., Patiño, M. S. C., Pico-Saltos, R. y Bru-Martínez, R. (2014). Distribución, localización e inhibidores de las polifenol oxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Ciencia y Tecnología*, 7(1), 23-31.
- Coronel, C. (2001). *Compendio de recomendaciones tecnologicas para los principales cultivos de la Amazonia ecuatoriana* (Primera Edicion ed.).
- Cozzano, S. (2009). Impacto del proceso de microfiltración tangencial sobre los compuestos antioxidantes en jugos de frutas. *Santiago: Proyecto PAVUC-Universidad de Chile*.
- Cuéllar, F. A. y Anzola, C. (2012). Comparación de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* Mc vaugh) durante la maduración. *Vitae*, 19(1).

- Espín Chávez, S. P. y Alvarez Bonilla, P. S. (2007). *Estudio de factibilidad para la comercialización internacional de los concentrado y/o mermelada de arazá, a los Estados Unidos*. Escuela Politecnica Nacional Quito-Ecuador
- Espín, S. y Samaniego, I. (2016). Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao. In Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Ed.), *Ministerio de Agricultura Ganadería Acuacultura y Pesca*, (Vol. 105). Quito, Ecuador: Imprenta San Mateo.
- Fernández-Trujillo, J. P., Hernández, M. S., Carrillo, M. y Barrera, J. (2011). Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). En: E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 98-117e). E. M. Yahia: Woodhead Publishing.
- García, H. (2007). Comportamiento de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en poscosecha bajo condiciones de atmósfera modificada activa.
- Garzón, G. A., Narváez-Cuenca, C.-E., Kopec, R. E., Barry, A. M., Riedl, K. M. y Schwartz, S. J. (2012). Determination of carotenoids, total phenolic content, and antioxidant activity of Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), an Amazonian fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(18), 4709-4717.
- Guevara, J. (2017). *Mejora de la conservación postcosecha de la naranjilla (Solanum quitoense Lam.) mediante atmósferas modificadas*. Tesis Grado, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).
- Hernández, M., Arjona, H., Martínez, O. y Fernández-Trujillo, J. (1999). 395 Storage Disorders of Arazá Fruit (*Eugenia stipitata* Mc. Vaugh) Related to Postharvest Treatments. *HortScience*, 34(3), 512-512.
- Hernández, M., Barrera, J., Carrillo, M., Bardales, X., Martínez, O. y Fernández-Trujillo, J. (2007). *Manejo, uso y aprovechamiento de frutales nativos de la Amazonia Colombiana*. Paper presented at the V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, Cartagena, Murcia, España.
- Hernández, M., Barrera, J., Martínez, O., Fernández-Trujillo, J. y Hernández, M. (2006). Maduración y métodos de conservación de arazá. En: *MS Hernández, JA Barrera, MP Carrillo y JP Fernández-Trujillo (eds.), Arazá, Origen, Fisiología y Conservación. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi. Bogotá DC, 67-104.*
- Hernández, M., Barrera, J. y Melgarejo, L. (2010). *Fisiología poscosecha*.
- Hernández, M. S., Barrera, J. A. y Carrillo, M. (2004). *Arazá: Origen y fisiología de conservación*: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas "SINCHI".

- Hernández, M. S., Barrera, J. A., Páez, D., Ardila, E. O. y Rubio, H. R. (2004). *Aspectos biológicos y conservación de frutas promisorias de la Amazonía colombiana*: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas" SINCHI".
- Hernández, M. S., Barrera, J. A., Trujillo, J. P. F., Carrillo, M. P. y Bardales, X. L. (2007). *Arazá: Manejo y conservación*: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas" SINCHI".
- INEC, M. (2000). SICA. 2002. III CENSO NACIONAL AGROPECUARIO. *Resultados Nacionales y Provinciales. Instituto Nacional y Estadística del Ecuador-INEC, Ministerio de Agricultura y Ganadería-MAG, Servicio de Servicio y Censo Agropecuario-SICA. Quito, Ecuador.*
- Kader, A. (1986). Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food technology (USA)*.
- Kirtil, E., Kilercioglu, M. y Oztop, M. H. (2015). Modified atmosphere packaging of foods. *Reference Module in Food Sciences Elsevier*.
- Laverde Acurio, J. L. (2010). *Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá (Eugenia stipitata), mediante procesos enzimático y membranario*. Escuela Politecnica Nacional, Quito-Ecuador.
- 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. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.052>
- Ligia, R., Lopez, L. y García, M. (2010). Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus* B.), maracuyá (*Passiflora edulis* S.), Guayaba (*Psidium guajava* L.) y papayuela (*Carica cundinam*). *Alimentos hoy*, 19(21), 35-42.
- Meléndez, A., Vicario, I. y Heredia, M. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54 (2), 209-215.
- Mena Chimba, N. d. I. D. (2009). *Determinación de índices de madurez para la cosecha y conservación al ambiente, del arazá (Eugenia stipitata) y Borojó (Borojoa patinoi)*. Determinación de índices de madurez para la cosecha y conservación al ambiente, del arazá (*Eugenia stipitata*) y Borojó (*Borojoa patinoi*), Escuela Politecnica Nacional Disponible en <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/1827>
- Montalvo, D. (2011). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolívar [Tesis de pregrado en

Ingeniería Agroindustrial]. *Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador*, 76-124.

Nidelvia, B., Saucedo.Crescenciano y Enrique, S. (2011). Respiración y parámetros relacionados durante la maduración del chicozapote cosechado en la península de Yucatán. *Revista Brasileira de Fruticultura Volumen Especial*, 261-266.

Ospina, S. y Cartagena, J. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de investigación*, 5(2).

Peretó, J. (2007). *Fundamentos de bioquímica* (Vol. 96): Universitat de València.

Pérez, L. (2003). *Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera (variedad Blanquilla) mínimamente procesada*. Tesis de Doctorado. Universidad Politécnica de Valencia. España.

Romero Haro, M. N. y Saquina Pilco, E. I. (2012). *Obtención y conservación de la pulpa de arazá (Eugenia stipitata) utilizando métodos combinados en la planta de frutas y hortalizas de la Universidad Estatal de Bolívar*. Tesis Grado, Universidad Estatal de Bolivar. Disponible en <http://dspace.ueb.edu.ec/handle/123456789/869>

Sánchez, J. (2017). *Mejora de la conservación postcosecha del arazá (Eugenia Stipitata Mc Vaugh) mediante atmósferas modificadas*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos.

Schne, Adriana, Curtis, H. y Barnes, S. (2008). *Curtis Biología: PANAMERICANA*.

Sora, Á. D., Fischer, G. y Flórez, R. (2006). Almacenamiento refrigerado de frutos de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en empaques con atmósfera modificada. *Agronomía colombiana*, 24(2), 306.

Toledo, D. (2010). *Determinación del valor nutritivo y funcional de tres clones seleccionados de araza (Eugenia stipitata) y seis de borojo (Borojoa patinoi), y evaluación del proceso para la obtención de pulpas pasteurizadas y congeladas*. Escuela politecnica nacional

Vargas, A. y Narváez, C. (2005). Antioxidant capacity during the ripening of arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). *Revista Colombiana de Química*, 34(1), 57-65.

Yahia, E. M. (2011). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Fundamental Issues*: Elsevier.

Zaro, M., Túqueres, A., Pillajo, A., Rosales, J. y Jara, S. (2014). *Efectividad de la aplicación de atmósfera modificada para retrasar el deterioro postcosecha de naranjilla mínimamente procesada*. Paper presented at the VIII Congreso Iberoamericano de 8 Tecnología Poscosecha y Agroexportaciones. AITEP, Quito.

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. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

ANEXOS

ANEXO A-1. FOTOGRAFÍAS DE LOS ANÁLISIS DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS (POLIFENOLES, FLAVONOIDES, CAROTENOIDES Y CLOROFILA) EN ARAZÁ







		
<p>Figura 14. Pesaje de muestra liofilizada para su posterior análisis.</p>	<p>Figura 15. Pipeteado de solución extractora</p>	<p>Figura 16. Agitación y homogenización de la muestra.</p>
		
<p>Figura 17. Muestra en baño ultrasónico.</p>	<p>Figura 18. Centrifugado de muestra para análisis.</p>	<p>Figura 19. Balones ámbar con muestra para polifenoles.</p>



Figura 20. Lavado para la separación de hexano y acetona



Figura 21. Solución de clorofila



Figura 22. Medición de soluciones en el espectrofotómetro