



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**SISTEMA DE ATMÓSFERA MODIFICADA PARA EL MANEJO DE
FRUTOS DE ZARZAMORA (*Rubus fruticosus* L.) EN
POSTCOSECHA**

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Presenta:

Angélica Martínez López

Bajo la supervisión de: Salvador Valle Guadarrama, Dr.



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
COMISIÓN DE EXÁMENES PROFESIONALES



Chapingo, Estado de México, octubre de 2018.


**SISTEMA DE ATMÓSFERA MODIFICADA PARA EL MANEJO DE
FRUTOS DE ZARZAMORA (*Rubus fruticosus* L.) EN
POSTCOSECHA**

Tesis realizada por **Angélica Martínez López** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA.**

DIRECTOR: 
DR. SALVADOR VALLE GUADARRAMA

ASESORA: 
DRA. DIANA GUERRA RAMÍREZ

ASESORA: 
DRA. MA. LOURDES ARÉVALO GALARZA

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Generalidades de la zarzamora	3
2.1.1 Origen y distribución.....	3
2.1.2 Disponibilidad y comercialización de la zarzamora.....	3
2.1.3 Desarrollo e índices de cosecha.....	4
2.1.4 Pérdida de peso	5
2.1.5 Sólidos solubles y azúcares totales (SST).....	6
2.1.6 Acidez y pH	6
2.2 Compuestos fenólicos.....	7
2.3 Vida postcosecha del fruto de zarzamora	9
2.4 La refrigeración.....	11
2.5 Significado y efectos fisiológicos de una atmósfera modificada	11
2.6 Situaciones de riesgo del uso de atmósferas modificadas	13
2.7 Uso de microperforado en atmósferas modificadas	14
2.8 Los aceites esenciales y su aplicación en postcosecha	15
2.9 Literatura citada	17
3. EMPAQUES MICROPERFORADOS PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL DE FRUTOS DE ZARZAMORA.....	22
3.1 Introducción	24
3.2 Materiales y métodos.....	25
3.2.1 Material vegetal.....	25
3.2.2 Recipientes y tratamientos utilizados	26
3.2.3 Variables fisiológicas.....	27
3.2.4 Variables químicas	29
3.3 Análisis estadístico	32

3.4	Resultados y discusión	32
3.4.1	Caracterización inicial	32
3.4.2	Condiciones de operación de los sistemas de AM	33
3.4.3	Pérdida de peso	36
3.4.4	Color	39
3.4.5	Firmeza	43
3.4.6	Apariencia	46
3.4.7	Sólidos solubles totales (SST).....	49
3.4.8	Acidez y pH	50
3.4.9	Fenoles solubles totales	53
3.4.10	Antocianinas totales	55
3.4.11	Capacidad antioxidante.....	57
3.5	Conclusiones	60
3.6	Literatura citada	62
4.	USO DE UN ACEITE ESENCIAL PARA EL CONTROL DE HONGOS EN FRUTOS DE ZARZAMORA EN POSTCOSECHA.....	67
4.1	Introducción	69
4.2	Materiales y métodos.....	70
4.2.1	Identificación y aislamiento de hongos	70
4.2.2	Aceite esencial de orégano	70
4.2.3	Evaluación de concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro	70
4.2.4	Evaluación de concentración mínima inhibitoria (CMI) in vivo	71
4.2.5	Análisis estadístico.....	71
4.3	Resultados y discusión	71
4.3.1	Identificación de hongos.....	71
4.3.2	El aceite esencial de orégano	72
4.3.3	Concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro	72
4.3.4	Concentración mínima inhibitoria en fruto (in vivo)	73
4.4	Conclusiones	75
4.5	Literatura citada	76

5. MANEJO DE FRUTOS DE ZARZAMORA EN ATMÓSFERA MODIFICADA CON MICROPERFORADO Y USO DE UN ACEITE ESENCIAL PARA ALARGAR LA VIDA POSTCOSECHA.....	78
Abstract.....	79
5.1 Introducción	80
5.2 Materiales y métodos.....	81
5.2.1 Material vegetal.....	81
5.2.2 Recipientes y tratamientos	81
5.2.3 Variables fisiológicas	82
5.2.4 Variables químicas	83
5.2.5 Análisis estadístico.....	86
5.3 Resultados y discusión	86
5.3.1 Pérdida acumulada de peso.....	86
5.3.2 Firmeza	87
5.3.3 Color	88
5.3.4 Sólidos solubles totales	89
5.3.5 Acidez y pH	89
5.3.6 Apariencia y sabor.....	90
5.3.7 Compuestos fenólicos	92
5.3.8 Capacidad antioxidante	93
5.4 Conclusiones	94
5.5 Literatura citada	95

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Escala de apariencia.	29
Cuadro 2. Caracterización inicial de frutos de zarzamora.	33
Cuadro 3. Valores percentiles (O_2 y CO_2) de la distribución de Fisher con ($\alpha=0.05$) y valores de F correspondientes al análisis de varianza en la evaluación de una atmósfera modificada con microperforado en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C durante 4 y 18 d.	33
Cuadro 4. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en las concentraciones de O_2 y CO_2	34
Cuadro 5. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en la pérdida de peso.	37
Cuadro 6. Valores percentiles de la distribución de Fisher ($F_{0.05}$) con ($\alpha=0.05$) y valores de F correspondientes al análisis de varianza en la evaluación de una atmósfera modificada con microperforado en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4°C durante 4 y 18 d.	39
Cuadro 7. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en luminosidad, cromaticidad y ángulo de tono.	40
Cuadro 8. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en firmeza.....	44
Cuadro 9. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en apariencia.	46
Cuadro 10. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en los SST.....	49
Cuadro 11. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en la acidez y pH.	51

Cuadro 12. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en fenoles solubles totales.....	53
Cuadro 13. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en antocianinas totales.	56
Cuadro 14. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en la capacidad antioxidante.....	58
Cuadro 15. Concentración mínima inhibitoria in vitro para hongos aislados de frutos de zarzamora.....	73
Cuadro 16. Porcentaje de daño, causado por hongos aislados en postcosecha de frutos zarzamora 5 d después de la inoculación	74
Cuadro 17. Escala categórica para evaluar apariencia y sabor en frutos de zarzamora.....	83
Cuadro 18. Pérdida de peso en frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C	86
Cuadro 19. Valores de firmeza para frutos de zarzamora almacenadas por 7d a 23 °C	88
Cuadro 20. Valores de luminosidad, cromaticidad y ángulo de tono para frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C.....	88
Cuadro 21. Valores de sólidos solubles totales para frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C.	89
Cuadro 22. Valores de acidez titulable y pH de frutos de zarzamora almacenadas 7 d a 23 °C.	90
Cuadro 23. Valores de apariencia y sabor en frutos de zarzamora almacenadas siete días a 23 °C.	92
Cuadro 24. Valores de fenoles y antocianinas totales en frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C	93
Cuadro 25. Valores de capacidad antioxidante para frutos de zarzamora almacenadas siete días a 23 °C.	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Frutos de zarzamora.....	4
Figura 2. Estadios de maduración en frutos de zarzamora (Alonso et al., 2012).	5
Figura 3. Representación de una antocianina.....	8
Figura 4 Distribución de tratamientos de los frutos de zarzamora en los envases. A) Testigo, B) tres microperforaciones (M3), C) una microperforación (M1), D) sin microperforación (M0).....	26
Figura 5.Cambios de las concentraciones de A) O ₂ y B) CO ₂ en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencias significativas (p<0.05).	35
Figura 6. Cambios en la pérdida de peso de frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	38
Figura 7. Cambios de la luminosidad en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	41
Figura 8. Cambios de la cromaticidad en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	42
Figura 9. Cambios del ángulo hue en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (Tukey,p<0.05).....	43
Figura 10. Cambios de la firmeza en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	45

Figura 11. Cambios de la apariencia en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	47
Figura 12. Apariencia de los frutos de zarzamora A) día 16, B) día 18 de almacenamiento. Las flechas indican presencia de hongos. Testigo, sin microperforación (M0), una microperforación (M1) y tres microperforaciones (M3).	48
Figura 13. Cambios de los sólidos solubles totales en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).....	50
Figura 14. Cambios de A) la acidez titulable y B) pH en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	52
Figura 15. Cambios de fenoles totales en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	54
Figura 16. Cambios de antocianinas totales en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	57
Figura 17. Cambios en la capacidad antioxidante en A) método ABTS y B) método FRAP para frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (p<0.05).	59
Figura 18. Prueba de cromatografía en capa fina en aceite esencial de orégano.	72
Figura 19. Representación de CMI in vitro para hongos aislados de frutos de zarzamora, 5 d después de la inoculación.	74

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida...

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el financiamiento que se me otorgó para realizar mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Departamento de Ingeniería Agroindustrial y al Departamento de Preparatoria Agrícola, por las facilidades brindadas para la realización de esta investigación.

Al Dr. Salvador Valle Guadarrama, por su apoyo, paciencia y forma de ser, los cuales me permitieron sentirme a gusto durante la realización del proyecto de tesis.

A la Dra. Diana Guerra Ramírez por su asesoría, apoyo y confianza brindados para la realización de este proyecto de tesis.

A la Dra. Ma. Lourdes Arévalo Galarza, por su asesoría, apoyo y compromiso brindados para realizar este trabajo de tesis.

A la Sra. Alejandra Galván, Araceli, Pili, Frida, Daniel y Nestor por su amistad y apoyo en el laboratorio.

A mis compañeras de posgrado Melbys, Prisma, Carolina y Adriana porque logramos ser un equipo a pesar de nuestra diferente forma de ser y pensar.

A mi familia en especial a mi mamá por todos sus consejos, los cuales me han motivado siempre.

DATOS BIOGRÁFICOS

Angélica Martínez López, nació el 08 de junio de 1990 en San Pablo Cuatro Venados, Oaxaca. Realizó sus estudios de educación media superior en el Instituto de Estudios de Bachillerato del Estado de Oaxaca (Plantel 184), posteriormente obtuvo el título de licenciatura de “Ingeniero Agroindustrial” por la Universidad Autónoma Chapingo. Durante el periodo agosto 2016-agosto 2018 formó parte de la Comisión de Alimentación de la Universidad Autónoma Chapingo, desempeñando el puesto de coordinadora del Comedor Central en su segundo año.

RESUMEN GENERAL

SISTEMA DE ATMÓSFERA MODIFICADA PARA EL MANEJO DE FRUTOS DE ZARZAMORA (*Rubus fruticosus* L.) EN POSTCOSECHA

El fruto de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) se caracteriza por un alto valor económico y por poseer propiedades funcionales que contribuyen a mejorar la salud del consumidor. Este fruto presenta alta tasa respiratoria que conlleva a una acelerada senescencia durante el manejo en fresco. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura y del manejo en atmósfera modificada con microperforado (AM-M) sobre el comportamiento postcosecha del fruto de zarzamora, para favorecer el alargamiento de su vida de anaquel. Se condujo un almacenamiento en AM con tres niveles de microperforado a 4 y 23 °C. La presencia de hongos fue el principal factor limitante de la vida postcosecha de los frutos. A 23 °C la vida útil fue de 3 a 4 d, mientras que con AM-M a 4 °C la vida de anaquel se alargó hasta por 18 d. Para reducir la incidencia de hongos se determinó la capacidad inhibitoria de aceite esencial de orégano. Se identificaron tres tipos de hongos (*Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius* y *Penicillium digitatum*) como causantes del daño postcosecha. La CMI *in vitro* fue 0.4, 0.2 y 0.2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para *A. carbonarius*, *A. alternata*, y *P. digitatum*, respectivamente. En pruebas *in vivo* la CMI del crecimiento de los tres hongos fue de 0.8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de aceite esencial. Se evaluó el efecto de un empaque activo basado en AM-M y la incorporación de un aceite esencial como agente antimicrobiano para disminuir el daño causado por hongos a 23 °C. La vida postcosecha a esta temperatura fue de 5 a 6 d con buenas características fisiológicas y químicas, aunque con ligeras variaciones en el sabor de los frutos. El manejo de frutos de zarzamora en refrigeración con AM-M es una alternativa adecuada para alargar la vida útil de los frutos.

Palabras clave: Incidencia de enfermedades, almacenamiento, aceites esenciales, concentración mínima inhibitoria, empaque activo.

Tesis de Maestría en Ciencias, Programa en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo
Autora: Angélica Martínez López

Director de Tesis: Salvador Valle Guadarrama, Dr.

GENERAL ABSTRACT

MODIFIED ATMOSPHERE SYSTEM TO THE HANDLING OF BLACKBERRY (*Rubus fruticosus* L.) FRUIT IN POSTHARVEST

The fruit of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) is characterized by a high economic value and by having functional properties that contribute to improving consumer health. This fruit has a high respiratory rate that leads to an accelerated senescence during handling in fresh. The objective of this work was to evaluate the effect of temperature and management in modified atmosphere with microperforated (AM-M) on the post-harvest behavior of the blackberry fruit, to favor the lengthening of its shelf life. A MA-M storage was conducted with three microperforation levels at 4 and 23 °C. The presence of fungi was the main limiting factor of the postharvest life of fruit. At 23 °C shelf life was 3-4 d, while with AM-M at 4 °C shelf life was extended up to 18 d. To reduce the incidence of fungi the inhibitory capacity of oregano essential oil was determined. Three types of fungi (*Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius* and *Penicillium digitatum*) were identified as causing postharvest damage. The MIC *in vitro* was 0.4, 0.2 and 0.2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ for *A. carbonarius*, *A. alternata*, and *P. digitatum*, respectively. *In vivo* tests the MIC of the growth of the three fungi was 0.8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of essential oil. The effect of an active package based on AM M was evaluated and the incorporation of an essential oil as an antimicrobial agent to reduce the damage caused by fungi at 23 ° C. The post-harvest life at this temperature was 5 to 6 d with good physiological and chemical characteristics, although with slight variations in the taste of the fruits. The management of fruits of blackberry in refrigeration with AM-M is an adequate alternative to extend the useful life of the fruits.

Key words: Incidence of diseases, storage, essential oils, minimum inhibitory concentration, active packaging.

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Tehnology.
Universidad Autónoma Chapingo, Mexico
Author: Angélica Martínez López
Thesis Director: Salvador Valle Guadarrama, Dr.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) pertenece a la familia de las Rosáceas y comercialmente se clasifica dentro del grupo de las *berries* o frutillas, junto con la frambuesa, el arándano, la mora, grosella, fresa y zarzaparrilla (Ibarra, Romero, Jaime & Hurtado, 2013). Estos frutos son fuente de 9.61 g de carbohidratos, 5.3 g de fibra y 1.39 g de proteína, minerales importantes como potasio (162 mg) y calcio (29 mg), así como de vitaminas, principalmente de ácido ascórbico (USDA, 2018).

En México las frutillas son de gran importancia, ya que son el cuarto grupo de productos agroalimentarios con mayor presencia en mercados internacionales. En 2016, México exportó un volumen de producción que generó divisas por 1,746 millones de dólares. Asimismo, México es el 4° productor de frutillas a nivel mundial (arándano azul, arándano rojo, fresa, frambuesa, grosella y zarzamora), con un fuerte potencial de crecimiento (SIAP, 2017).

En los últimos 10 años, la zarzamora ha ido tomando relevancia y su producción ha aumentado considerablemente, pasando de 44 mil toneladas en 2007 a 249 mil toneladas para el 2017, con un crecimiento de 101.9 %. De esta producción el 97.7 % se concentrada en el estado de Michoacán, generando cerca de 65 mil empleos directos para el manejo de esta frutilla (SIAP, 2017).

La importancia de la zarzamora radica en su alta rentabilidad por su alto precio, 12 empaques de 6 onzas (170 g) con valor de \$ 10-14 US al embarque y \$ 28 US en mercado final en los Estados Unidos, siendo México el principal proveedor de esta frutilla a Estados Unidos, con el 90 % del total comercializado (SIAP, 2017; USDA, 2018).

La creciente demanda de zarzamora se debe a sus principales metabolitos secundarios, ya que posee flavonoides como catequina, epicatequina y quercetina, así como cianidina y pelargonidina, como principales antocianinas (USDA, 2018). Al respecto, el consumo de estos compuestos tiene un efecto positivo en el combate de ciertas enfermedades.

La zarzamora tiene corta vida de anaquel, lo cual limita su comercialización para consumo en fresco. Por ello, requiere de condiciones coordinadas para mantener su calidad y disminuir las pérdidas postcosecha. Los métodos de conservación se centran en hacer una combinación adecuada de temperatura, humedad y mezcla de gases entre otros, que mantengan la calidad e inocuidad de los frutos (Mahajan et al., 2017).

La refrigeración es uno de los métodos más utilizados para alargar la vida postcosecha de frutas y verduras. Sin embargo, existen otros que pueden utilizarse o servir de complemento a la refrigeración, tales como: recubrimientos comestibles a base de polisacáridos, proteínas y lípidos principalmente; atmósferas modificadas y controladas, y embalajes activos en los cuales se puede adicionar algún antioxidante o antimicrobiano (Yousuf, Qadri & Srivastava, 2018).

Dada a la alta perecibilidad de la zarzamora y las propiedades nutraceuticas que este fruto aporta, es importante darle un adecuado manejo postcosecha. Por lo tanto, la conservación del fruto preocupa a los productores y comercializadores de este rubro. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura y del manejo en atmósfera modificada con microperforado (AM-M) sobre el comportamiento postcosecha del fruto de zarzamora, para prolongar la vida de anaquel. Para esto en el primer capítulo se evaluó el efecto de uso de sistemas de atmósfera modificada con microperforado, en el segundo capítulo se aplicó un agente antimicrobiano para el control de hongos que causan el deterioro de los frutos y en el tercer capítulo se utilizó un empaque activo basado en el uso de una atmósfera modificada con microperforado y la incorporación de un aceite esencial como agente antimicrobiano.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de la zarzamora

2.1.1 Origen y distribución

La zarzamora pertenece a la familia de las Rosáceas, comercialmente se clasifica dentro del grupo de las frutillas, junto con la frambuesa, el arándano, las moras, grosellas, fresas y zarzaparrillas (Ibarra et al., 2013). La zarzamora ha sido usada en Europa alrededor de 2,000 años como alimento, usos medicinales y cerco vivo (Rodríguez, 2008) (Figura 1).

Es un fruto agridulce compuesto por aproximadamente 88.15% de agua. Por cada 100 g de peso fresco contiene 1.39 g de proteína, 9.61g de carbohidratos, 5.3 g de fibra total dietaria y 0.49 g de lípidos totales, por lo que se le considera un alimento de bajo poder calórico con tan sólo 43 kcal. Asimismo, contiene minerales como potasio (162 mg), calcio (29 mg), magnesio (20 mg) y fósforo (22 mg) (USDA, 2018).

2.1.2 Disponibilidad y comercialización de la zarzamora

En México la producción de zarzamora se caracteriza principalmente por dos temporadas altas de cosecha en los meses de mayo y junio, seguido de los meses de noviembre y diciembre (SIAP, 2017). Se estima que aproximadamente el 75% de la zarzamora producida a nivel mundial se congela, para ser transformada por la industria para la producción de bases para yogur, jugos concentrados y el resto es consumo en fresco (Rodríguez, 2008).



Figura 1. Frutos de zarzamora

2.1.3 Desarrollo e índices de cosecha

Botánicamente, el fruto de zarzamora forma una polidrupa, conformada de pequeños frutos llamados drupas insertadas en un receptáculo y clasificado como fruto no climatérico (Alonso, Chávez & García, 2012). Estudios de maduración sobre frutos de zarzamora “Brazos” identifican seis estadios (Figura 2) con características morfológicamente definidas y contrastantes. En el estadio (E1) los frutos son verdes y sus drupelas se encuentran en las primeras etapas de llenado; su tamaño representa 40% del crecimiento final, el crecimiento final se alcanza hasta el estadio 4 (E4), en el que las drupelas se tornan en 90% rojas. Sin embargo, la coloración de las drupelas cambia gradualmente de verde a rojo y finalmente a negro durante los seis estadios. Se establece como estadio 6 (E6) aquél en el que se alcanza un color negro brillante en el 100% de las drupelas, característico del punto de madurez de la cosecha (Alonso et al., 2012).







Estadio	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Imagen del fruto						
Color drupelas % crecimiento	100% verdes 40% crec.	80% verdes 70% crec.	60% rojas 90% crec.	90% rojas 100% crec.	100% rojas 100% crec.	100% negras 100% crec.

Figura 2. Estadios de maduración en frutos de zarzamora (Alonso et al., 2012)

La cosecha de los frutos se puede realizar en forma manual o mecánica. En México, la cosecha es manual cortando el fruto cuando tiene un color rojo o empieza a tornarse oscuro, logrando con esto mayor duración después de ser cosechadas (Pérez & Vázquez, 2004). Al ser muy perecederos, los frutos deben ser manejados con cuidado. Los productores con frecuencia recogen los frutos desde muy temprano o algunas veces en las noches, cuando las temperaturas son bajas (Andersen & Timothy, 2001). Los frutos deben ser cosechados en madurez comestible para lograr la máxima calidad, pero no sobre-maduros, pues su vida de anaquel se acorta de manera notable. Una vez cosechados pasan a un área especial para revisión de empaque y aprobación de calidad, para ser colocados en refrigeración lo antes posible. De ahí son transportados (en camiones con refrigeración) a las cámaras de conservación y embalajes de las compañías que los transportarán a su destino final (Calderón, 2006).

2.1.4 Pérdida de peso

La pérdida de peso en las frutas se incrementa por la pérdida de agua, una de las causas más importantes del deterioro durante el almacenamiento. La mayoría de las frutas y legumbres contienen entre el 80 y el 95% de agua, parte de la cual se puede perder por evaporación. Esta pérdida de agua en los tejidos es lo que se conoce como transpiración (Hardenburg, Watada, & Chien, 1988). Barreiro y Sandoval (2006) reportaron para zarzamora una pérdida de peso de 0.7% día mmHg^{-1} en función del déficit de vapor en el almacenamiento, a una temperatura

de 10 °C y 60-70 % de humedad relativa, generando con eso pérdidas económicas y de calidad al tener una apariencia marchita.

2.1.5 Sólidos solubles y azúcares totales (SST)

La maduración de la fruta incluye la pérdida de firmeza, la conversión de almidón a azúcares solubles y el desarrollo de compuestos volátiles que definen el aroma característico de cada fruto (Burdon, Pidakala, Martín, Billing & Boldingh, 2013). Los SST están compuestos por azúcares, ácidos, vitamina C, aminoácidos y pectinas; sin embargo, los azúcares constituyen el principal componente de los SST (Orchard & Dadzie, 1997).

Para frutos de zarzamora se reporta un total de 4.88 g de azúcares totales, de los cuales 2.40 g corresponden a fructosa, 2.31 g a glucosa, y el resto a otros azúcares. En cuanto a sus principales vitaminas, contienen 21 mg de vitamina C, 1.17 mg de vitamina E (alfa tocoferol), 1.34 mg de gama tocoferol, 0.646 mg de niacina y 0.276 mg de ácido pantoténico (B5) (USDA, 2018). Todos estos compuestos dan como resultado un aproximado de 7.37 °Brix (Brackmam, de Orivera, Thewes, Fronza & Hamann, 2016).

2.1.6 Acidez y pH

El pH y la acidez son importantes características de calidad postcosecha; generalmente los ácidos orgánicos son importantes por suministrar un balance azúcar/ácido que da un sabor agradable a los frutos durante la maduración (Orchard & Dadzie, 1997).

Los ácidos orgánicos forman parte del contenido de las vacuolas en los tejidos vegetales y junto con los azúcares contribuyen al sabor de las frutas. Dentro de los ácidos más importantes están el cítrico, málico, tartárico y oxálico, siendo las zarzamoras frutos de naturaleza ácida. La acidez tiene importancia en las frutas porque representa una barrera protectora contra la invasión de algunos microorganismos deteriorativos y patógenos (Acero 2010; Orchard & Dadzie, 1997). Las zarzamoras son frutos de naturaleza ácida. Van de Velde, Grace,

Esposito, Pirovani y Lila (2016) reportan un pH de 2.9 en frutos almacenados en congelación. Asimismo, para acidez titulable en frutos frescos cuantificada con base en ácido cítrico se encuentra en el intervalo de 0.89-0.94 % (Jung, Perkins-Veazie, Ma, & Fernández 2015).

2.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios ya que no están directamente involucrados en el crecimiento y desarrollo del tejido vegetal y se encuentran en tejidos y órganos especiales. Asimismo, en etapas particulares; generalmente se producen como un mecanismo de defensa contra un ataque en tejido de la planta o en un ambiente de estrés, por ejemplo, bajo condiciones desfavorables de temperatura, luz y pH (Díaz, Sousa, Alves & Ferreira, 2016).

La estructura básica de un compuesto fenólico es un anillo bencénico con sustituyentes hidroxilos y la vía más importante en la biosíntesis de estos compuestos es la del ácido shikímico, en la que se combina una molécula de ácido fosfoenolpirúvico (PEP) derivada de la glicólisis, con eritrosa-4-fosfato derivada de la ruta de las pentosas fosfato, dando como resultado la formación de un carbohidrato llamado DAHP (fosfato de 3-desoxi-O-arabino-heptulosoato) (Díaz et al., 2016).

Dentro de los compuestos fenólicos se encuentran las antocianinas, los flavonoides, y los ácidos fenólicos (Ivanovic, Tadic, Dimitrijevic & Stamenic, 2014). Las antocianinas son pigmentos solubles en agua que confieren colores rojos, azules y púrpuras, característicos de las frutillas, que están formadas por estructuras de flavilio, que consisten en dos anillos aromáticos unidos por un anillo heterocíclico de tres carbonos que contiene oxígeno (Rodríguez-Amaya, 2018).

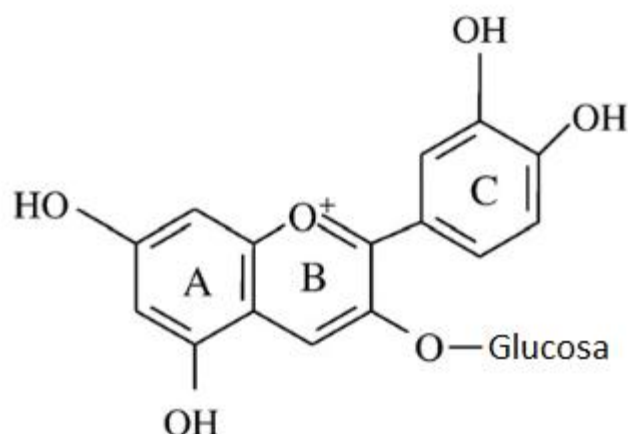


Figura 3. Representación de una antocianina

En los alimentos se encuentran comúnmente seis tipos de antocianidinas (pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina y malvidina), que varían en el número y grado de metilación de los grupos hidroxilo en el anillo B (Figura 3). En general, el predominio de grupos hidroxilo da como resultado pigmentos de color azul y una baja estabilidad, mientras que la metoxilación aumenta el enrojecimiento y la estabilidad (Rodríguez- Amaya, 2018).

Diversos factores afectan el color y la estabilidad de antocianinas, como la estructura química y la concentración de la antocianina, la temperatura, pH, luz, oxígeno, enzimas, iones metálicos, otros flavonoides y compuestos fenólicos. A pH inferior a 2, predomina el catión rojo de flavilio, a pH 3 a 6, se produce una hidratación rápida del catión de flavilio en C-2 para formar la pseudobase de carbinol incolora, que puede experimentar la apertura del anillo a una chalcona amarilla. En condiciones ligeramente ácidas a neutras, la desprotonación del catión de flavilio genera la base azul quinoidal (Rodríguez-Amaya, 2018).

La capacidad antioxidante de los frutos de zarzamora está estrechamente relacionada con su contenido de antocianinas y a su vez el consumo de alimentos ricos en antocianinas está relacionado con la disminución del riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y cáncer (Van de Velde et al., 2016).

En 100 g de zarzamora frescas se puede encontrar 37.1 mg de catequina, 4.7 mg de epicatequina, 3.6 mg de quercetina, 0.7 mg de miricetina y 0.3 mg de kaempferol, como principales flavonoides. Por otra parte, los frutos de zarzamora se consideran ricos en antocianinas pues contienen 100 mg de cianidina, 0.5 de pelargonidina y 0.2 mg de peonidina (USDA. 2018).

2.3 Vida postcosecha del fruto de zarzamora

La zarzamora es uno de los frutos más perecederos. Horvitz, Chanaguano y Arozarena (2017) reportan una vida de anaquel de 3 d a temperatura ambiente y de 8 d a 8 °C. Esta corta vida de anaquel se debe a su estructura, piel frágil y su alta tasa de respiración y transpiración, además de la presencia de hongos durante el almacenamiento (Joo, Lewandowski, Auras, Harte & Almenar, 2011), La enfermedad más común es la incidencia de *Botrytis cinerea Pers*, causando pérdidas del 100% si no se tiene un control adecuado (Rebollar, 2011). Para aumentar la vida de anaquel de los frutos de zarzamora se han utilizado diferentes tecnologías.

Junqueira-Gonçalves, Alarcon y Niranjan (2016) evaluaron (de forma *in vitro*) el efecto de un envase activo utilizando sorbato de potasio como agente antimicrobiano. La incorporación de sorbato de potasio en la superficie se llevó a cabo durante la fabricación de la hoja pasándola a través de un baño que contenía una solución acuosa de silicona (2%, v / v) donde se agregó KS a una concentración del 20% (p / v). El KS no afectó las características de sabor y apariencia en frutos de grosella, arándano y zarzamora. Para zarzamora reportaron para el día 23 un porcentaje de daño de 7 % para el empaque activo y 11 % de daño causado por *Botritis* para los frutos control.

Ramos-Solano et al. (2015) evaluaron la capacidad de seis cepas de bacterias con rasgos de control biológico para prevenir el crecimiento de hongos en postcosecha y los resultados mostraron que sólo la cepa N17.35 (*Pseudomonas aeruginosa*) mostró disminución de 50 % en el crecimiento de hongo con respecto

al testigo en 8 d de almacenamiento a 20 °C. Las bacterias se inocularon a los frutos y se observó su efecto por tres y ocho días.

Jung et al. (2015) evaluaron la vida postcosecha de las variedades orgánicas Natchez, Ouachita y Navaho en estados de madurez negro brillante y negro sin brillos a 1 °C durante 13 d más 2 d a 20 °C., para lo cual utilizaron clamshells ventilados. Encontraron que la etapa negro brillante presentó mejores características de firmeza y apariencia al final del almacenamiento y, asimismo, encontraron diferencias en los compuestos fenólicos entre las variedades analizadas.

Olivera, Kwiatkowski, y Rosa (2014) evaluaron el efecto de la refrigeración combinado con atmósferas modificadas y recubrimientos comestibles con el objetivo de evaluar la conservación y la calidad de frutos de zarzamora (variedad Tupy). Para lo cual utilizaron diferentes tratamientos tales como: quitosano (1.5 %), almidón de yuca (2.5%) y granos de kéfir (20 %). Observaron que el quitosano redujo la pérdida de peso, firmeza e incidencia de hongos en mayor proporción que los demás recubrimientos.

Joo et al. (2011) evaluaron el comportamiento de empaques de polietileno orientado (OPS) y poliácido láctico orientado (OPLA) con el objetivo de comparar la efectividad de cada empaque en postcosecha. Los resultados mostraron que los contenedores de OPS registraron una menor pérdida de peso y disminución de sólidos solubles; sin embargo, ambos empaques cumplieron con el estándar US N° 1 para comercialización al día 12 de almacenamiento a 3 °C.

Perkins y Collis (2002) evaluaron el efecto de intervalos cortos de atmósfera controladas (10 kPa O₂, 15 kPa CO₂) a 2 °C en frutos de zarzamora de la variedad Navaho y Arapaho. Encontraron que al menos se necesita almacenar los frutos 7 d seguidos bajo la atmósfera modificada para disminuir el deterioro de los frutos; sin embargo, encontraron que el contenido de antocianinas disminuyó en un 20% con respecto a los frutos testigo después de 7 d bajo las condiciones de 10 kPa O₂ y 15 kPa CO₂.

Por su parte, Piña-Dumoulin, Saucedo, Ayala y Muratalla (2001) evaluaron las atmósferas controladas de 5%O₂ + 5% CO₂ y 15% O₂ + 20% CO₂ a 2 °C (por 2,4 y 7 d). Encontraron que la concentración de gases 15% O₂ + 20% CO₂ resultó más efectiva en la inhibición del crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* en frutos inoculados. Asimismo, la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) estuvo asociada a la síntesis de antocianinas y las atmósferas controladas no afectaron esta relación.

2.4 La refrigeración

El manejo de la temperatura es la herramienta más efectiva para extender la vida de anaquel de productos hortofrutícolas y ornamentales frescos (Kader, 2002). La refrigeración es un método de conservación basado en la remoción de calor de los productos y de acuerdo con Ezeike y Hung (2009) una refrigeración adecuada puede preservar la calidad del producto al:

- Inhibir el crecimiento de microorganismos causantes del deterioro.
- Restringir la actividad enzimática y respiratoria.
- Inhibir la pérdida de agua.
- Reducir la producción de etileno.

Sin embargo, comercialmente se utilizan diversos procedimientos tecnológicos como complementos al manejo de la temperatura que pueden ayudar a extender la vida de anaquel de los productos cosechados más allá de lo que es posible con la refrigeración convencional. Entre algunos ejemplos encontramos el curado, la limpieza, la selección, el encerado, inhibidores de brotación, empacado, tratamientos con etileno, atmósferas modificadas y controladas, entre otros (Kader, 2002).

2.5 Significado y efectos fisiológicos de una atmósfera modificada

Las atmósferas modificadas son sistemas de conservación de productos hortofrutícolas en fresco que usan películas plásticas como envase (Valle-Guadarrama, Gómez-Cruz, Cruz-Cruz & Chan-Chi, 2009). Este tipo de

acondicionamiento implica la eliminación de aire del empaque y su sustitución por un sólo gas o mezcla de gases. La mezcla de gases depende del tipo del producto y la atmósfera gaseosa cambia continuamente a lo largo del almacenamiento, debido a factores tales como la respiración del producto envasado, cambios bioquímicos, así como también la penetración de gases a través del recipiente (Blackistone, 2006). Usualmente esto involucra la reducción de oxígeno (O_2) y la elevación de las concentraciones de dióxido de carbono (CO_2). Kader (2002) resaltó el uso de las atmósferas modificadas como un complemento al manejo de la temperatura, retardando la senescencia (maduración) del producto con sus cambios bioquímicos y fisiológicos asociados y afectando, no sólo la respiración y la producción de etileno, sino también el ablandamiento y los cambios composicionales; además estas atmósferas controlan y previenen las enfermedades y pudriciones ocasionadas por microorganismos y las infestaciones ocasionadas por insectos (Yahia & Ariza, 2001).

Se distinguen dos tipos de atmósfera modificada (AM), denominadas pasiva y activa. Después de que las frutas y hortalizas han sido cosechadas se mantienen los procesos metabólicos, consumiendo O_2 y produciendo dióxido de carbono (CO_2) y vapor de agua. La modificación de la atmósfera alrededor del producto se lleva pasivamente por efecto de la respiración y permeabilidad de la película (Ospina & Cartagena, 2008). En contraste, la AM activa se obtiene por la adición de una cierta concentración de gas dentro de la bolsa en el momento del empaque de las frutas, lo que le proporciona un estado de equilibrio y ayuda a mantener una atmósfera adecuada por un periodo más largo (Pretel, Souty & Romojaro, 2000). El diseño de una AM ya sea pasiva o activa, implica la especificación de las permeabilidades a los gases, dimensión, espesor, y el área requerida de la película de envasado, además de la masa del producto, la capacidad de absorción y la temperatura (Charles, Guillaume & Gontard, 2008).

Se han reportado diversos trabajos en AM Dayron, Fischer y Flórez (2006), con el objeto de aumentar la vida útil de la mora de Castilla en postcosecha evaluaron

atmósferas modificadas activas en dos estados de madurez a 4 °C por 16 d. Encontraron que con 20% CO₂, 10% O₂ y 70% N₂ los frutos completamente maduros (grado 5) mantuvieron sus características organolépticas hasta el día 6 en empaques de polietileno de baja densidad y que el mismo comportamiento se observó en los frutos menos maduros (grado 3), pero con una concentración de gases de 25% CO₂, 5% de O₂ y 70% de N₂ en películas plásticas de polipropileno, haciendo énfasis en que los empaques con atmósferas modificadas activas disminuyeron las tasas respiratorias y las pérdidas de peso de los frutos, comparados con los almacenados sin AM y sin película plástica.

Loyola, Barrera y Acuña (2007) utilizaron bolsas de permeabilidad selectiva para crear atmósferas modificadas activas con el objetivo de prolongar la vida postcosecha y las propiedades organolépticas de *Fragaria chiloensis* L. Encontraron que al final de 11 d (0 °C) las concentraciones normales del aire variaron a 3.90 % CO₂ y 13.90% O₂ para frutos que no fueron pre-enfriados y 2.70 % CO₂ y 15.50 % O₂ para frutos pre-enfriados. Asimismo, encontraron que los tratamientos almacenados en atmósferas modificadas independientemente si fueron pre-enfriados o no, contribuyeron a mantener el aroma y la firmeza de los frutos, pero en menor grado el color y el sabor.

2.6 Situaciones de riesgo del uso de atmósferas modificadas

Entre los efectos perjudiciales por la aplicación de atmósferas modificadas, se tienen los riesgos de iniciación de ciertos desórdenes fisiológicos como pardeamientos internos de la pulpa de ciertos frutos, maduración anormal (banana, pera y tomate), aumento de la sensibilidad a los ataques fúngicos cuando el producto sufre una alteración fisiológica debido a concentraciones muy bajas de O₂ (Artés, 2006). Además, se puede estimular el crecimiento de microorganismos anaerobios, psicrotrofos y la producción de metabolitos indeseables (Oms-Oliu, Soliva-Fortuny & Martín -Belloso, 2008). En cuanto al CO₂, el nivel crítico depende esencialmente de la especie, variedad, temperatura, duración del almacenamiento (Artés, 2006). El hecho de que se pueda presentar un metabolismo fermentativo con deterioro importante de la calidad sensorial del

producto ha propiciado la investigación del nivel mínimo de O₂ responsable de la transición entre la respiración aerobia y anaerobia, lo que se ha definido un término denominado “punto de compensación anaeróbica” que define la concentración de O₂ a la cual la emisión de CO₂ es mínima (Valle-Guadarrama, Saucedo-Veloz, Peña-Valdivia, Corrales-García & Chávez-Franco, 2004).

2.7 Uso de microperforado en atmósferas modificadas

Hasta hace poco tiempo, los únicos plásticos utilizados para favorecer una atmósfera modificada eran de permeabilidad selectiva, es decir, con permeabilidades específicas para cada uno de los gases generados en el interior del envase. No obstante, el microperforado permite controlar la concentración de gases en los envases de atmósferas modificadas (Espinosa-Cruz, Valle-Guadarrama, Ybarra-Moncada & Martínez-Damián, 2014). Las películas microperforadas están diseñadas para dejar pasar gases de bajo peso molecular tales como O₂, CO₂, nitrógeno y vapor de agua con el propósito de ajustar la concentración gaseosa dentro del empaque. Generalmente se dividen en dos categorías: las que están perforadas con orificios muy pequeños que dejan pasar gases muy lentamente y aquéllas que contiene aditivos intencionales y por lo tanto alteran el transporte de gases (Mangaraj, Goswani & Mahajan, 2009). Brody, Zhuang y Han (2010) indicaron que los agujeros utilizados en los empaques microperforados varían desde aquéllos visibles a simple vista hasta aquéllos con 150 µm de diámetro o menos, los cuales se consiguen comúnmente mediante un láser.

Rodríguez y Zoffoli (2016) evaluaron diferentes atmósferas modificadas con y sin perforaciones más liberación de dióxido de azufre (SO₂) en diferentes variedades de arándano durante 45 d a 0°C. Encontraron que algunas variedades se mostraron sensibles a concentraciones de 5.5-6 kPa CO₂ y 13.5-13.1 kPa de O₂. Asimismo, determinaron que el mejor empaque fue la combinación de una atmósfera modificada combinada con perforaciones y liberación de SO₂, ya que mantiene la calidad postcosecha asociada a una menor pérdida de agua y decaimiento de la fruta sin problemas de fitotoxicidad por CO₂.

Kartal, Seckin y Caner (2012) evaluaron el efecto de empaques de 2 polipropileno, con niveles de 7 y 9 perforaciones y con y sin secuestradores de oxígeno en la calidad de fresas a 4 °C. Encontraron que los empaques microperforados con 7 y 9 perforaciones provocaron una atmósfera interna de 15 kPa CO₂ y 5 kPa de O₂. Asimismo, concluyeron que las películas microperforadas y los secuestradores de oxígeno aumentaron la vida de anaquel de los frutos de fresa más allá de cuatro semanas con buenas características de pH, sólidos solubles, conductividad eléctrica, perfil de textura y análisis sensorial.

Espinosa-Cruz et al. (2014) evaluaron el efecto de envases microperforado en el comportamiento postcosecha de aguacate "Hass" a 18 y 5 °C. Encontraron que el microperforado permitió controlar la concentración de gases en los envases de modo que con cuatro orificios a 18 °C y dos orificios a 5 °C se logró tener 3.5 y 4 % de O₂ y 23.2 y 16.6 % de CO₂, permitiendo con esto la reducción de pérdida de firmeza, peso y color.

2.8 Los aceites esenciales y su aplicación en postcosecha

Como parte de estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico, las plantas han generado mecanismos de defensa, por ejemplo, la producción de metabolitos secundarios como alcaloides, terpenoides y fenilpropanoides, los cuales tienen actividad antimicrobiana, antioxidante o contra ataque a herbívoros (Sepúlveda, Porta, & Rocha, 2003).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos altamente volátiles que se obtienen de diferentes partes de plantas. Químicamente están formados por monoterpenos y sesquiterpenos (Sepúlveda et al., 2003). Actualmente los aceites esenciales están siendo probados como alternativa para alargar la vida postcosecha de las frutas y verduras gracias a sus propiedades antimicrobianas y porque se consideran biodegradables y ecológicos. La aplicación se ha hecho en forma directa al fruto o incorporado a distintas películas comestibles (Sivakumar & Bautista-Bolaños, 2014).

Sarkhosh et al. (2017) evaluaron diferentes concentraciones de aceite de tomillo (*Thymus* sp.), ajedrea (*Satureja hortensis*), canela (*Cinnamomum verum*), y lavanda (*Lavandula angustifolia*) para inhibir el daño causado por antracnosis, encontraron que 2000 mg L⁻¹ de aceite de tomillo y ajedrea exhibieron la actividad antifúngica más fuerte, reduciendo las lesiones necróticas en un 58-64 % en frutos de aguacate almacenados por cuatro semanas

Por su parte, Aguilar-González, Palou y López-Malo (2015) aplicaron aceite de clavo y mostaza a frutos de fresa, encontrando que una concentración mínima inhibitoria de 92.56 $\mu\text{L L}^{-1}$ y 15.42 $\mu\text{L L}^{-1}$ de aceite de clavo y mostaza, respectivamente, son necesarios para inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea*.

2.9 Literatura citada

- Acero, E. (2010). *Nayarit: Reforma y desarrollo*. Illustrated. México. 22p.
- Aguilar-González, A. E., Palou, E., & López-Malo. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative. Food Science and Emerging Technologies*, 32, 181-185. doi: org/10.1016/j.ifset.2015.09.003
- Alonso, O. C., Chávez, B. A., & García S. P. (2012). *Proteómica de la maduración de frutos de zarzamora (Rubus sp.) cultivados en México, una primera aproximación*. Universidad Autónoma Indígena de México. México. P 33.
- Andersen, C. P., & Timothy, E. C. (2013). *The blackberry production*. University of Florida. 11 p.
- Artés, C.F. (2006). *El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco*. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, Murcia, España. P 45.
- Barreiro, J., & Sandoval B. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Equinoccio. Caracas; Venezuela. 18p.
- Blackstone, B.A. (2006). Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods. *Springer Science & Business Media*, 446–475.
- Burdon, J., Pidakala, P., Martin, P., Billing, D., & Boldingh. H. (2013). Fruit maturation and the soluble solids harvest index for 'Hayward' kiwifruit. *Scientia Horticulturae*, 213,193–198. doi: org/10.1016/j.scienta.2016.10.027
- Brackmam, A., de Orivera, A. R., Thewes, F. R., Fronza, D. & Hamann J. J. (2016). Storability of 'Tupy' and 'Guarani' blackberries in controlled atmosphere. *Postharvest Technology*, 75, 240-246. doi: org/10.1590/1678-4499.321
- Brody, A., Zhuang H., & Han J. (2010). Modified Atmosphere Packaging for Fresh-Cut Fruits and vegetables. *WILEY-BLACKWELL*, 18-19.
- Calderón, Z. G. (2006). Producción forzada de zarzamora en México. III Simpósio nacional de morango. II. Encuentro sobre pequeñas frutas y frutas nativas de Mercosul. Embrapa, Brasil. P 145.
- Charles, F., Guillaume C., & Gontard, N. (2008). Effect of passive and active modified atmosphere packaging on quality changes of fresh endives. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 22-29.
- Dayron, S. Á., Fischer, G. & Flórez, R. (2006). Almacenamiento refrigerado de frutos de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en empaques con atmósfera modificada. *Agronomía Colombiana*, 24(2), 306-316.
- Diaz, M. I., Sousa, M. J., Alves, R. C. & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review.

- Industrial Crops and Products*, 82, 9-22. doi: org/10.1016/j.indcrop.2015.12.016
- Espinosa-Cruz, C., Valle-Guadarrama, S., Ybarra-Moncada, Ma. C., & Martínez-Damián, M. T. (2014). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37 (3), 235-242.
- Ezeike, G. & Hung, Y. (2009). Refrigeration of Fresh Produce from Field to Home: Refrigeration Systems and Logistics. *Postharvest Handling*, 19, 1-25.
- Hardenburg, R., Watada A., & Chien, Yi W. (1988). Almacenamiento comercial de frutas, legumbres y existencias de floristerías y viveros. IICA. *San José, Costa Rica*, 26 -27.
- Horvitz, S., Chanaguano, D. & Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus Benth*) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226, 293-301. doi: org/10.1016/j.scienta.2017.09.002
- Ibarra, M. L.E., Romero V. N. G., Jaime M. R., & Hurtado B. B. B. (2013). Estudio de factibilidad para la comercialización de zarzamora en mercados internacionales. *Revista internacional administración & finanzas*. Hermosillo, Sonora. México. (6) 74.
- Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S. & Stamenic, M. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar “Cañanska Bestrna”. *Industrial Crops and Products*, 53, 274-281. doi: org/10.1016/j.indcrop.2013.12.048
- Joo, M., Lewandowski, N., Auras, R., Harte, J, & Almenar, E., (2011). Comparative shelf life study of blackberry fruit in bio-based and petroleum-based containers under retail storage conditions. *Food Chemistry*, 126, 1734-1740. doi: org/10.1016/j.foodchem.2010.12.071
- Jung, K. M., Perkins-Veazie, P., Ma, G., & Fernandez, G. (2015). Shelf life and changes in phenolic compounds of organically grown blackberries during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 257–263. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.020.
- Junqueira-Gonçalves, M. P., Alarcón, E. & Niranjana, K. (2016). The efficacy of potassium sorbate-coated packaging to control postharvest gray mold in raspberries, blackberries and blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 205–208. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.014
- Kader, A. (2002). *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. (3a ed). University of California Oakland, California, 53 p.
- Kartal, S., Seckin, A. M., & Caner, C. (2012). Use of microperforated films and oxygen scavengers to maintain storage stability of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 71, 36-40. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2012.04.009
- Loyola, N., Barrera, M. & Acuña, C. (2007). Evaluación de la calidad sensorial de frutilla (*Fragaria chiloensis* L.) ecotipo blanco conservada en atmósfera

- modificada. *V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones*. 1-20.
- Mahajan, P. V., Caleb, O. J., Gil, M. I., Izumi, H., Colelli, G., Watkins, C. B. & Zude, M. (2017). Quality and safety of fresh horticultural commodities: Recent advances and future perspectives. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 2–11. doi: org/10.1016/j.fpsl.2017.08.001
- Mangaraj, S., Goswami, T. K., & Mahajan, P. V. (2009). Applications of Plastic Films for Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables: A Review. *Food Engineering Reviews*, 1(2), 133–158. doi:10.1007/s12393-009-9007-3
- Olivera, D. M., Kwiatkowski, A., Rosa, C. I. L. F., & Clemente, E. (2014). Refrigeration and edible coatings in blackberry (*Rubus* spp.) conservation. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2120–2126. Doi: 10.1007/s13197-012-0702-3
- Oms – Oliu R., Soliva- Fortuny, O., & Martin- Belloso. (2008). Physiological and microbiological changes in fresh-cut pears stored in high oxygen active packages compared with low oxygen active and passive modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology* 48, 295-301.
- Orchard J. & Dadzie B. (1997) Evaluación rutinaria postcosecha de bananos y plátanos: criterios y métodos. *Biodiversidad Internacional*. Honduras. P 10.
- Ospina M.S.M. & Cartagena V. J.R. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. Ed. Corporación Universitaria Lasallista. Antioquia, Colombia. 41 p.
- Pérez B. H., & Vázquez V. V. (2004). Zarzamora (*Rubus* spp.) su cultivo y producción en el trópico mexicano, Instituto de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias (inifap), en el pacífico centro. Nayarit, México. 36p.
- Perkins, V. P., & Collins, J. K. (2002). Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 235-239. doi: org/10.1016/S0925-5214(02)00025-X
- Piña-Dumolin, G., Saucedo, V.C., Ayala, V. & Muratalla, L. (2001). Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en Zarzamora (*Rubus* sp.). *Rev. Fac. Agron*, 18, 87-105.
- Pretel, M.T, Souty M. & Romojaro F. (2000) Use of passive and active modified atmosphere packaging to prolong the postharvest life of three varieties of apricot (*Prunus armeniaca*, L.) Eur. *Foods Research and Technology*, 12:112-120
- Ramos-Solano, B., Algar, A., Gutierrez-Mañero, F. J., Bonilla, A., Lucas, J. A. & García-Seco, D. (2015). Bacterial bioeffectors delay postharvest fungal growth and modify total phenolics, flavonoids and anthocyanins in blackberries. *Food Science and Technology*, 61, 437- 443. doi: org/10.1016/j.lwt.2014.11.051

- Rebollar, A. A. (2011). Manejo del mildiú y el moho gris de la zarzamora en Michoacán. Universidad Autónoma Chapingo. 21p.
- Rodríguez-Amaya, D.B. (2018). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*. doi: org/10.1016/j.foodres.2018.05.028.
- Rodríguez, J. & Zoffoli, J.P. (2016). Effect of sulfur dioxide and modified atmosphere packaging on blueberry postharvest quality. *Postharvest Biology and Technology*, 117, 230-238. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2016.03.008
- Rodríguez, R. G. (2008). *La red de valor de la zarzamora*. Fundación Produce A.C. Morelia, Michoacán, México. 106p.
- Sarkhosh, A., Vargas, A. I., Schaffer, B., Palmateer, A. J., López, P., Soleymani, A. & Farzaneh, M. (2017). Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 16-22. doi: org/10.1016/j.foodres.2017.02.001
- Sepúlveda, J. G., Porta, D. H., Rocha, S. M. (2003). La participación de Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21, 355-363.
- SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2017). Atlas Agroalimentario 2017. 236 p.
- Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2014). A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, 64, 27–37. doi: 10.1016/j.cropro.2014.05.012
- USDA: United States Department of Agriculture Agricultural Research Service. En línea en: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?home=true>
- Valle-Guadarrama, S., Gómez-Cruz A., Cruz-Cruz F. & Chan-Chi A. (2009). Modelado de una atmosfera modificada para conservar frutos de tomate de cascara (*Physalis Ixocarpa*). *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 1(1), 33-38.
- Valle-Guadarrama, S., Saucedo-Veloz, C., Peña-Valdivia, C. B., Corrales-García, J. J. E., & Chávez-Franco, S.H. (2004). Aerobic–Anaerobic Metabolic Transition in ‘Hass’ Avocado. *Fruits, Food Sci Tech*, 10 (6), 391-398. doi: 0.1177/1082013204049488
- Van de Velde, F., Grace, M. H., Esposito, D., Pirovani, M. É., & Lila, M. A. (2016). Quantitative comparison of phytochemical profile, antioxidant, and anti-inflammatory properties of blackberry fruits adapted to Argentina. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, 82–91. doi: 10.1016/j.jfca.2016.01.008
- Yousuf, B., Qadri, O.S., & Srivastava, A.K. (2018). Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *Food Science and Technology*, 89,198-209 doi: 10.1016/j.lwt.2017.10.051

Yahia, E. M. y Ariza F.R. (2001). Tratamientos físicos en postcosecha de frutas y hortalizas. *Revista extra*, 80-88

3. EMPAQUES MICROPERFORADOS PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL DE FRUTOS DE ZARZAMORA

Resumen

La zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) es un fruto no climatérico que se caracteriza por sus colores vistosos, su sabor agridulce y sus compuestos bioactivos. Sin embargo, tiene vida de anaquel de sólo 3 d a temperatura ambiente. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de uso de sistemas de atmósfera modificada con microperforado (AM-M) bajo refrigeración, para aumentar la vida postcosecha del fruto de zarzamora y mantener por más tiempo sus características nutricionales y nutraceuticas. Se condujo un almacenamiento de frutos durante 18 d a 4 y 23 °C, con tres niveles de microperforado, definidos como M0 (envase sin perforaciones), M1 (una microperforación) y M3 (tres microperforaciones). Los sistemas tuvieron concentraciones promedio de 10.31% O₂ y 4.65% CO₂ a 23 °C y de 12.60 % O₂ y 1.29% CO₂ a 4 °C. Los pesos de los frutos de zarzamora manejados en AM no presentaron diferencias significativas y experimentaron pérdidas de peso menores a 1.5% y valores de firmeza de 1.01 (±0.05) a 0.47 (±0.14) N. Asimismo, los sólidos solubles totales se mantuvieron constantes en M0, M1 y M3 a 4 °C y la apariencia de los frutos fue mejor en el tratamiento M3. No se encontraron diferencias relevantes en el pH, acidez y color. La concentración de fenoles solubles y antocianinas totales fue más alta a 23 °C y estuvo acorde con la capacidad antioxidante, sin embargo, estos parámetros no presentaron diferencias significativas por el tipo de envase. La presencia de hongos fue el principal factor limitante de la vida postcosecha de los frutos de zarzamora. A 23 °C la vida postcosecha de los frutos fue de 3 a 4 d, mientras que en M3 a 4 °C los frutos se conservaron hasta por 18 d. El manejo en refrigeración complementada con sistemas de AM-M puede ser una alternativa para alargar la vida de anaquel de frutos de zarzamora en postcosecha.

Palabras clave: *Rubus fruticosus*, atmósfera modifica, vida de anaquel

MICROPERFORATED-BASED PACKAGING APPLIED TO PROLONG SHELF LIFE OF BLACKBERRY FRUIT

Abstract

The blackberry (*Rubus fruticosus* L.) is a non-climacteric fruit that is characterized by its colorful colors, its bittersweet taste and bioactive compounds, However, the shelf life of only 3 d at room temperature. The aim of this work was to evaluate the effect of modified atmosphere systems with microperforation (AM-M) under refrigeration, to increase the postharvest life of the blackberry fruit and maintain its nutritional and nutraceutical characteristics for longer. Fruit storage was conducted for 18 d at 4 and 23 °C, with three levels of microperforation, defined as M0 (container without perforations), M1 (one microperforation) and M3 (three microperforations). The systems had average concentrations of 10.31% O₂ and 4.65% CO₂ at 23 °C and 12.60% O₂ and 1.29% CO₂ at 4 °C. The weight of the blackberry fruits handled in AM did not present significant differences and they experienced weight losses of less than 1.5% and firmness values of 1.01 (± 0.05) to 0.47 (± 0.14) N. Also, the total soluble solids remained constant in M0, M1 and M3 at 4 °C and the appearance of the fruits was better in the M3 treatment. No relevant differences were found in pH, acidity and color. The concentration of soluble phenols and total anthocyanins was higher at 23 °C and was consistent with the antioxidant capacity, however, these parameters did not show significant differences due to the type of container. The presence of fungi was the main factor limiting the postharvest life of blackberry fruits. At 23 °C the postharvest life of the fruits was 3 to 4 d, while in M3 at 4 °C the fruits were conserved up to 18 d. The handling in refrigeration complemented with systems of AM-M can be an alternative to lengthen the shelf life of fruits of blackberry in postharvest.

Key words: *Rubus fruticosus*, modified atmosphere systems, shelf life.

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Tehnology.
Universidad Autónoma Chapingo, Mexico
Author: Angélica Martínez López
Thesis Director: Salvador Valle Guadarrama, Dr.

3.1 Introducción

La zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) es un fruto no climatérico propio de climas templados, que se caracteriza por sus colores vistosos y su sabor agridulce. Estos atributos se deben a compuestos como vitamina C y E, flavonoides (catequina, epicatequina, quercetina) y antocianinas (cianidina, pelargonidina y peonidina). El contenido alto de compuestos fenólicos está estrechamente relacionado con su capacidad antioxidante (Alonso, Chávez, & García, 2012; USDA, 2018). De acuerdo con Van de Valde, Grace, Esposito, Pirovani y Lila (2016) mencionaron que el consumo de alimentos con capacidad antioxidante disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares y de cáncer.

En México la producción de zarzamora ha aumentado en un 101.9 % en los últimos 10 años y ello se debe a su atractivo precio en mercados nacionales e internacionales (SIAP, 2017), donde los consumidores buscan productos que, además de los compuestos nutricionales, contengan compuestos bioactivos que disminuyan el riesgo de diversas enfermedades. Este aspecto es el principal factor por el cual los productores han visto a la zarzamora como un cultivo altamente rentable.

Sin embargo, los frutos de zarzamora son perecederos debido a su alta tasa de respiración, que va de 20 a 40 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, su piel frágil, que la hace susceptible a los daños mecánicos y al ataque de hongos patógenos (Joo, Lewandowski, Auras, Harte & Almenar, 2011; Kader, 2002). Por ello, el principal problema es su corta vida de anaquel, que va de 2 a 3 d a temperatura ambiente (Horvitz, Chanaguano & Arozarena, 2017). Kader (2002) considera que la refrigeración en combinación con las atmósferas modificadas disminuye los problemas antes mencionados, ayudando a aumentar la vida de anaquel del producto. Joo et al. (2011) evaluaron envases de paredes rígidas logrando una vida de anaquel de 12 d a 3 °C. Por su parte, Perkins y Collis (2002) disminuyeron el deterioro de los frutos aplicando atmósferas controladas, sin embargo, encontraron también una disminución en el contenido de las antocianinas por las altas concentraciones de CO₂.

Por su parte, Rodríguez y Zoffoli (2016) observaron atmósferas modificadas con y sin perforaciones combinado con liberación de dióxido de azufre (SO₂) y encontraron que concentraciones de 5.5-6.0 kPa CO₂ y 13.5-13.1 kPa de O₂ son favorables para mantener la calidad postcosecha de frutos de arándano sin problemas de fitotoxicidad por CO₂. Las atmósferas modificadas por medio del microperforado controlan las concentraciones de gases dentro de los envases, evitando alteraciones por altas concentraciones de O₂ y bajas concentraciones de CO₂ (Espinosa-Cruz, Valle-Guadarrama, Ybarra-Moncada, & Martínez-Damián, 2014).

Dado que la demanda del fruto de zarzamora ha aumentado en los últimos años, no sólo en el mercado nacional sino en el extranjero, es importante buscar alternativas para garantizar la preservación de la calidad e inocuidad de los frutos que satisfagan las demandas del mercado.; En tal contexto, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de uso de sistemas de atmósfera modificada con microperforado (AM-M), para aumentar la vida postcosecha del fruto de zarzamora y mantener por más tiempo sus características nutricionales y nutraceuticas.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Material vegetal

Se usaron frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) variedad Tupy, desarrollados en el Municipio de Los Reyes, Michoacán (19°35'00''N 102°28'00''O; 1536 msnm), cosechados de un solo huerto en madurez comercial, los cuales fueron transportados al Laboratorio de Atmósferas y Ambientes Controlados del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo dentro de las 24 h siguientes al corte. Los frutos tuvieron peso de 6.63 (±0.17) g, parámetros de color definidos con valores de 346 (±11.54) en ángulo de matiz, 1.59 (±0.15) en cromaticidad y 17.73 (±0.54) en luminosidad.

3.2.2 Recipientes y tratamientos utilizados

Los frutos de zarzamora fueron almacenados a dos temperaturas (4 y 23 °C), en envase en aire normal y bajo atmósfera modificada pasiva y con microperforado. Para ello, se usaron recipientes de tereftalato de polietileno (PET) de 400 mL de capacidad, en cuya tapa se hicieron perforaciones de 100 µm, dentro se colocaron lotes de 152.0 (± 2.0) g de fruto que constituyeron unidades experimentales (Figura 4). Se tuvieron cuatro tratamientos en cada temperatura, Testigo, recipientes sin microperforaciones (M0), recipientes con una microperforación (M1) y recipientes con tres microperforaciones (M3). Todos los tratamientos se manejaron por triplicado. Las unidades experimentales se colocaron 18 d a 4 °C y 4 d a 23 °C, con muestreos cada tercer día, en los cuales se retiraron tres unidades de cada tratamiento para someterlas a evaluación de concentración de O₂ y CO₂, pérdida acumulada de peso, color, firmeza, apariencia, contenido de sólidos solubles totales, pH, acidez titulable, contenido de fenoles solubles totales, contenido de antocianinas y capacidad antioxidante.



Figura 4 Distribución de tratamientos de los frutos de zarzamora en los envases. A) Testigo, B) tres microperforaciones (M3), C) una microperforación (M1), D) sin microperforación (M0).

3.2.3 Variables fisiológicas

Concentraciones de dióxido de carbono (CO₂) en los recipientes

Se tomó una muestra de 3 mL del espacio de cabeza de cada unidad experimental de los tratamientos M0, M1 y M3, y se colocó en un tubo de vidrio hermético (Vacutainer®, Becton Dickinson de México, S.A. de C.V.). A cada tubo se le agregó 4 mL de una solución de NaHCO₃ al 0.5 % (p/p) mezclado con azul de bromotimol al 0.02% para registrar una transmitancia de 33%. Se aplicó agitación manual durante 15 s y se leyó Transmitancia (%T) en un espectrofotómetro (DR 500 UV-VIS HACH) a 615 nm. Los porcentajes de %T se analizaron con una curva tipo con concentraciones conocidas de dióxido de carbono y los resultados se reportaron como % de CO₂ (García-Cruz, Valle-Guadarrama, Salinas-Moreno, & Luna-Morales, 2016).

Concentraciones de O₂ en los recipientes

Se utilizó un método gravimétrico-colorimétrico para determinar la concentración de O₂ en los recipientes (Valle, 1995). Previo al experimento se pesó 0.65 g de sulfito de sodio (Na₂SO₃) y se aforó a 100 mL con agua destilada (disolución 1) y 0.65 g de sulfato de cobre (CuSO₄) aforados a 100 mL con agua destilada (disolución 2). En seguida se preparó una mezcla con 100 mL de disolución de sulfito de sodio y 7 mL de la disolución de sulfato de cobre (disolución 3).

Se utilizaron tubos herméticos de vidrio (Vacutainer®, Becton Dickinson de México, S.A. de C.V.). Se tomó una muestra de 4 mL del espacio de cabeza de los recipientes correspondientes a los tratamientos M0, M1 y M3, se almacenó en los tubos de vidrio y se registró su peso mediante balanza analítica (Ohaus, USA). A los tubos se les agregaron 3 mL de la disolución 3 y nuevamente se pesaron, en seguida los tubos se colocaron en un horno (Thermo, LAB-LINE) a 70 °C por 20 min y 30 min a 65 °C en Vortex (Labnet, USA) a 100 rpm. Posteriormente, cada tubo se tituló con yodo al 0.1 N hasta obtener una tonalidad amarillo claro, nuevamente se pesaron y se les midió transmitancia a 539 nm en

un espectrofotómetro (DR 500 UV-VIS HACH). Se realizaron balances de materia y con base en la estequiometría de las reacciones involucradas se determinó la concentración de oxígeno, que se expresó en porcentaje.

Pérdida acumulada de peso

Para la medición del peso se utilizó una balanza digital portátil (Ohaus, modelo Scout-Pro, USA). Se tomó peso inicial el día de la instalación del experimento y peso final en el punto de muestreo. Con base en la diferencia se calculó la pérdida acumulada de peso (%). Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

Color

El color se midió en la superficie del fruto con la ayuda de un colorímetro HunterLab (MiniScan XE® Plus, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA, EUA). Las mediciones se realizaron por triplicado en cada tratamiento y se registraron los valores en sistema CieLAB (L^* , a^* , b^*), para posteriormente reportarlos como luminosidad (L^*), ángulo de tono o matiz ($H^* = \tan^{-1} b^*/a^*$) y cromaticidad ($C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$) (McGuire, 1992).

Firmeza

La firmeza se midió con un texturómetro modelo TA-TX2i (Stable Micro Systems, Gran Bretaña), utilizando una sonda esférica de 5 mm. Se usó una rutina de medida de fuerza de compresión con velocidad de ensayo de 2 mm s^{-1} y distancia de deformación de 2 mm. La medición se realizó por triplicado para cada tratamiento y los resultados se expresaron en Newton (N).

Apariencia

Esta prueba se llevó a cabo con tres jueces no entrenados, quienes evaluaron la apariencia de los frutos a la salida de cada punto de muestreo, de acuerdo con la escala categórica descrita en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Escala de apariencia.

Apariencia	Puntuación
5	Muy bueno
4	Bueno
3	Regular
2	Malo
1	Muy malo

3.2.4 Variables químicas

Sólidos solubles totales (SST)

Se molieron dos frutos y se aplicó filtrado para obtener jugo de cada unidad experimental. Se tomó una gota de este jugo, se colocó en un refractómetro manual (ALLA FRANCE modelo ATC) con escala de 0-32 %, y se midieron los SST, los cuales se expresaron en °Brix, de acuerdo con la metodología descrita por la AOAC (1990).

pH y acidez titulable

Se molieron 20 g de zarzamora por cada unidad experimental con 50 mL de agua destilada y el jugo se filtró. Se utilizó un potenciómetro para (Conductronic modelo pH120, Micro precision calibration Inc. EUA) para medir el pH. Para la acidez se tomó una alícuota (10 mL) del jugo filtrado y se neutralizó con NaOH al 0.03 N hasta que el indicador viró al alcanzar pH de 8.2. Los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico de acuerdo con la Ecuación (1) (AOAC, 1990).

$$\% \text{ de ácido cítrico} = \frac{mL \text{ NaOH} * N * \text{MeqAc} * V * 100}{pm * A} \quad (1)$$

Donde mLNaOH: gasto en la titulación; N: normalidad del NaOH; V: volumen total; MeqAc: miliequivalentes del ácido cítrico (0.064); A: alícuota y pm: peso de la muestra.

Obtención de extractos

Los extractos de zarzamora se obtuvieron siguiendo el método propuesto por Hernández-Rodríguez et al. (2016). Cada muestra, previamente molida, se mezcló con metanol al 80% (v/v) en una proporción 0.5:10 (p/v) y se ajustó el pH a 3 con HCl al 10%. Posteriormente, la extracción se hizo por agitación en vórtex (1000 rpm, 3 min), sonicación (15 min), agitación en incubadora (150 rpm, 30°C, 30 min) Después la mezcla fue centrifugada (2500 rpm, 15 min) y el sobrenadante se recuperó y se llevó a un volumen final de 10 mL. A partir de este extracto se cuantificaron los fenoles solubles y las antocianinas totales y la capacidad antioxidante. Los extractos de cada tratamiento se procesaron por triplicado.

Fenoles solubles totales

Los fenoles solubles totales se analizaron mediante el método del reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) adaptado a microplacas. En cada pozo de una microplaca se mezclaron 25 μL del extracto diluido (1.5:1, v/v) con metanol al 80%, agua destilada (125 μL), 20 μL reactivo de Folin-Ciocalteu, diluido con agua destilada (1:10, v/v) y 30 μL carbonato de sodio al 20 %. La mezcla fue agitada y se dejó reposar durante 30 min protegida de la luz, la absorbancia frente al blanco fue medida a 760 nm. La curva de calibración de ácido gálico se preparó en el intervalo lineal de 2.5-29.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra en base fresca $\text{mgEAG100 g}_{\text{bf}}^{-1}$. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

Antocianinas totales

Las antocianinas totales se cuantificaron mediante el protocolo espectrofotométrico de diferencia de pH. Una alícuota del extracto (100 μL) se mezcló con 900 μL de buffer pH 1 (0.025 M KCl). La absorbancia de la mezcla fue medida a 510 y 700 nm usando un lector de microplacas (Synergy 2 microplate reader, Biotek International, software Gen 5). Otra alícuota del extracto (100 μL) fue mezclada con 900 μL de buffer pH 4.5, la absorbancia de esta

disolución fue medida a las mismas longitudes de onda. El contenido de antocianinas fue calculado con base en la Cianidina-3-O-glucosido con base en la Ecuación (2) (Lee et al., 2005).

$$\text{Antocianinas} = \frac{A \cdot PM}{\epsilon \cdot 0.38} \quad (2)$$

Donde A: $(A_{min} - A_{max})_{pH1} - (A_{min} - A_{max})_{pH4.5}$, PM: 449.2 g mol⁻¹ para cianidina 3-glucósido, ϵ : coeficiente de extinción molar de cianidina 3-glucosido (26 900 L mol⁻¹ cm⁻¹), 0.38 longitud de trayectoria, factor de corrección por uso de microplacas. Para los resultados se tomó en cuenta la dilución. Los resultados fueron expresados en termino de mg equivalentes de cianidina-3-O-glucosido por 100 gramo de muestra en base húmeda (mgECG 100g_{bf}⁻¹).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó por los ensayos ABTS (ácido 2,2-azinobis (3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico)) (Re et al., 1999) y FRAP (Benzie & Strain, 1996). Para el ensayo ABTS, el radical libre ABTS^{•+} fue generado por la reacción entre las disoluciones de ABTS 7.4 mM y persulfato de sodio 2.6 mM, la cuales se mezclaron en una proporción 1:1 (v/v) y se dejaron reaccionar, protegidas de la luz, durante 16 h. Posteriormente, una alícuota de la mezcla de reacción (600 μ L) se aforó a 10 mL con metanol. En cada pozo de la microplaca se colocó una alícuota (20 μ L) del estándar o extracto en estudio (apropiadamente diluido) y se mezcló con 180 μ L la disolución de ABTS^{•+}. La disminución de la absorbancia de la mezcla de reacción se midió a 734 nm. La curva de calibración de Trolox se construyó en un intervalo de concentraciones de 4.99 a 59.93 μ M. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base fresca (μ molET g_{bf}⁻¹). T. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

El reactivo FRAP se preparó en el momento de su uso mezclando buffer de acetatos (300 mM, pH 3.6), disolución de TPTZ 10mM en HCl 40 mM y disolución de FeCl₃·6H₂O 20 mM, en una proporción de 10:1:1, respectivamente. Una

alícuota (20 μL) de estándar, o extracto (apropiadamente diluido) o blanco, se mezcló con 180 μl del reactivo FRAP y con 60 μl de agua destilada. La absorbancia se midió a 595 nm. La curva de calibración de Trolox se preparó en un intervalo de concentraciones de 3.8 a 46 μM . Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base fresca ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bf}}^{-1}$). Todas las muestras se analizaron por triplicado.

3.3 Análisis estadístico

El experimento se tuvo en forma congruente con un arreglo factorial bajo un diseño completamente al azar. Los factores de variación fueron la temperatura, con dos niveles (4 y 23 $^{\circ}\text{C}$) y el tipo de almacenamiento, con cuatro niveles (T, M0, M1 y M3). Asimismo, se consideró al tiempo como factor de variación. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y a rutinas de comparación de medias mediante el parámetro estadístico de Tukey, con nivel de significancia igual a 0.05. Todos los análisis se realizaron con el programa SAS (SAS Institute Inc., 1999).

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Caracterización inicial

De acuerdo con Horvitz et al. (2017) los frutos de zarzamora, por su peso, se clasifican como “frutos grandes”, ellos mencionan que los frutos cosechados en etapa 5 alcanzan un peso promedio de 6.25 ± 1.49 g que, de acuerdo con los estándares internacionales, se consideran grandes. La mayoría de las características iniciales (Cuadro 2) encontradas en los frutos de zarzamora cambiaron a través del tiempo de almacenamiento, temperatura y empaque utilizado. Los frutos almacenados a 23 $^{\circ}\text{C}$ se analizaron hasta el 4^o día, ya que después de este día su deterioro era considerable. Por su parte, los frutos almacenados a 4 $^{\circ}\text{C}$ se mantuvieron con buenas características hasta el día 18. Esto se debió a que bajas temperaturas reducen la tasa de respiración de los frutos, disminuyendo con esto el proceso de deterioro (Ezeike & Hung, 2009).

Cuadro 2. Caracterización inicial de frutos de zarzamora.

Parámetro	Valor
Peso (g)	6.63±1.06
Sólidos solubles totales (°Brix)	7.68±0.28
pH	3.26±0.05
Acidez (% de ácido cítrico)	0.49±0.02
Firmeza (N)	1.01±0.05
Luminosidad (L*)	17.72±0.54
Cromaticidad (C*)	1.59±0.15
Ángulo de tono (H*)	346.28±11.54
Fenoles totales (mgEAG 100g _{bf} ⁻¹)	242.12±27.50
Antocianinas totales (mgECG 100g _{bf} ⁻¹)	194.03±26.46
Capacidad antioxidante con ABTS (μmolET g _{bf} ⁻¹)	26.42±2.12
Capacidad antioxidante con FRAP (μmolET g _{bf} ⁻¹)	15.46±4.80

3.4.2 Condiciones de operación de los sistemas de AM

Cuadro 3. Valores percentiles (O₂ y CO₂) de la distribución de Fisher con (α=0.05) y valores de F correspondientes al análisis de varianza en la evaluación de una atmósfera modificada con microperforado en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C durante 4 y 18 d.

Variable	Factor de variación							Error	CV
	T(°C)	E (Envase)	Φ (día)	TxE	TxΦ	ExΦ	TxExΦ		
GI	1	2	9	2	2	18	4	78	
F	3.96	3.11	1.99	3.11	3.11	1.73	2.48		
	Variables respuesta								
O ₂	25.06 ^{*z}	1.91 ^{ns z}	4.89 [*]	0.41 ^{ns}	0.89 ^{ns}	2.40 [*]	0.09 ^{ns}		12.23
CO ₂	298.46 [*]	2.35 ^{ns}	21.7 [*]	11.7 [*]	21.72 [*]	1.88 [*]	5.31 [*]		36

^z Los símbolos * y ns significan efecto significativo y no significativo, respectivamente, de los factores de variación sobre el efecto de una atmósfera modificada en frutos de zarzamora.

Se aceptó que la concentración de O₂ en los sistemas expuestos a aire normal (tratamiento testigo) fue 20.95% (Kader & Saltveit, 2003). En el caso de los frutos manejados en AM, la concentración de O₂ en el interior de los envases se afectó

por temperatura y por el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.05$) (Cuadro 3). Por otro lado, no hubo interacción significativa entre los tres factores de variación considerados ($p > 0.05$). En el caso de la concentración de CO₂, se obtuvo una situación similar, con interacción por temperatura y tiempo ($p \leq 0.05$).

Cuadro 4. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en las concentraciones de O₂ y CO₂

Fuente de Variación	O ₂ (%)	CO ₂ (%)
<u>Temperatura</u>		
23 °C	10.31 (± 0.26) a ^z	4.65 (± 0.44) a
4 °C	12.60 (± 0.18) b	1.29 (± 0.06) b
<u>Envases</u>		
<u>TESTIGO</u>		
M0	-	-
M1	11.70 (± 0.32) a	2.25 (± 0.39) a
M3	12.24 (± 0.30) a	1.88 (± 0.24) a
<u>Tratamientos a 23 ° C (4 d)</u>		
<u>TESTIGO</u>		
M0	-	-
M1	9.77 (± 0.50) a	5.63 (± 1.10) a
M3	10.80 (± 0.48) a	4.37 (± 0.38) a
<u>Tratamientos a 4 ° C (18 d)</u>		
<u>TESTIGO</u>		
M0	-	-
M1	12.28 (± 0.32) a	1.24 (± 0.10) ab
M3	12.68 (± 0.32) a	1.13 (± 0.07) b
M3	12.85 (± 0.30) a	1.52 (± 0.13) a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

Se sabe que las condiciones ambientales están compuestas por aproximadamente 20.95 % O₂ y 0.03 % de CO₂ (Kader & Salveit, 2002). Al empacar los frutos en envases, estas cantidades variaron por el proceso de respiración, por lo cual se registró un aumento en el CO₂ y una disminución en el O₂. Se visualizó una diferencia significativa entre temperaturas, de modo que los frutos almacenados a 23 °C registraron concentraciones más bajas de O₂ y más altas de CO₂ (Cuadro 4). Esta situación se consideró normal, en virtud de que es bien conocido que un incremento en la temperatura causa un incremento de la

actividad metabólica (Nunes & Emond, 2003), de forma que al ser mayor la temperatura, la actividad respiratoria fue mayor, causando mayor reducción de oxígeno y acumulación de dióxido de carbono.

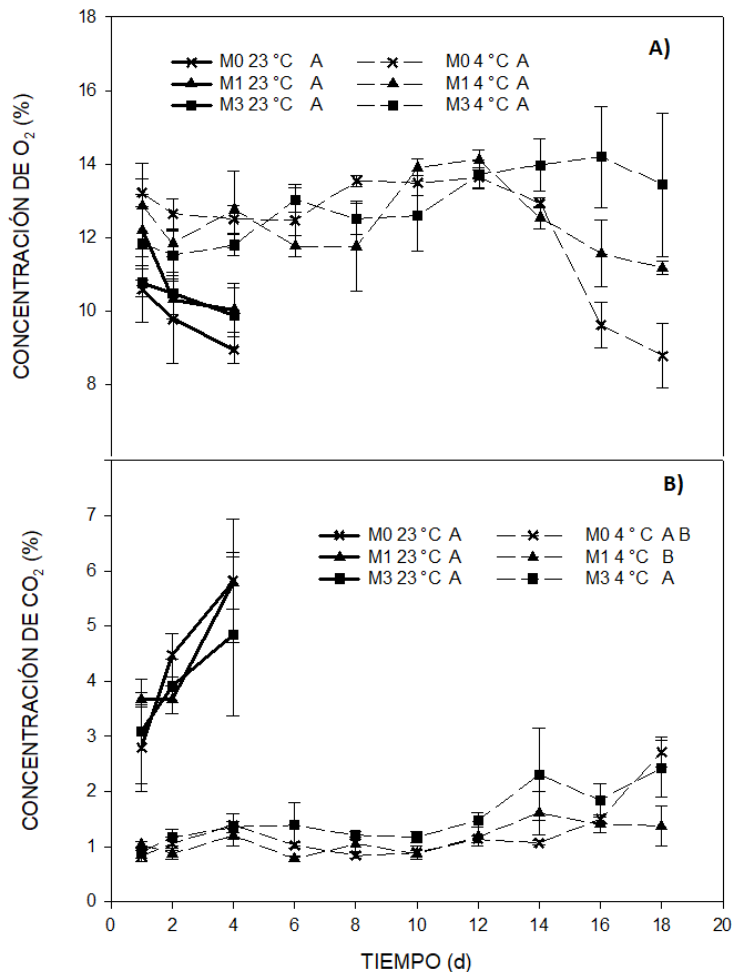


Figura 5. Cambios de las concentraciones de A) O₂ y B) CO₂ en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

No se registraron diferencias significativas entre los empaques ($p \leq 0.05$). M0, M1 y M3, lo que indicó que las concentraciones de O₂ y CO₂ fueron similares a pesar del nivel de microperforado. Los frutos manejados a 4 °C registraron diferencia significativa en la concentración de CO₂, ya que los tratamientos M0 y M3 presentaron concentraciones más altas (Cuadro 4). En el caso de M0, al no tener microperforados se esperaba que las concentraciones de CO₂ fueran altas,

sin embargo, no se esperaba lo mismo para M3. Para los frutos a 4°C, tanto el O₂ como el CO₂ mostraron cambios menores hasta el día 12 y después de este punto se observó una disminución acelerada de O₂, siendo más notorio en M0 (Figura 5). En un estudio con frutos de zarzamora de las variedades Cancask y Chester envasados en recipientes de poliestireno y poliácido láctico a 3 °C Joo et al. (2011) reportaron valores de 1.4 y 2.0 % de CO₂, 19.3 y 19.1% de O₂. En este trabajo se encontraron porcentajes promedio de 12.60 % O₂ y 1.29 % CO₂ a 4 °C y se cree que las diferencias podrían estar relacionadas con la permeabilidad que propicia el microperforado en los envases.

3.4.3 Pérdida de peso

En la variable pérdida de peso (Cuadro 6) el efecto de la temperatura, el tipo de envase, los días de almacenamiento y la interacción entre ellos fueron significativos ($p < 0.05$). La temperatura de 4 °C causó menor pérdida de peso en frutos de zarzamora (Cuadro 5). La transpiración y en menor medida el consumo de sustratos son la razón de pérdida de peso, debido a su origen, se le denomina pérdida fisiológica de peso y precisamente porque la principal causa es la transpiración (Maguire, Banks & Opara. 2001; Parra & Fische, 2013). Por otro lado, la transpiración es causada por la presencia de un déficit de presión de vapor, donde ésta es mayor en el interior que en el exterior del producto, induciendo un transporte de masa a través del epicarpio (Ben-Yehoshua & Rodov, 2003). La zarzamora es un fruto succulento, es decir que tiene alto contenido de agua, por lo que su valor de a_w es cercano a la unidad. Sin embargo, una reducción de la temperatura causa un incremento de la humedad relativa en el exterior (Thompson, 2002), con lo cual se reduce el déficit de presión de vapor y explica por qué a menor temperatura la pérdida fisiológica fue menor.

Cuadro 5. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en la pérdida de peso.

Fuente de Variación	% de pérdida de peso
<u>Temperatura</u>	
23 °C	3.52 (±1.05) a ^z
4 °C	2.88 (±0.36) b
<u>Envase</u>	
TESTIGO	9.15 (±0.90) a
M0	0.92 (±0.15) b
M1	1.13 (±0.13) b
M3	0.92 (±0.19) b
<u>Tratamientos a 23 ° C (4 d)</u>	
TESTIGO	12.06 (±12.67) a
M0	0.53 (±0.23) b
M1	0.95(±0.23) b
M3	0.56 (±0.12) b
<u>Tratamientos a 4 °C (18 d)</u>	
TESTIGO	8.28 (±0.82) a
M0	1.04 (±0.18) b
M1	1.18 (±0.16) b
M3	1.03 (±)0.24 b

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

En cuanto al tipo de empaque, se registró que los frutos de zarzamora almacenados en envases con microperforado presentaron una diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto del testigo, ya que registraron pérdidas de peso mínimos (Figura 6) y no se encontró diferencia significativa entre los niveles ($p > 0.05$) M0, M1 y M3. Los estudios de la pérdida agua en frutos, demuestran que el agua se pierde en forma de vapor que se difunde hacia el espacio de cabeza del empaque, después se transfiere a través de las paredes y luego a la atmósfera externa (Castellanos, Herrera & Herrera 2016). En los productos hortofrutícolas almacenados en envases plásticos, se crea un microambiente alrededor del material vegetal caracterizado por una alta humedad relativa, por lo tanto, los frutos manejados en atmósfera modificada presentaron una pérdida de peso inferior a los expuestos al aire.

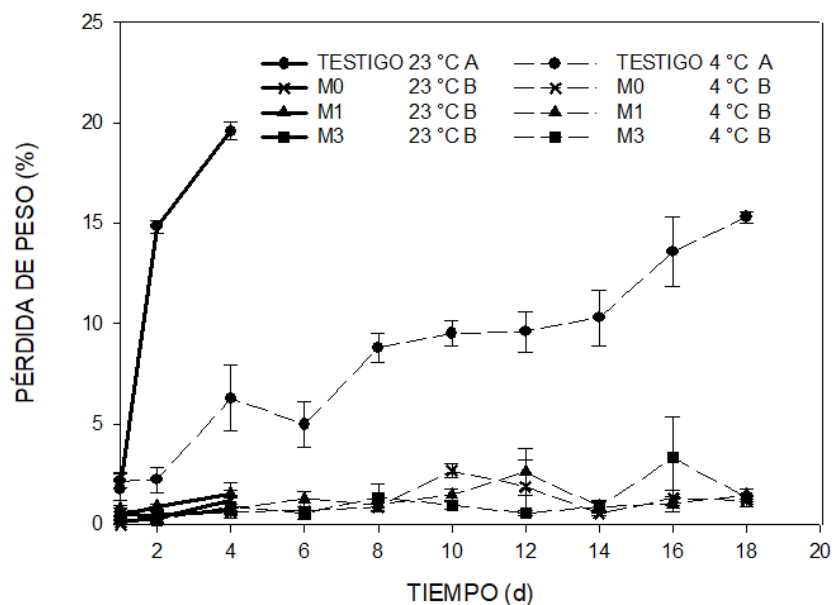


Figura 6. Cambios en la pérdida de peso de frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

La pérdida de peso, de los frutos de zarzamora que sirvieron como testigo a 4 y 23 °C, aumentó con respecto el tiempo de almacenamiento (Figura 6). Por otro lado, en los envases microperforados el peso de los frutos se mantuvo por más tiempo, registrando al final pérdidas de peso menores al 1.5 %. Los resultados encontrados fueron menores a los reportados por Joo et al. (2011). Asimismo, Horvitz et al. (2017) encontraron que la pérdida de peso en los frutos de zarzamora aumenta (9 % después de 10 d a 8 °C y de 4-5% después de 3 d a 18 °C) durante el tiempo de almacenamiento cuando se utilizan en envases de plástico (PET).

Cuadro 6. Valores percentiles de la distribución de Fisher (F0.05) con ($\alpha=0.05$) y valores de F correspondientes al análisis de varianza en la evaluación de una atmósfera modificada con microperforado en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4°C durante 4 y 18 d.

Variable	Factor de variación							Error	CV
	T(°C)	E (Trat)	Φ (día)	TxE	Tx Φ	Ex Φ	TxEx Φ		
GI	1	3	9	3	2	27	6	104	
F	3.93	2.69	1.97	2.69	3.08	1.60	2.19		
Variables respuesta									
Pp	69.06* ^z	489.10*	21.2*	22.8*	19.01*	15.86*	16.31*	-	38.02
L*	0.03 ^{ns z}	0.59 ^{ns}	15.3*	1.14 ^{ns}	1.94 ^{ns}	1.55 ^{ns}	1.76 ^{ns}	-	4.99
C*	1.04 ^{ns}	1.35 ^{ns}	7.55*	1.85 ^{ns}	0.08 ^{ns}	1.09 ^{ns}	1.71 ^{ns}	-	34.17
H*	0.76 ^{ns}	0.17 ^{ns}	9.79*	0.36 ^{ns}	1.66 ^{ns}	1.00 ^{ns}	1.06 ^{ns}	-	4.76
Firmeza	3.42 ^{ns}	21.29*	4.74*	0.75 ^{ns}	1.66 ^{ns}	1.60*	1.86 ^{ns}	-	28.10
Aparien	78.0*	32.11 *	53.2*	3.71 *	30.78*	5.63*	3.71*	-	12.20
SST	9.30*	46.80*	4.71*	6.60*	4.72*	2.50*	1.72 ^{ns}	-	9.68
Acidez	6.97*	3.50*	30.59*	1.43 ^{ns}	8.53 ^{ns}	1.67 ^{ns}	4.17*	-	10.66
pH	0.01 ^{ns}	12.20*	23.4*	0.72 ^{ns}	6.07*	0.92 ^{ns}	1.19 ^{ns}	-	3.13
Fenoles	268.88*	2.20 ^{ns}	19.8*	1.92 ^{ns}	27.74*	0.74 ^{ns}	1.53 ^{ns}	-	10.67
Antocia	24.39*	4.88*	11.5*	0.47 ^{ns}	25.42*	1.00 ^{ns}	0.55 ^{ns}	-	24.31
ABTS	33.83*	1.65 ^{ns}	21.8*	2.53 ^{ns}	15.94*	1.21 ^{ns}	2.57*	-	16.83
FRAP	237.25*	4.55*	25.7*	4.18*	70.64*	0.75 ^{ns}	1.42 ^{ns}	-	19.89

^z Los símbolos * y ns significan efecto significativo y no significativo, respectivamente, de los factores de variación sobre el efecto de una atmósfera modificada en frutos de zarzamora.

3.4.4 Color

Luminosidad

La luminosidad fue afectada por el tiempo de almacenamiento (Cuadro 6); no obstante, en la comparación de medias (Cuadro 7) se observa que los frutos almacenados a 4 °C mostraron valores ligeramente más altos en luminosidad. Sin embargo, los valores a 4 °C se mantuvieron a lo largo del almacenamiento de 18 d, en tanto que el comportamiento encontrado a 23 °C sólo fue durante 4 d y de allí que el efecto de la temperatura sí fue significativo. De acuerdo con Sant'Anna, Gurak, Ferreira y Tessaro (2013) L*=0 denota color negro y L*=100

un color blanco; por lo tanto, a 23 °C las zarzamoras presentaron colores ligeramente más oscuros que las almacenados a 4 °C, seguramente debido a la concentración de pigmentos causada por la deshidratación.

Cuadro 7. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en luminosidad, cromaticidad y ángulo de tono.

Fuente de Variación	Luminosidad L*	Cromaticidad C*	Ángulo de tono H*
<u>Temperatura</u>			
23 °C	17.15 (±0.18) a ^z	1.42 (±0.09) a	340.67 (±2.33) a
4 °C	17.69 (±0.11) b	1.40 (±0.05) a	335.00 (±1.90) a
<u>Envase</u>			
TESTIGO	17.69 (±0.21) a	1.52 (±0.10) a	334.97 (±3.03) a
M0	17.52 (±0.19) a	1.34 (±0.10) a	336.66 (±3.66) a
M1	17.44 (±0.19) a	1.42 (±0.08) a	337.47 (±3.29) a
M3	17.60 (±0.20) a	1.33 (±0.07) a	336.12 (±2.53) a
<u>Tratamientos a 23 ° C</u> (4 d)			
TESTIGO	16.90 (±0.18) a	1.79 (±0.23) a	337.12 (±5.18) a
M0	17.31 (±0.25) a	1.32 (±0.17) a	343.34 (±3.79) a
M1	17.23 (±0.52) a	1.23 (±0.09) a	344.40 (±5.20) a
M3	17.17 (±0.47) a	1.36 (±0.18) a	337.82 (±4.63) a
<u>Tratamientos a 4 °C</u> (18 d)			
TESTIGO	17.93 (±0.26) a	1.44 (±0.10) a	334.33 (±3.66) a
M0	17.58 (±0.24) a	1.34 (±0.13) a	334.66 (±4.58) a
M1	17.51 (±0.19) a	1.48 (±0.10) a	335.40 (±3.95) a
M3	17.73 (±0.21) a	1.33 (±0.07) a	335.61 (±3.01) a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

En el Cuadro 7 se observa que no hubo diferencia significativa entre los diferentes tratamientos. En el caso de 4 °C, el color se mantuvo estable hasta el día 12 y después se presentó una modificación (Figura 7), lo que indica que los frutos pasaron ligeramente a un color menos oscuro. Hortvitz et al. (2017) estudiaron dos estados de madurez en zarzamora y encontraron valores de 25.02 ± 2.89 para los frutos menos maduros y 17.62 ± 2.17 para los frutos más maduros.

Asimismo, observaron un decremento en la fruta más madura después de 9 d de almacenamiento a 8 °C, indicando una pérdida de brillo asociado a la senescencia.

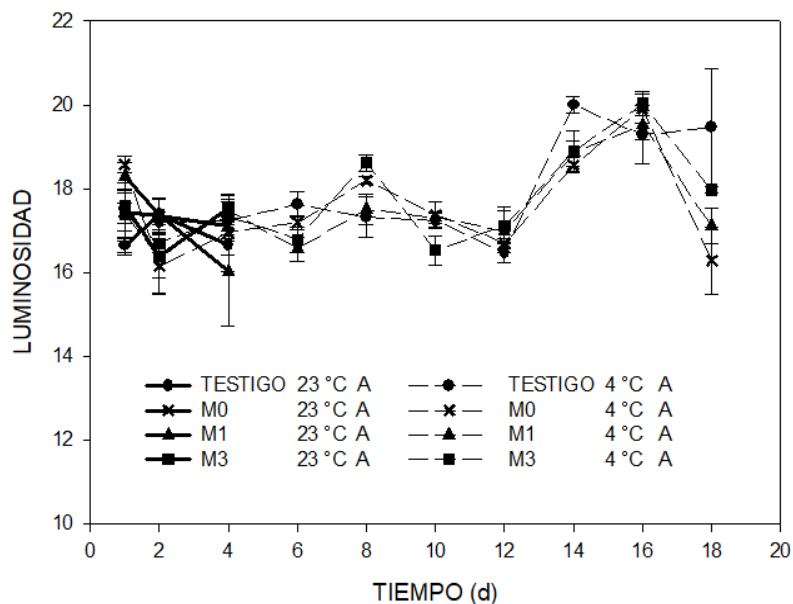


Figura 7. Cambios de la luminosidad en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Cromaticidad

La cromaticidad sólo presentó diferencia significativa (Cuadro 6) por los días de almacenamiento y esto ocurrió alrededor del día 10, donde se registraron los valores más bajos (Figura 8). En cuanto a la temperatura y el tipo de empaque, no presentaron diferencias significativas (Cuadro 7). De acuerdo con Sant'Anna et al. (2013), la cromaticidad denota la intensidad de color, por lo tanto, en los frutos de zarzamora dicho parámetro no se vio afectado o mejorado al usar un empaque con M0, M1 o M3 en las temperaturas mencionadas. El valor de la cromaticidad se mantuvo entre 0.5 y 2.5 (Cuadro 7). Si bien esta variable presentó variación, no se observó una tendencia clara a lo largo de los días de almacenamiento a 4 y a 23 °C, lo cual concordó con lo reportado por Monroy-Gutiérrez, Valle-Guadarrama, Espinosa-Solares y Martínez-Damián (2013), que

utilizaron un empaque con microperforado en huitlacoche y no encontraron una tendencia marcada en esta variable.

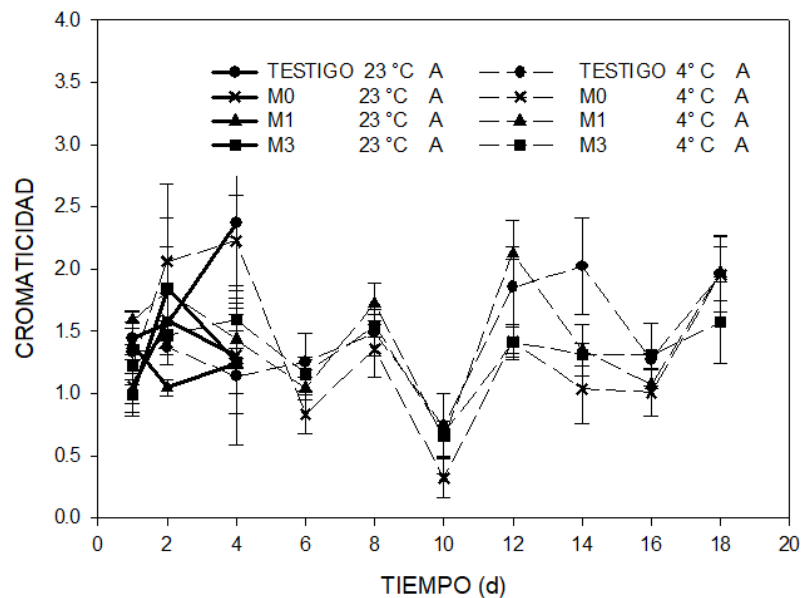


Figura 8. Cambios de la cromaticidad en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Ángulo de tono (H^*)

Para el caso del ángulo de tono el efecto del tipo de empaque y la temperatura no resultaron significativos (Cuadro 6); sin embargo, los días de almacenamiento sí afectaron significativamente este parámetro. Se observó que el ángulo de tono disminuyó (Figura 9) con respecto a los días de almacenamiento tanto a 23 °C como a 4 °C. el ángulo de tono (H^*) describe la saturación de color y de acuerdo con Sant'Anna et al. (2013) los valores encontrados se localizan en el cuadrante IV en el plano cartesiano del espacio CIELAB, que indica ángulos de 270° para colores azules y 0° para colores rojos, correspondiente a un color púrpura, tendiendo a color oscuro en la última etapa de madurez de los frutos de zarzamora.

El ángulo de tono fue estadísticamente igual en ambas temperaturas, sin embargo, se observó un valor ligeramente más alto a 23 °C (Figura 9), lo cual se

relaciona con los valores de luminosidad más bajos y con los valores de fenoles y antocianinas más altos a 23 °C, ya que Wei-Dong y Shi-Ying (2007) mencionaron que las antocianinas son las responsables de los colores atractivos en frutillas. Tanto en frutos testigo, como en frutos almacenados en AM no se presentó el problema de regresión de color (Red Cell Reversion). Este problema se asocia a cambios rápidos de temperatura y desequilibrio de minerales, principalmente de N, sin embargo, no hay estudios contundentes sobre el tema (UofA, 2018).

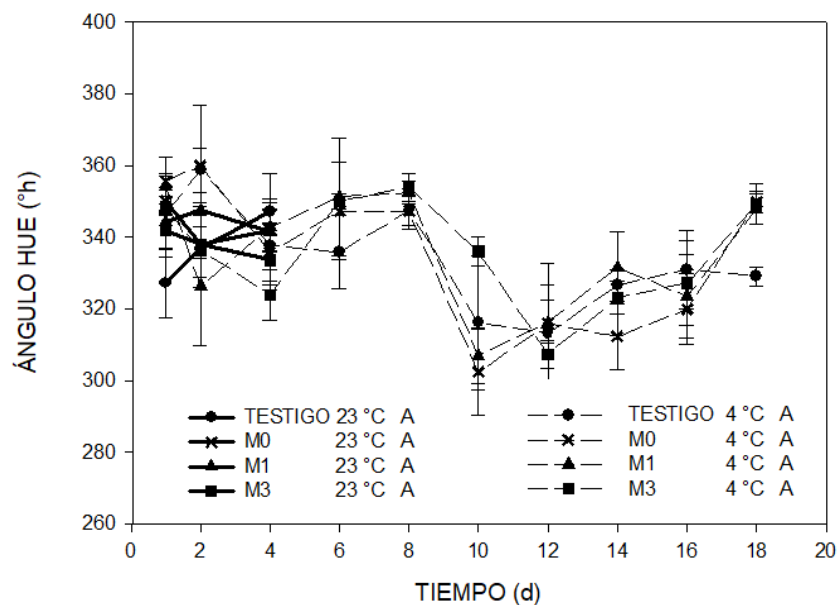


Figura 9. Cambios del ángulo hue en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa (Tukey, $p < 0.05$).

3.4.5 Firmeza

Para el caso de la firmeza, el envase, los días de almacenamiento y la interacción entre ellos causaron efecto significativo en los frutos de zarzamora (Cuadro 6). La temperatura no causó efecto significativo (Cuadro 8). Sin embargo, los frutos almacenados a 23 °C sólo se mantuvieron por 4 d, mientras que los almacenados a 4 °C se mantuvieron por 18 d. Esto se debe a que las altas temperaturas aceleran las reacciones enzimáticas, el metabolismo de los patógenos y la

pérdida de humedad, lo que conllevan a un ablandamiento y pérdida de firmeza en pocos días (Paniagua, East & Heyes, 2014).

Cuadro 8. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en firmeza.

Fuente de Variación	Firmeza (N)
<u>Temperatura</u>	
23 °C	0.83 (± 0.04) a ^z
4 °C	0.79 (± 0.02) a
<u>Envase</u>	
TESTIGO	0.55 (± 0.06) b
M0	0.88 (± 0.09) a
M1	0.89 (± 0.09) a
M3	0.88 (± 0.07) a
<u>Tratamientos a 23 ° C (4 d)</u>	
TESTIGO	0.59 (± 0.08) b
M0	0.96 (± 0.08) a
M1	0.94 (± 0.09) a
M3	0.83(± 0.05) ab
<u>Tratamientos a 4 °C (18 d)</u>	
TESTIGO	0.54 (± 0.03) b
M0	0.85 (± 0.05) a
M1	0.87 (± 0.05) a
M3	0.89 (± 0.04) a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

Al inicio del experimento los frutos de zarzamora presentaban resistencia a la compresión de 1.01 (± 0.05) N y desde ese estado la firmeza disminuyó paulatinamente a través del tiempo hasta 0.46 (± 0.14) N para los frutos testigo y 0.63 (± 0.19) N para frutos en atmósfera modificada (Figura 10). El debilitamiento de la estructura es un proceso de senescencia que implica modificaciones en los polisacáridos, los componentes proteicos de la pared celular primaria y la lámina media, así como la actividad de agua y los radicales (Handa, Tiznado-Hernández & Mattoo, 2012). Para los frutos de zarzamora “Chester” almacenadas en dos tipos de envases, a base de poliestireno y poliácido láctico Joo et al. (2011) reportaron una disminución lineal de firmeza de 14 N a 7 N. La diferencia

encontrada puede atribuirse al estado de madurez de los diferentes frutos, ya que de acuerdo con Hortvitz et al. (2017), al estudiar dos estados de madurez en zarzamora encontraron que a lo largo del almacenamiento los frutos de menor madurez se mantuvieron más firmes. Es decir, la firmeza depende de diversos factores, tales como: estado de madurez del fruto, temperatura y atmósfera circundante.

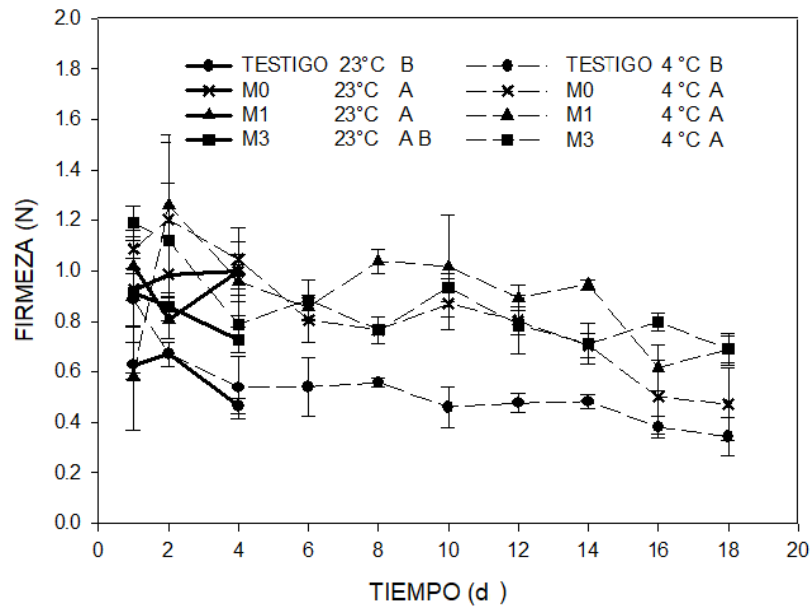


Figura 10. Cambios de la firmeza en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Los frutos de zarzamora utilizados como testigo mostraron las mayores pérdidas de firmeza a 4 y 23 °C, mientras que las zarzamoras empacadas en envases con microperforado (M0, M1 y M3) mantuvieron los frutos más firmes. Al modificar la atmósfera circundante, con los envases utilizados, se generó un ambiente con una mayor humedad, lo que evitó que se perdiera peso y firmeza, lo cual concordó con lo que se ha encontrado en fresa (Kartal, Seckin & Caner, 2012) e higo almacenados en frío (Villalobos et al., 2014).

3.4.6 Apariencia

De acuerdo con Mahajan et al. (2017) la apariencia es un atributo importante de calidad que engloba principalmente color (uniformidad, intensidad y brillo), tamaño (dimensiones, masa y volumen), forma (diámetro y uniformidad) y daños (superficial, patológico, mecánico, etc.). La apariencia de los frutos de zarzamora se afectó por el tiempo y el tipo de envase ($p < 0.05$) durante el almacenamiento (Cuadro 6).

Cuadro 9. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en apariencia.

Fuente de Variación	Apariencia
<u>Temperatura</u>	
23 °C	3.80 (± 0.21) a ^z
4 °C	3.97 (± 0.10) a
<u>Envase</u>	
<u>TESTIGO</u>	
M0	3.51 (± 0.16) b
M1	3.61 (± 0.26) b
M3	4.23 (± 0.16) a
<u>Tratamientos a 23 ° C (4 d)</u>	
<u>TESTIGO</u>	
M0	4.38 (± 0.12) a
M1	3.66 (± 0.40) a
M3	3.55 (± 0.64) a
<u>Tratamientos a 4 ° C (18 d)</u>	
<u>TESTIGO</u>	
M0	3.46 (± 0.17) c
M1	3.63 (± 0.29) cb
M3	4.26 (± 0.19) ab
M3	4.53 (± 0.11) a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

De acuerdo con la comparación de medias no se registró diferencia significativa entre los niveles de temperatura (Cuadro 9). Sin embargo, los datos a 23 °C correspondieron sólo a un almacenamiento de 4 d, lo que sugirió que el efecto significativo de la temperatura se expresó por medio de mayor tiempo de

almacenamiento permitido. En general, se observó que tanto a 23 como a 4 °C la apariencia disminuyó con respecto al tiempo de almacenamiento. En cuanto al tipo de envase, se observó que a 4 °C M1 y M3 mostraron valores de apariencia estadísticamente más altos en comparación con el testigo y M0 (Cuadro 9).

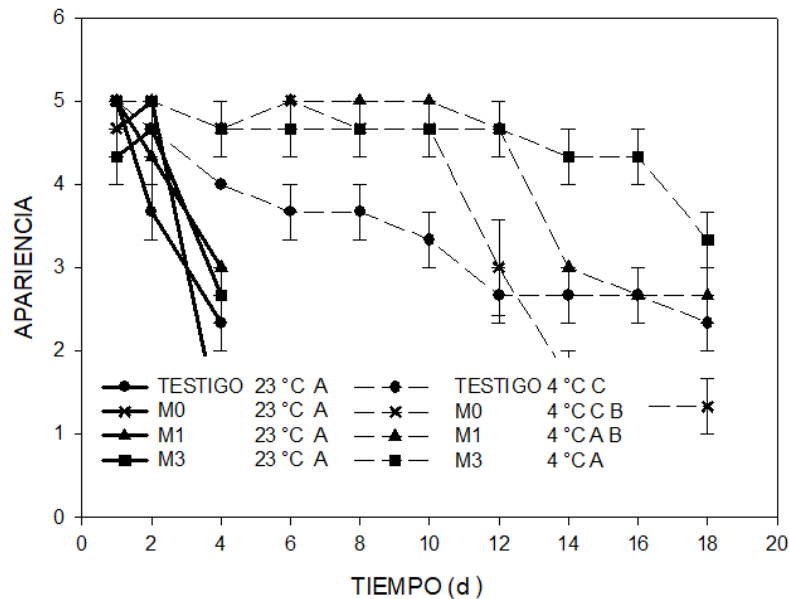


Figura 11. Cambios de la apariencia en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tomando en cuenta lo mencionado por Mahajan et al. (2017) en este trabajo el color de los frutos de zarzamora no sufrió cambios significativos, sin embargo, la forma y el tamaño sí, pues los frutos testigo mostraron una apariencia de marchitez y por lo tanto menos masa, en tanto que los envases correspondientes a los tratamientos M0 presentaron condensación, lo que causó proliferación de hongos. A 23 °C no se registró diferencia significativa entre tratamientos, mientras que a 4 °C M3 fue el mejor tratamiento debido a que mostró una apariencia de regular a buena el final de 18 d (Figura 11), los frutos de M1 obtuvieron valores de malo a regular y M0 registró apariencias de muy malo a malo al final de 18 d de almacenamiento. Se observó que uno de los principales factores que deterioraron la apariencia de la zarzamora fue la presencia de hongos (Figura 12). La proliferación de hongos es el principal problema de la

corta vida de anaquel de las frutillas, siendo *Botrytis* sp y *Colletotrichum* sp. las especies más comunes (Ayala & Morales, 2007; Ramos-Solano et al., 2015).

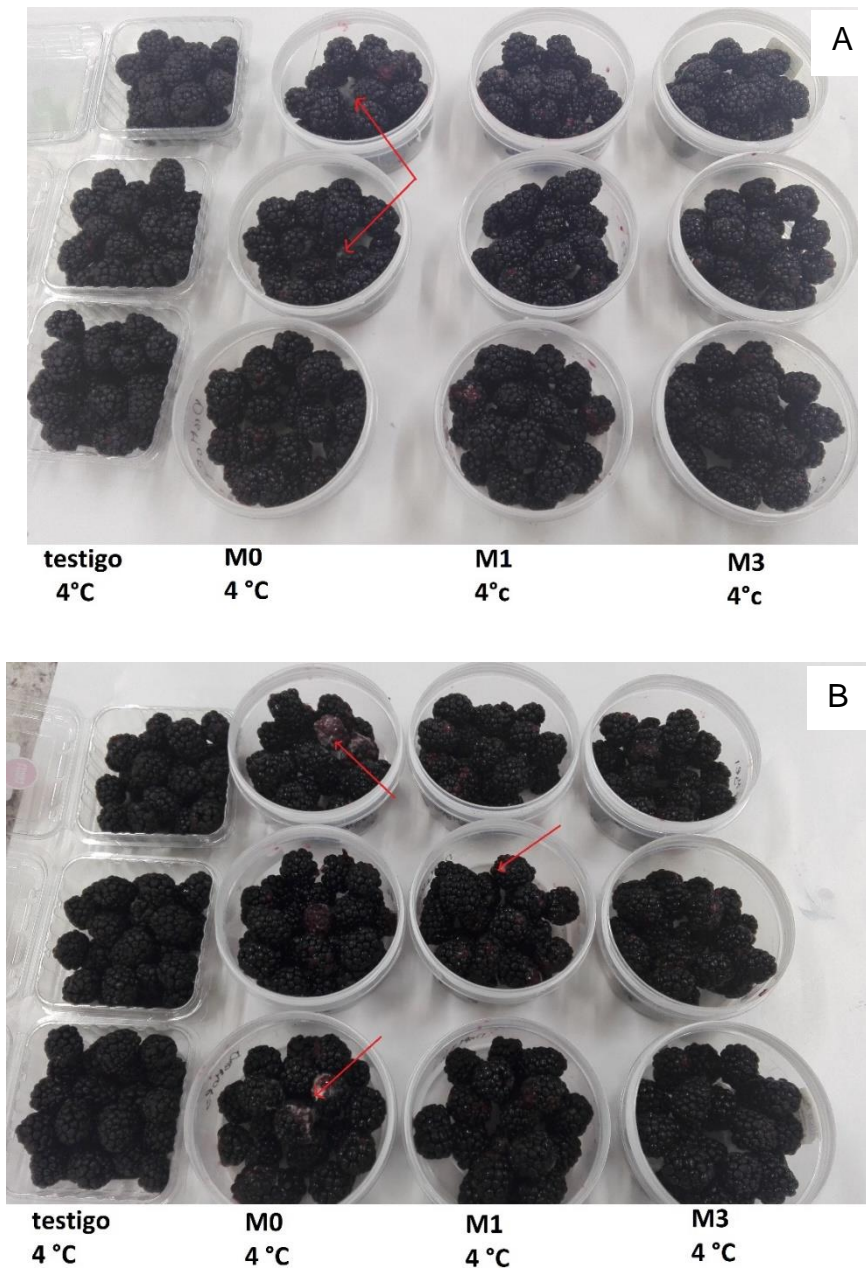


Figura 12. Apariencia de los frutos de zarzamora A) día 16, B) día 18 de almacenamiento. Las flechas indican presencia de hongos. Testigo, sin microperforación (M0), una microperforación (M1) y tres microperforaciones (M3).

3.4.7 Sólidos solubles totales (SST)

El contenido de SST se afectó por la temperatura, el tiempo de almacenamiento y las características del envase. Asimismo, hubo interacción significativa entre los distintos factores de variación (Cuadro 6). De acuerdo con la comparación de medias, a 23 °C no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 10). A 4°C los frutos almacenados en M0, M1 y M3 presentaron valores estadísticamente menores de SST y no registraron diferencias significativas entre ellos, comparados con el tratamiento testigo que registró valores más altos de SST durante los 18 d de almacenamiento (Figura 13). Resultados similares fueron reportados por Olivera et al. (2014), quienes observaron que los SST se mantuvieron constantes a lo largo de 18 d de almacenamiento (0 °C), en comparación con el control, que sufrió una variación después del noveno día. En dicho trabajo, los frutos de zarzamora se almacenaron en cajas de plástico sin perforaciones en combinación con una película de quitosano y almidón de mandioca.

Cuadro 10. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en los SST.

Fuente de Variación	SST (° Brix)
Temperatura	
23 °C	6.88 (±0.12) a ^z
4 °C	7.21 (±0.11) b
Envase	
TESTIGO	8.26 (±0.18) a
M0	6.76 (±0.12) b
M1	6.89 (±0.15) b
M3	6.63 (±0.14) b
Tratamientos a 23 °C (4 d)	
TESTIGO	7.33 (±0.14) a
M0	7.08 (±0.21) a
M1	6.60 (±0.22) a
M3	6.51 (±0.27) a
Tratamientos a 4 °C (18 d)	
TESTIGO	8.54 (±0.20) a
M0	6.67 (±0.14) b
M1	6.98 (±0.19) b
M3	6.67 (±0.16) b

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

Para M0, M1 y M3 se registraron SST menores a 8 °Brix. Estos valores difieren ligeramente de los reportados por Joo et al. (2011), quienes observaron valores de 9.63 y 9.20 °Brix para dos variedades diferentes, con una disminución durante el almacenamiento, dado principalmente por la descomposición de los frutos. Sin embargo, Mikulic-Petkovsek, Koron, Zorenc y Veberic (2017) reportaron valores de 7.60-8.06 °Brix para frutos de zarzamora en madurez óptima. Por lo tanto, las atmósferas modificadas pasivas ayudan a conservar los SST en frutos de zarzamora, mientras que en los frutos testigo hay una mayor concentración de SST, atribuible a la deshidratación de los frutos y mayor concentración de compuestos

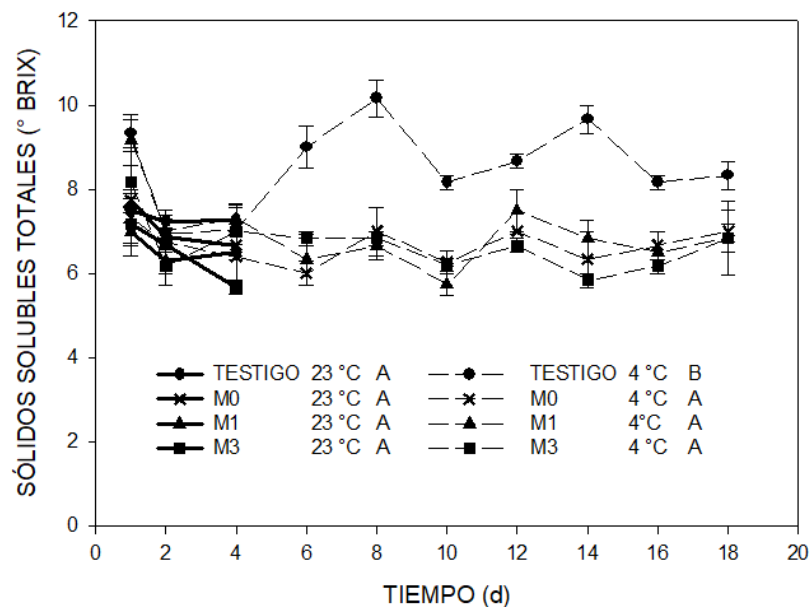


Figura 13. Cambios de los sólidos solubles totales en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.4.8 Acidez y pH

Tanto en la acidez como en el pH se vieron afectados por el tiempo de almacenamiento (Cuadro 6). El material manejado a 23 °C registró el valor de acidez más alto y el pH más bajo (Cuadro 11) aunque debe tenerse en cuenta que esta condición térmica sólo pudo conducirse por 4 d. La comparación de

medias indicó que el porcentaje de acidez titulable y el pH de los frutos de zarzamora almacenados 23 °C no sufrieron cambios significativos entre tratamientos. Por su parte, los frutos almacenados a 4 °C experimentaron un caso similar en la acidez, pero no para el pH, ya que a esta temperatura los frutos testigo presentaron porcentajes ligeramente más altos (Cuadro 11). Diversos autores como Horvitz et al. (2017), y Piña-Dumoulin, Saucedo, Ayala y Muratalla (2001) reportaron también que no encontraron cambios significativos entre tratamientos, pero sí en el tiempo, al utilizar atmósferas modificadas y controladas en frutos de zarzamora.

Cuadro 11. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en la acidez y pH.

Fuente de Variación	Acidez (%)	pH
<u>Temperatura</u>		
23 °C	0.47 (±0.01) a ^z	3.31 (±0.02) a
4 °C	0.40 (±0.01) b	3.42 (±0.01) b
<u>Envase</u>		
TESTIGO	0.41 (±0.01) ba	3.47 (±0.03) a
M0	0.43 (±0.01) a	3.34 (±0.02) b
M1	0.40 (±0.01) b	3.39 (±0.02) b
M3	0.40 (±0.01) b	3.38 (±0.02) b
<u>Tratamientos a 23 ° C (4 d)</u>		
TESTIGO	0.49 (±0.04) a	3.36 (±0.07) a
M0	0.48 (±0.02) a	3.25 (±0.05) a
M1	0.48 (±0.02) a	3.30 (±0.05) a
M3	0.45 (±0.01) a	3.33 (±0.03) a
<u>Tratamientos a 4 °C (18 d)</u>		
TESTIGO	0.39 (±0.01) a	3.51 (±0.02) a
M0	0.42 (±0.01) a	3.36 (±0.02) b
M1	0.39 (±0.01) a	3.42 (±0.02) ba
M3	0.40 (±0.01) a	3.40(±0.03) b

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

En la Figura 14 se observa que durante el almacenamiento de los frutos de zarzamora a las dos temperaturas el valor de la acidez disminuyó y el pH aumentó. Esta misma tendencia fue reportada por Jung, Perkins-Veazie, Ma y

Fernandez (2015) y ello se debe a que los ácidos orgánicos son utilizados como sustratos en el proceso de la respiración y para la síntesis de otros compuestos como azúcares. Asimismo, Mikulic-Petkovsek, Koron, Zorenc y Veberic (2017) mencionaron que el aroma y sabor de los frutos se ven afectados por los ácidos orgánicos y azúcares, para el caso de los frutos de zarzamora mencionaron que entre 40 a 50 % del total de los ácidos orgánicos corresponden a ácido cítrico.

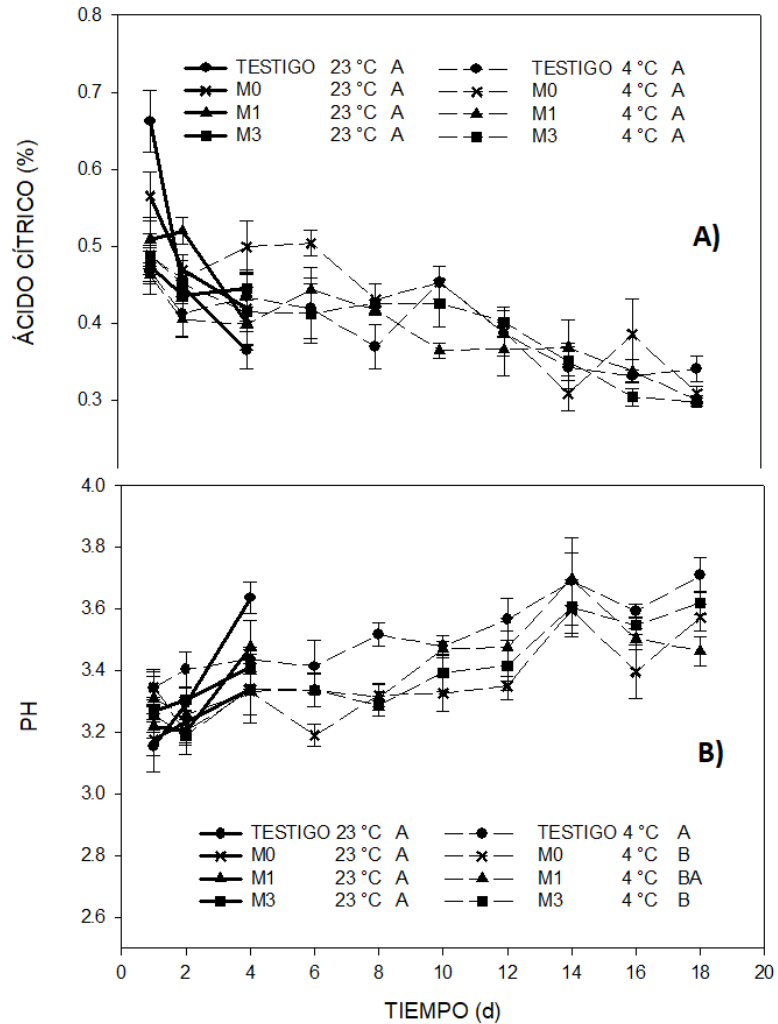


Figura 14. Cambios de A) la acidez titulable y B) pH en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.4.9 Fenoles solubles totales

Los fenoles solubles totales (FST) se vieron afectados por la temperatura (Cuadro 6), el tiempo de almacenamiento y la interacción entre estos factores. Los frutos almacenados durante 4 d a 23 °C presentaron valores más altos de fenoles totales, comparados con los manejados a 4 °C durante 18 d (Cuadro 12). Samec y Piljac-Zegarac (2011) reportaron una situación similar en frutos de zarzamora almacenados por 4 d a 25 °C y 14 d a 4 °C. Esto se puede explicar que las altas temperaturas generan estrés e inducen el metabolismo de compuestos fenilpropanoides en el tejido (Gil, Allende & Martínez- Sánchez, 2007).

Cuadro 12. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en fenoles solubles totales.

Fuente de Variación	Fenoles solubles totales (mgEAG 100g _{bf} ⁻¹)
<u>Temperatura</u>	
23 °C	252.55 (±8.64) a ^z
4 °C	185.93 (±2.40) b
<u>Envase</u>	
TESTIGO	208.47 (±7.26) a
M0	196.35 (±7.01) a
M1	200.26 (±6.62) a
M3	200.15 (±7.32) a
<u>Tratamientos a 23 ° C (4 d)</u>	
TESTIGO	268.36 (±14.79) a
M0	248.82 (±16.66) a
M1	239.42 (±18.70) a
M3	253.61 (±20.19) a
<u>Tratamientos a 4 °C (18 d)</u>	
TESTIGO	190.51 (±4.84) a
M0	180.61 (±4.85) a
M1	188.50 (±5.01) a
M3	184.11 (±4.53) a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

Al inicio del experimento el contenido de los fenoles totales (CFT) fue de 242.12±27.50 mgECG 100g_{bf}⁻¹ g. Este valor sufrió cambios, a 23 °C durante el

primer día se registró un aumento considerable (Figura 15) pero después, el deterioro de las frutas propició su disminución. Por el contrario, a 4 °C, el CFT disminuyó en los primeros 5 d, sin embargo, en todos los tratamientos, a partir del sexto día aumentó y se mantuvo sin mostrar diferencias significativas entre los tratamientos. En otro trabajo, los frutos de zarzamora almacenados en clamshell a 2 °C por 9 d, se observó un aumento en el CFT hasta el día 3 y después una disminución (Wu, Frei, Kennedy & Zhao 2010).

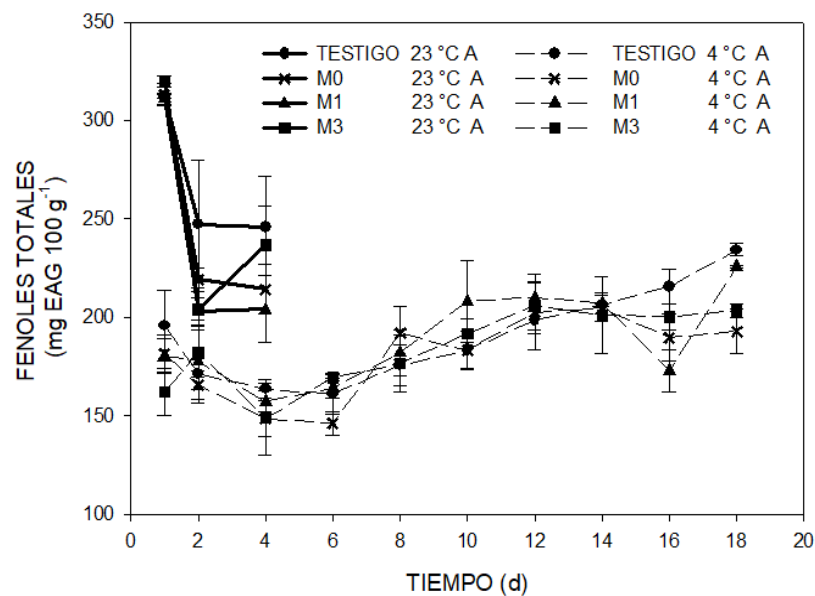


Figura 15. Cambios de fenoles totales en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Al término de 18 d de almacenamiento se encontró que el CFT fue mayor a lo reportado por Van de Velde et al. (2016) quienes obtuvieron CFT de 161.8, 162.4 y 139.8 mg 100 g⁻¹ en tres diferentes variedades de frutos de zarzamora y menor a lo reportado por Horvitz et al. (2017), quienes obtuvieron CFT de 669.64 ±58.46 mg 100 g⁻¹. La variación en el CFT podría estar asociado factores tales como la variedad, temperaturas de almacenamiento, operaciones de cultivo entre otros. Los compuestos fenólicos juegan un papel importante en los frutos de zarzamora:

son los responsables de su pigmentación, los protegen contra los microorganismos y radiación ultravioleta entre otros (Hariram & Won, 2014). En cuanto al tipo de envase no se registró diferencia significativa entre los diferentes niveles de microperforado y el testigo, lo que indica que las atmósferas modificadas no perjudicaron el comportamiento de los compuestos fenólicos en frutos de zarzamora.

3.4.10 Antocianinas totales

Las antocianinas representan los principales pigmentos solubles en agua, visibles al ojo humano y pertenecen al grupo de los flavonoides. En este trabajo el contenido de antocianinas fue afectado por la temperatura, el tipo de empaque y tiempo de almacenamiento (Cuadro 6). A 23 °C se presentó mayor cantidad de antocianina, sin diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 13). Jung et al. (2015) reportaron un aumento de antocianinas totales cuando los frutos se transfirieron del almacenamiento a 1 °C por 13 d a 20 °C 2 d en las variedades de Natchez y Navaho. Sin embargo, esto va a depender de la intensidad de la temperatura, ya que Astrid (2008) mencionó que altas temperaturas pueden generar pérdida del azúcar glucosilante en la posición 3 de la molécula y apertura del anillo, con la consecuente producción de chalconas incoloras. A 4 °C las antocianinas presentaron una mayor estabilidad con diferencia significativas entre tratamientos (Figura 16).

El testigo y M3 mostraron mayor cantidad de antocianinas y un aumento al final de 18 d, mientras que M0 mostró los valores más bajos con una disminución acelerada después del día 16. Una situación similar fue reportada por Olivera, Kwiatkowski, Rosa y Clemente (2014), quienes encontraron una disminución significativa de las antocianinas en los frutos almacenados en envases de PET a 0 °C y cubiertas con Kefir al 20% en comparación con frutos almacenados en envases de PET sin recubrimiento. Los cambios se atribuyeron al cambio de pH, ya que las antocianinas son estables a pH 1.0-3.5. Esto coincide con los resultados de este trabajo, ya que después del día 14 hubo una variación en las antocianinas y un incremento del pH. Por su parte Joo et al. (2011), al utilizar un

envase no biodegradable comparado con un envase biodegradable, reportaron una disminución de las antocianinas totales almacenadas a 3 °C durante 18 d, reafirmando que es necesario hacer más pruebas antes de descartar el material de embalaje como irrelevante para el contenido de antocianinas en las moras.

Cuadro 13. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en antocianinas totales.

Fuente de Variación	Antocianinas totales (mgECG 100g _{bf} ⁻¹)
<u>Temperatura</u>	
23 °C	184.42 (±14.64) a ^z
4 °C	140.60 (±2.87) b
<u>Envase</u>	
TESTIGO	169.06 (±8.10) a
M0	139.45 (±8.30) b
M1	144.38 (±8.77) b
M3	149.45 (±8.58) ab
<u>Tratamientos a 23 ° C</u>	
TESTIGO	203.62 (±27.78) a
M0	180.95 (±29.34) a
M1	168.20 (±33.33) a
M3	184.93 (±30.72) a
<u>Tratamientos a 4 °C</u>	
TESTIGO	158.69 (±5.64) a
M0	127.00 (±4.81) b
M1	137.23 (±5.62) b
M3	139.46 (±5.57) ab

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

Los compuestos fenólicos presentes en los frutos de zarzamora están representados principalmente por flavonoides (antocianinas). Esto puede explicar que los datos de antocianinas fueron cercanos a los valores de fenoles solubles totales, ya que de acuerdo con Mikulic-Petkovsek et al. (2017) las antocianinas representan un 80% de los fenoles totales, siendo la cianidina-3-O-glucósido la que está presente en mayor cantidad en los frutos de zarzamora. Asimismo, los contenidos de antocianinas totales cuantificado en este trabajo coinciden con los reportados (78.82, 112.81 y 153.39 mg 100 g⁻¹) por Mikulic-

Petkovsek et al. (2017) para tres estados de madurez. Por su parte, Olivera et al. (2014) reportaron 74.5 mg 100 g⁻¹ y 91.3 para frutos de zarzamora con y sin recubrimiento a base de quitosano al quinto día de almacenamiento (10 °C).

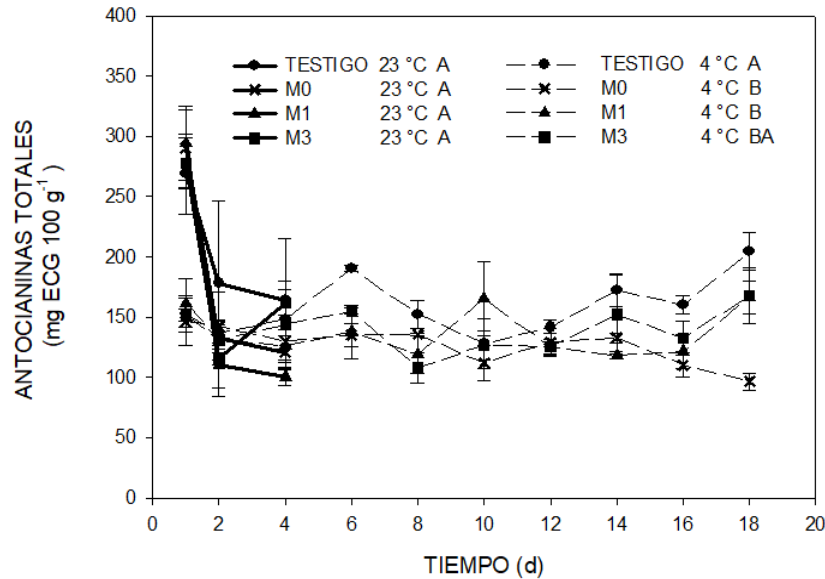


Figura 16. Cambios de antocianinas totales en frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.4.11 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante en los frutos de zarzamora, determinada por el ensayo ABTS, fue afectada por la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Cuadro 6), pero no por las características del envase. Sin embargo, la evaluación hecha con el método de FRAP sí mostró afectación por el tipo de envase, además de los otros dos. Por otra parte, los valores obtenidos con ambos métodos mostraron tendencia similar a lo largo del almacenamiento (Figura 17), pero los resultados entre un método y otro variaron ligeramente (Cuadro 14) y ello se debió a que los métodos utilizados tienen fundamentos diferentes, en el caso del FRAP se trata de un método de transferencia de electrones, basado en la reducción del ion Fe³⁺ (Rosales-Castro, 20014), en tanto que el método ABTS se fundamenta en la

eliminación de radicales libres (Grandois, Guffond, Hamon, Marchioni & Werner, 2017).

Cuadro 14. Comparación de medias entre temperaturas, tipo de envase y tratamientos en cada temperatura, en la capacidad antioxidante.

Fuente de Variación	ABTS ($\mu\text{molET g}_{\text{bf}}^{-1}$)	FRAP ($\mu\text{molET g}_{\text{bf}}^{-1}$)
<u>Temperatura</u>		
23 °C	23.36 (± 1.34) a ^z	15.97 (± 1.33) a
4 °C	21.16 (± 0.47) b	10.55 (± 0.28) b
<u>Envase</u>		
TESTIGO	22.72 (± 0.96) a	12.99 (± 0.90) a
M0	20.96 (± 0.90) a	11.26 (± 0.71) b
M1	21.38 (± 1.01) a	11.40 (± 0.84) b
M3	21.63 (± 1.00) a	11.53 (± 0.87) b
<u>Tratamientos a 23 ° C</u>		
TESTIGO	26.51 (± 2.18) a	18.30 (± 2.88) a
M0	22.22 (± 2.74) a	14.94 (± 2.24) a
M1	21.08 (± 2.99) a	13.82 (± 3.00) a
M3	23.63 (± 2.84) a	16.83 (± 2.74) a
<u>Tratamientos a 4 ° C</u>		
TESTIGO	21.58 (± 1.00) a	11.39 (± 0.57) a
M0	20.58 (± 0.86) a	10.17 (± 0.52) a
M1	21.47 (± 1.00) a	10.67 (± 0.62) a
M3	21.03 (± 0.99) a	9.94 (± 0.53) a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). Se muestra también el error estándar.

Los frutos almacenados a 23 °C por 4 d reportaron estadísticamente mayor capacidad antioxidante que los frutos almacenados a 4 °C por 18 d. Zou, Xi, Hu, Nie y Zhou (2016) mencionaron que dentro de los factores postcosecha que influyen en la capacidad antioxidante están el tiempo de almacenamiento, temperatura, humedad, intensidad de luz y compuestos químicos utilizados, ya que dañan o mejoran la capacidad antioxidante dependiendo del fruto. En este caso, es probable que en el primer día a 23 °C se haya estimulado la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) y posteriormente el deterioro de los frutos propició la glicosilación de compuestos flavonoides, lo que condujo a una disminución de la capacidad antioxidante. De acuerdo con la comparación de medias en cada temperatura, no se registraron diferencias significativas entre tratamientos

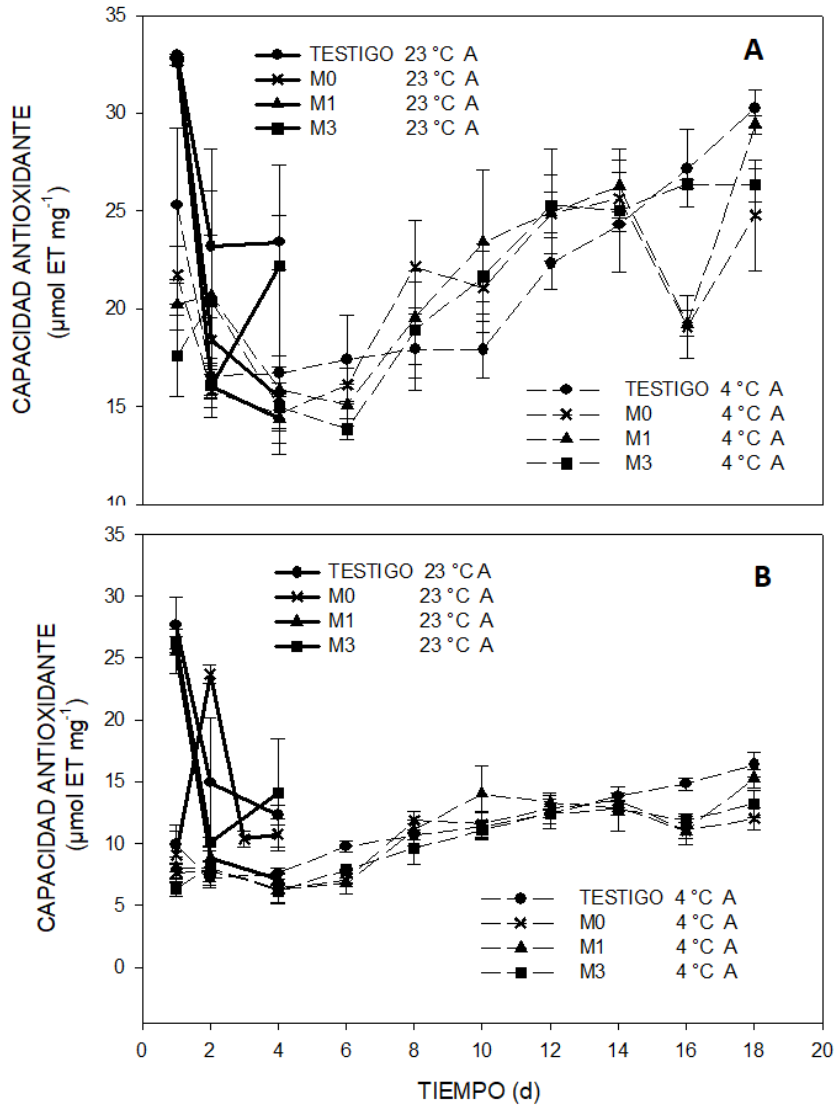


Figura 17. Cambios en la capacidad antioxidante en A) método ABTS y B) método FRAP para frutos de zarzamora almacenados a 23 y 4 °C a 4 y 18 d, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada nivel de temperatura indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

(Cuadro 14). Sin embargo, a 23 °C para ambos métodos se observó un aumento de la capacidad antioxidante en el primer día de almacenamiento y después una disminución con respecto al valor inicial (26.42 ± 2.12 y $15.46 \pm 4.80 \mu\text{mol ET g}_{\text{bf}}^{-1}$ para ABTS y FRAP respectivamente). Por su parte, a 4 °C se registró una disminución en los primeros 6 d y después un aumento, situación que fue más marcada en ABTS. Lo encontrado difiere un poco de lo reportado por Samec y

Piljac-Žegarac (2011) en FRAP a 25 °C y 4 °C, quienes reportaron que la capacidad antioxidante disminuyó seguido de un aumento significativo entre los 2 y 4 d, registrando al final del almacenamiento una capacidad antioxidante más alta a 25 °C. En tanto, para el método ABTS se registró un aumento a 25 °C y una disminución a 4 °C

Finalmente, los valores encontrados en ambos métodos fueron cercanos al rango de 17.23 a 43.21 $\mu\text{molET g}_{\text{bf}}^{-1}$ reportado por Mikulic-Petkovsek et al. (2017), quienes utilizaron el método de FRAP para medir capacidad antioxidante en frutos de zarzamora en diferentes estados de madurez y mayores a los reportados por Šamec et al. (2011). Esto se debe a diversos factores como variedad de fruto, temperaturas de almacenamiento, entre otros. Una alta capacidad antioxidante se traduce en una mayor capacidad de contrarrestar los radicales libres que pueden dañar las membranas celulares y el ADN a través de un proceso conocido como estrés oxidativo (Hariram & Won, 2014).

3.5 Conclusiones

De acuerdo con los objetivos planteados y los resultados obtenidos, la refrigeración, en complemento con las atmósferas modificadas con microperforado, prolonga la vida de anaquel de los frutos de zarzamora al reducir los procesos metabólicos de maduración.

La atmósfera circundante de los frutos dentro de los envases con y sin microperforado mostró concentraciones promedio de O₂ y CO₂ de 10.31% y 4.65% a 23 °C comparado con 12.60 % y 1.29% a 4 °C.

Las atmósferas modificadas con microperforado disminuyeron considerablemente la pérdida de peso y firmeza.

A 4 °C se tuvo menor variación de los SST en los frutos almacenados en AM y M3 fue el mejor tratamiento para conservar la apariencia.

El color de los frutos no presentó cambios significativos ni problemas de regresión de color, mientras que el pH aumentó y la acidez disminuyó, proceso típico en la maduración de los frutos.

El contenido fenólico total fue mayor a 23 °C. Sin embargo, a 4 °C hubo una mayor estabilidad de estos compuestos a través del tiempo, sin efectos contundentes debido a los envases con microperforado, a excepción de las antocianinas a 4 °C, donde el testigo y M3 presentaron la mayor cantidad de antocianinas.

Finalmente, la vida postcosecha de los frutos de zarzamora fue determinada por la presencia de hongos. A 23 °C la vida postcosecha de los frutos fue de 3 a 4 d, mientras que a 4 °C con recipientes con tres microperforaciones (M3) los frutos se conservaron hasta por 18 d con buenas características fisiológicas y químicas.

3.6 Literatura citada

- Alonso, O. C., Chávez, B. A., & García S. P. (2012). *Proteómica de la maduración de frutos de zarzamora (Rubus sp.) cultivados en México, una primera aproximación*. Universidad Autónoma Indígena de México. México. P 33.
- AOAC (1990). *Official Methods and Analysis*. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Airlington, VA, EEUU. 689 pp
- Astrid, G. G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biológica Colombia*, 13, 27-36.
- Ayala, L. H. A. & Morales, S. S. G. (2007). Evaluación patogénica de algunos hongos asociados con enfermedades de frutos de zarzamora (*Rubus sp.*), cuahuayote (*Jacaratia mexicana* A. DC.) y ciruela mexicana (*Spondias sp.*). (Tesis como requisito para obtener el título de Ingeniero en Alimentos). Instituto Politécnico Nacional. 45
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Ben-Yehoshua, S. & V. Rodov. (2003). Transpiration and water stress. In: J.A. Bartz and J.K. Brecht. (Eds.). *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., NY. 111-159.
- Castellanos, D. A., Herrera, D. R. & Herrera, A. O. (2016). Modelling water vapour transport, transpiration and weight loss in a perforated modified atmosphere packaging for feijoa fruits. *Biosystems Engineering*, 151, 218-230. doi: org/10.1016/j.biosystemseng.2016.08.015
- Espinosa-Cruz, C., Valle-Guadarrama, S., Ybarra-Moncada, Ma. C., & Martínez-Damián, M. T. (2014). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37 (3), 235-242.
- Ezeike, G. & Hung, Y. (2009). Refrigeration of Fresh Produce from Field to Home: Refrigeration Systems and Logistics. *Postharvest Handling*, 19, 1-25.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y. & Luna-Morales, C. C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 69-76. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.07.004
- Gil, M. I., Allende, A., & Martínez-Sánchez, A. (2007). Factores que afectan al contenido de compuestos bioactivos en alimentos de iv gama. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. En línea en: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/69/425/69425.pdf>
- Grandois, J. L., Guffond, D., Hamon, E., Marchioni, E & Werner, D. (2017). Combined microplate-ABTS and HPLC-ABTS analysis of tomato and pepper extracts reveals synergetic and antagonist effects of their lipophilic

- antioxidative components. *Food Chemistry*, 223, 62-71. doi: org/10.1016/j.foodchem.2016.12.008
- Handa, A. K., Tiznado-Hernández, M.-E., & Mattoo, A. K. (2012). Fruit development and ripening. *Plant Biotechnology and Agriculture*, 405–424. doi:10.1016/b978-0-12-381466-1.00026
- Hariram, N. S. & Won, P. S. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30,134–144 doi: doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Hernández-Eugenio, G., Villa-García, M., Reyes-Trejo, B., & Guerra-Ramírez, D. (2016). Influence of Polar Solutions on the Extraction of Phenolic Compounds from Capulín Fruits (*Prunus serotina*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 60, 73-78.
- Horvitz, S., Chanaguano, D. & Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226, 293-301. doi: org/10.1016/j.scienta.2017.09.002
- Joo, M., Lewandowski, N., Auras, R., Harte, J. & Almenar, E., (2011). Comparative shelf life study of blackberry fruit in bio-based and petroleum-based containers under retail storage conditions. *Food Chemistry* 126, 1734-1740. doi: org/10.1016/j.foodchem.2010.12.071
- Jung, K. M., Perkins-Veazie, P., Ma, G., & Fernandez, G. (2015). Shelf life and changes in phenolic compounds of organically grown blackberries during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*. 110, 257–263. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.020
- Kader, A. (2002). *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. (3a ed). University of California Oakland, California, 4-41-53
- Kader, A., & Saltveit, M.E. (2003). *Respiration and Gas Exchange*. University of California, Davis, California, US.A. 23p
- Kartal, S., Seckin, A. M., & Caner, C. (2012). Use of microperforated films and oxygen scavengers to maintain storage stability of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 71, 36-40. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2012.04.009
- Lee, J., DursT, R. W. & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88, 1269-1278.
- Maguire, K.M., Banks, N.H., Opara, L.U. (2001). Factors affecting weight loss of apples. *Horticultural Reviews* 25, 197–234. Doi: 10.1002/9780470650783.
- Mahajan, P. V., Caleb, O. J., Gil, M. I., Izumi, H., Colelli, G., Watkins, C. B. & Zude, M. (2017). Quality and safety of fresh horticultural commodities: Recent advances and future perspectives. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 2–11. doi: org/10.1016/j.fpsl.2017.08.001

- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.
- Mikulic-Petkovsek, M., Koron, D., Zorenc, Z., & Veberic, R. (2017). Do optimally ripe blackberries contain the highest levels of metabolites?. *Food Chemistry*, 215, 41–49. doi: org/10.1016/j.foodchem.2016.07.144.
- Monroy-Gutiérrez, T., Valle-Guadarrama, S., Espinosa-Solares, T., Martínez-Damian, M.T.& Pérez-López, A. (2013) Effect of microperforation and temperature on quality of modified atmosphere packaged huitlacoche (*Ustilago maydis*), *Journal of Food*, 11:4, 309-317. doi: 10.1080/19476337.2012.755712
- Nunes, M.C. N & Émond, J.P. (2003). Storage temperatura. 2nd. ed. In: Bartz, J.A & Brecht, J.K. (Eds), *Postharvest physiology and pathology of vegetables*. (pp. 209-228). Gainesville, FL: University of Florida. ISBN 9780824706876
- Olivera, D. M., Kwiatkowski, A., Rosa, C. I. L. F., & Clemente, E. (2014). Refrigeration and edible coatings in blackberry (*Rubus* spp.) conservation. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2120–2126. Doi: 10.1007/s13197-012-0702-3
- Paniagua, A.C., East, A.R. & Heyes, J. A. (2014). Interaction of temperature control deficiencies and atmosphere conditions during blueberry storage on quality outcomes. *Postharvest Biology and Technology* 95, 50–59 dio: org/10.1016/j.postharvbio.2014.04.006
- Parra, C. A. & Fischer, G. (2013). Ripening and postharvest behavior in the pineapple guava (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret). A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 7, 98-110. doi: 10.17584/rcch.2013v7i1.2039
- Perkins, V. P., & Collins, J. K. (2002). Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 235-239. doi: org/10.1016/S0925-5214(02)00025-X
- Piña-Dumolin, G., Saucedo, V.C., Ayala, V. & Muratalla, L. (2001). Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en Zarzamora (*Rubus* sp.). *Rev. Fac. Agron.* 18, 87-105
- SAS Institute, Inc., 1999. SAS/STAT® User's Guide, Version 8. SAS Institute Inc.: Cary, NC.
- SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2017). Atlas Agroalimentario 2017. 236 p.
- Ramos-Solano, B., Algar, A., Gutierrez-Mañero, F. J., Bonilla, A., Lucas, J. A. & García-Seco, D. (2015). Bacterial bioeffectors delay postharvest fungal growth and modify total phenolics, flavonoids and anthocyanins in blackberries. *Food Science and Technology*, 61, 437- 443. doi: org/10.1016/j.lwt.2014.11.051

- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang y C. Rice-Evans (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radicals in Biology and Medicine*: 26(9/10), 1231– 1237
- Rodríguez, J. & Zoffoli, J.P. (2016). Effect of sulfur dioxide and modified atmosphere packaging on blueberry postharvest quality. *Postharvest Biology and Technology*, 117, 230-238. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2016.03.008
- Rosales-Castro, M., González-Laredo, R.F., Young-Soo, B., Kgu, K. J., Morre, J. & Karchesy, J. J. (2014). Characterization and Antioxidant Properties of the Condensed Tannins from Alaska Cedar Inner Bark. *Academy of Chemistry of Globe Publications*, (8) 3, 217-227
- Samec, D., & Piljac-Zegarac, J. (2011). Postharvest stability of antioxidant compounds in hawthorn and cornelian cherries at room and refrigerator temperatures—Comparison with blackberries, white and red grapes. *Scientia Horticulturae*, 131, 15-21. doi. org/10.1016/j.scienta.2011.09.021
- Sant'Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira, M. L. D. & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods: A review. *Dyes and Pigments* 98, 601e608. doi: org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.
- Thompson, J.T. 2002. Psychrometrics and perishable commodities. Ch13. In A.A. Kader (ed.). *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Publication 3311, Univ. California Agriculture and Natural Resources, Oakland. pp. 129-134
- UofA, (2018). University of Arkansas System. En línea en: <https://www.uaex.edu/farm-ranch/crops-commercial-horticulture/horticulture/ar-fruit-veg-nut-update-blog/posts/fruitdisorders.aspx>
- USDA: United States Department of Agriculture Agricultural Research Service (2018). En línea en: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?home=true>
- Valle, G. S. (1995). Evaluación de películas plásticas para el almacenamiento de productos hortofrutícolas mediante atmósferas modificadas. (Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias, Maestría en Ciencias de la Ingeniería Química). Instituto Politécnico Nacional. 92p
- Van de Velde, F., Grace, M. H., Esposito, D., Pirovani, M. É., & Lila, M. A. (2016). Quantitative comparison of phytochemical profile, antioxidant, and anti-inflammatory properties of blackberry fruits adapted to Argentina. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, 82–91. doi: 10.1016/j.jfca.2016.01.008
- Villalobos, M. C., Serradilla, M. J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Pereira, C. & Córdoba, M. G. (2014). Use of equilibrium modified atmosphere packaging for preservation of 'San Antonio' and 'Banane' breba crops (*Ficus carica* L.).

- Postharvest *Biology and Technology*, 98,14–22. doi:
org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.001
- Wei-Dong, W. & Shi-Ying, Xu. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering* 82, 271–275, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.01.018
- Wu, R., Frei, B., Kennedy, J. A., Zhao, Y. (2010). Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of 'Marion' and 'Evergreen' blackberries. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1253-1254. doi: 10.1016/j.lwt.2010.04.002
- Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C. & Zhou, Z. (2016). Antioxidant activity of Citrus fruits. Review. *Food Chemistry*, 196, 885-896. doi:
org/10.1016/j.foodchem.2015.09.072

4. USO DE UN ACEITE ESENCIAL PARA EL CONTROL DE HONGOS EN FRUTOS DE ZARZAMORA EN POSTCOSECHA

Resumen

Los frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) tienen vida de anaquel menor a 4 d a temperatura ambiente, debido al desarrollo de hongos. Los aceites esenciales han sido probados para el control microbiano de frutas en postcosecha debido a que sus componentes activos tienen potencial antifúngico. El objetivo del trabajo fue evaluar un agente antimicrobiano para el control de los hongos que causan el deterioro del fruto de zarzamora para alargar la vida útil en postcosecha. Los hongos que ocasionan daños a los frutos de zarzamora se aislaron y cultivaron en papa-dextrosa-agar y se identificaron al microscopio. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) *in vitro* utilizando el método de siembra por punción central con concentraciones de aceite esencial de orégano (AEO) de 0.1 a 0.4 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Posteriormente se hizo evaluación *in vivo* mediante inoculación de frutos y el uso del AEO en concentraciones de 0.2 a 0.8 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Se encontró que *Aspergillus carbonarius*, *Alternaria alternata*, y *Penicillium digitatum* están implicados en el daño postcosecha. La CMI *in vitro* fue 0.4, 0.2 y 0.2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para *A. carbonarius*, *A. alternata*, y *P. digitatum*, respectivamente. En pruebas *in vivo* la CMI para el crecimiento de los tres hongos fue de 0.8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de AEO. La técnica de cromatografía en capa fina reveló presencia de timol, carvacrol y linalool como los principales constituyentes del AEO. La aplicación del AEO de forma indirecta al fruto de zarzamora disminuyó la incidencia de hongos.

Palabras clave: *Rubus fruticosus*, aceite esencial de orégano, concentración mínima inhibitoria, control fúngico.

USE OF AN ESSENTIAL OIL FOR THE CONTROL OF FUNGI IN ZARZAMORA FRUIT IN POSTCOSECHA

Abstract

The fruits of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) have a shelf life of less than 4 d at room temperature, due to the development of fungi. The essential oils have been tested for the microbial control of fruits in postharvest because their active components have antifungal potential. The objective of the work was to evaluate an antimicrobial agent for the control of the fungi that cause the deterioration of the fruit of blackberry to extend the useful life in postharvest. The fungi that cause damage to the blackberry fruits were isolated and cultivated in papa-dextrose-agar and identified under the microscope. The minimum inhibitory concentration (MIC) *in vitro* was determined using the central puncture method with concentrations of oregano essential oil (AEO) from 0.1 to 0.4 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Subsequently, *in vivo* evaluation was made by inoculating fruits and using AEO in concentrations of 0.2 to 0.8 $\mu\text{L mL}^{-1}$. It was found that *Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius* and *Penicillium digitatum* are implicated in postharvest damage. The MIC *in vitro* was 0.4, 0.2 and 0.2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ for *A. carbonarius*, *A. alternata*, and *P. digitatum*, respectively. *In vivo* tests the MIC for the growth of the three fungi was 0.8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of AEO. The thin layer chromatography technique revealed the presence of thymol, carvacrol and linalool as the main constituents of AEO. The application of the AEO indirectly to the fruit of blackberry decreased the incidence of fungi.

Key words: *Rubus fruticosus*, oregano essential oil, minimum inhibitory concentration, fungal control

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Tehnology.
Universidad Autónoma Chapingo, Mexico
Author: Angélica Martínez López
Thesis Director: Salvador Valle Guadarrama, Dr.

4.1 Introducción

La incidencia de hongos en los alimentos y los productos agrícolas ha planteado una amenaza para la seguridad alimentaria. En particular, los frutos de zarzamora tienen vida de anaquel menor a 4 d a temperatura ambiente, incluso utilizando atmósferas modificadas, debido al desarrollo de hongos (Martínez-López, 2018; Capítulo 3 del presente trabajo), por lo cual es necesario investigar el uso de algún extracto o compuesto que permita el control de estos agentes deteriorativos para conseguir una vida postcosecha más larga. Los aceites esenciales de distintas especies vegetales han sido candidatos de interés para el control microbiano de frutas en postcosecha, debido a que sus componentes activos tienen potencial antifúngico (Wang et al., 2018).

Los aceites esenciales son productos naturales extraídos de flores, hojas, frutas, semillas, raíces, corteza o resinas de varias plantas y son mezclas de muchos compuestos únicos que químicamente están formados por monoterpenos y sesquiterpenos principalmente (Sepúlveda et al., 2003).

El orégano pertenece a la familia Lamiaceae y es una hierba culinaria importante en el mundo. En cuanto a su composición química, se reportan varias investigaciones donde nombran más de 45 componentes diferentes, dependiendo de la variedad, clima y tiempo de cosecha. Estos estudios mencionan como componentes químicos principales al timol, carvacrol, β -citronelol y acetato de citronelol (Acevedo, Navarro & Moroy, 2013; 2001; Gong et al., 2014). En diferentes trabajos de investigación se ha determinado la CMI para inhibir el crecimiento de hongos y bacterias (García-Camarillo et al., 2006; Mine, Kurt & Soyulu, 2010). En este sentido, el objetivo del trabajo fue evaluar un agente antimicrobiano para el control de los hongos que causan el deterioro del fruto de zarzamora con la finalidad de alargar su vida útil en postcosecha.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Identificación y aislamiento de hongos

Se adquirieron frutos de zarzamora en un comercio local en Texcoco de Mora, México y se almacenaron a 30 °C hasta que se manifestó la presencia de hongos. Los hongos fueron aislados en medios de cultivo papa-destrosa-agar (PDA) en cajas Petri de 8 cm. Se hicieron montajes en laminillas y se observaron al microscopio para la identificación de las especies presentes.

4.2.2 Aceite esencial de orégano

Como agente antifúngico se eligió aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) (AEO). El aceite fue proporcionado por Laboratorios Laitz S.A de C.V. Con objeto de identificar los principales constituyentes, el AEO se sometió a evaluación con cromatografía de capa fina, utilizando tolueno y acetato de etilo (93:7) como fase móvil. Para revelar la placa se asperjó, primero una solución alcohólica de vainillina al 1 %, seguido de la aspersion de una disolución de ácido sulfúrico al 10 % en etanol. Posteriormente se calculó la relación de frentes (RF) y se comparó con valores disponibles en la literatura (Wagner & Bladt, 1996).

4.2.3 Evaluación de concentración mínima inhibitoria (CMI) *in vitro*

Para determinar la CMI *in vitro* se siguió la metodología realizada por Aguilar-González, Palou y López-Malo (2015) con ligeras modificaciones. Se prepararon medios de cultivo con PDA (papa-dextrosa-agar) y se esterilizaron a 121 °C por 15 min. Al medio de cultivo estéril se le agregó el aceite esencial de orégano y se vertieron 20 mL de esta mezcla en una caja Petri (10 cm de diámetro). Las concentraciones utilizadas fueron 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 $\mu\text{L mL}^{-1}$, con respecto al volumen libre, tomando en cuenta el volumen de la caja Petri y la cantidad de medio de cultivo utilizado. La siembra se realizó por punción central con asa, se realizó incubación a 35 °C, se monitorearon los medios diariamente por 5 d y se midió el diámetro de colonia desarrollada con un vernier.

4.2.4 Evaluación de concentración mínima inhibitoria (CMI) *in vivo*

Para determinar la CMI *in vivo* se siguió la metodología planteada por Aguilar-González et al. (2015). Los frutos de zarzamora se cosecharon en San Juan Tezontla, Texcoco de Mora, México (9° 32' 04" N, 98° 47' 17" O, 2476 msnm) en madurez comercial, fueron desinfectados con una disolución de hipoclorito de sodio al 2% y secados por 5 min. Posteriormente, se inocularon en tres puntos de la periferia con un asa. En seguida, cuatro de ellos fueron colocados en un frasco hermético de 400 mL de capacidad. En la tapa del frasco se colocó un algodón estéril conteniendo aceite esencial en cantidad predefinida. Se aplicó la CMI encontrada *in vitro* y dos concentraciones por arriba de ésta. Las unidades se colocaron a una temperatura de 30 °C por 5 d y se cuantificó el porcentaje de daño.

4.2.5 Análisis estadístico

El experimento se condujo en forma congruente con diseño completamente al azar (DCA), en donde el factor de variación fue la concentración de aceite. Asimismo, se complementó con una comparación de medias (Tukey, 0.05). Todos los análisis se hicieron con el software SAS (SAS Institute, 1999).

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Identificación de hongos

De las muestras de frutos de zarzamora contaminadas se identificaron tres tipos de hongos: *Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius* y *Penicillium digitatum*. Se esperaba encontrar *Botrytis cinerea*, debido a que la literatura menciona que es el principal hongo que afecta la vida postcosecha de las zarzamoras y se han realizados actividades para su control, como envases activos con sorbato de potasio como agente antifungico (Junqueira-Gonçalves, Alarcón & Niranján, 2016). Sin embargo, Piña-Dumolin, Saucedo, Ayala y Muratalla (2001) reportaron que los daños postcosecha en zarzamora están causados también por *Alternaria*

sp, *Fusarium* sp, *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Botryodiplodia* sp. y *Trichoderma* sp., además de *Botrytis cinerea*.

4.3.2 El aceite esencial de orégano

En la Figura 18 se muestran las placas de gel sílice reveladas, en las que se eluyó el AEO, en ellas se observan cuatro compuestos diferentes, dos de ellos con valores de RF de 0.36 y 0.58 son los más abundantes. De acuerdo con Wagner y Bladt (1996) el linalool presenta un RF ~0.35 (azul) y el timol y carvacrol se pueden presentar como una mezcla con un RF=0.5-0.55 (violeta). Por lo tanto, se infirió que se trataba de estos compuestos. Asimismo, de acuerdo con Mechergui, Jaouadi, Coeho y Larbi (2016), los principales compuestos del aceite esencial de orégano son timol, carvacrol, γ -terpinene y *p*-cimeno.

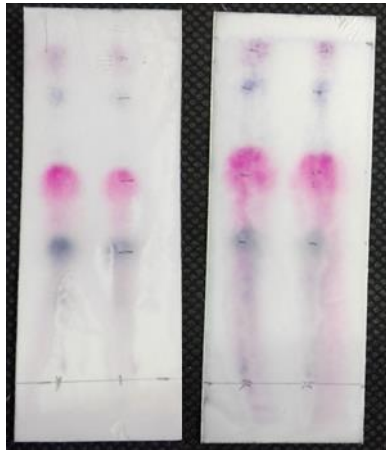


Figura 18. Prueba de cromatografía en capa fina en aceite esencial de orégano.

4.3.3 Concentración mínima inhibitoria (CMI) *in vitro*

Se encontró que *Alternaria alternata* y *Penicillium digitatum* se inhibieron a una concentración de AEO de $0.2 \mu\text{L mL}^{-1}$, mientras que *Aspergillus carbonarius* se inhibió a $0.4 \mu\text{L mL}^{-1}$ (Cuadro 15 y Figura 19). Al respecto Mine, Kurt y Soyulu (2010) reportaron CMI de $0.2 \mu\text{L mL}^{-1}$ de aceite esencial de orégano para la inhibición de *Botrytis cinerea* en pruebas *in vitro*. Por su parte, Nasser et al. (2015) reportaron que CMI de 0.25 a 2.5 mg L^{-1} de AEO cultivado y 0.25 a 5 mg L^{-1} para AEO silvestre inhiben diferentes especies de *Aspergillus* spp. Asimismo, estos

autores determinaron que el efecto antifúngico se debió a los compuestos fenólicos presentes en el aceite.

Cuadro 15. Concentración mínima inhibitoria *in vitro* para hongos aislados de frutos de zarzamora.

Fuente de Variación	<i>Penicillum</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>
	(cm)		
Tratamientos ($\mu\text{L mL}^{-1}$)			
TESTIGO	1.17 (± 0.04) a ^z	2.10 (± 0.15) a	8.50 (± 0.28) a
0.1	0.20 (± 0.07) b	0.98 (± 0.06) b	4.07 (± 0.40) b
0.2	0.0 c	0.0 c	3.00 (± 0.63) b
0.3	0.0 c	0.0 c	0.56 (± 0.03) c
0.4	0.0 c	0.0 c	0.0 c

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). se muestra también el error estándar

4.3.4 Concentración mínima inhibitoria en fruto (*in vivo*)

En el Cuadro 16 se muestran los porcentajes de daño causado por los tres tipos de hongo después de haber inoculado los frutos por 5 d. Como se puede observar, la CMI encontrada en placa sí mostró una disminución estadísticamente significativa. La CMI *in vitro* para tres tipos de hongo disminuyó cerca de 50 % el daño causado por el hongo con respecto al testigo. Asimismo, se observó que, al aumentar la concentración de aceite esencial de orégano, se disminuyó el porcentaje de daño. Por lo tanto, a pesar de que el aceite no se aplicó directamente a los frutos, los compuestos volátiles del aceite de orégano ejercieron una disminución en la incidencia de hongos. Aguilar-González et al. (2015) aplicaron aceite de clavo y mostaza de la misma forma a frutos de fresa inoculados con *Botrytis cinérea* y observaron que una mezcla de 11.57 y 1.93 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de aceite de clavo y mostaza inhibieron el 100 % el crecimiento de *Botrytis cinérea* al día cinco de inoculación. En el presente trabajo las CMI *in vivo* con las que se obtuvieron mejores resultados fueron 0.6 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de aceite esencial de orégano para *Alternaria alternata* y *Penicillum digitatum* y 0.8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para *Aspergillus carbonarius* (Cuadro 16).

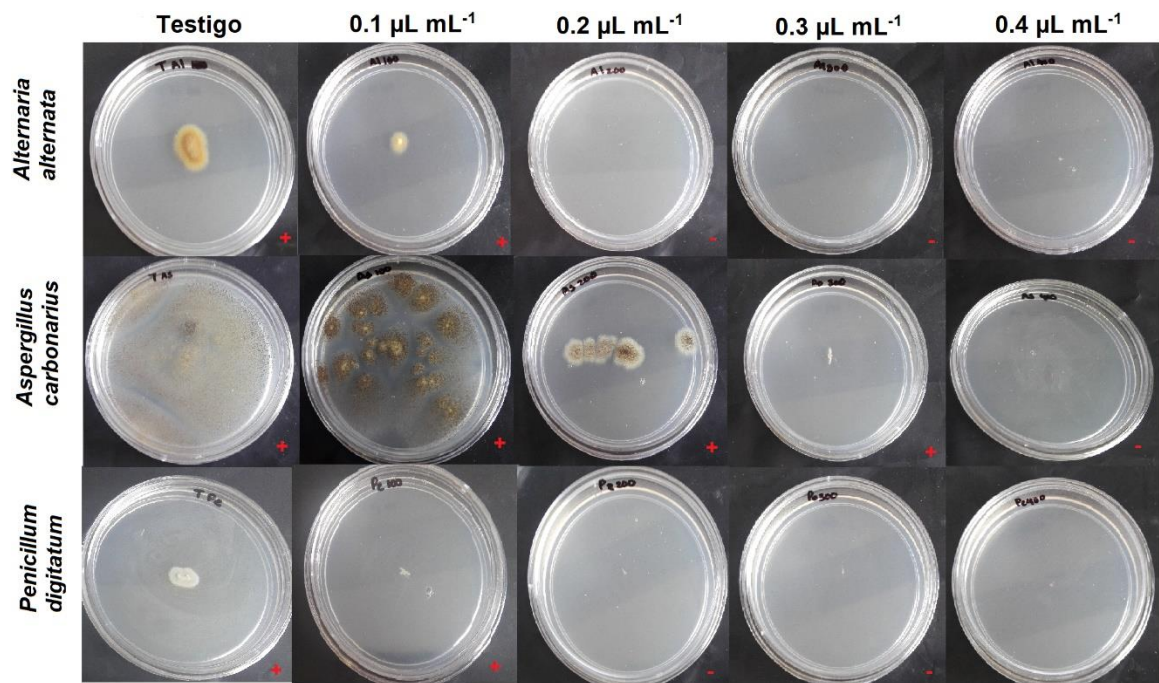


Figura 19. Representación de CMI *in vitro* para hongos aislados de frutos de zarzamora, 5 d después de la inoculación.

Cuadro 16. Porcentaje de daño, causado por hongos aislados en postcosecha de frutos zarzamora 5 d después de la inoculación

Fuente de Variación	<i>Penicillium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>
	(% de daño)		
Tratamientos ($\mu\text{L mL}^{-1}$)			
TESTIGO	100.00 (± 0.00) a	100.00 (0.00) a	100.00 (± 0.00) a
0.2	41.67 (± 8.33) b	66.67 (± 8.33) b	91.67 (± 8.33) a
0.4	16.67 (± 8.33) bc	33.33 (± 8.33) c	66.67 (± 8.33) ab
0.6	8.33 (± 8.33) c ^z	8.33 (± 8.33) c	41.67 (± 8.33) bc
0.8	0.00 c	0.00 d	16.67 (± 8.33) c

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05). se muestra también el error estándar.

4.4 Conclusiones

Los hongos implicados en el daño postcosecha de frutos de zarzamora fueron *Alternaria alternata*, *Penicillium digitatum* y *Aspergillus carbonarius*. La CMI de AEO *in vitro* para *Alternaria alternata* y *Penicillium digitatum* fue de $0.2 \mu\text{L mL}^{-1}$, mientras que para *Aspergillus carbonarius* fue de $0.4 \mu\text{L mL}^{-1}$. La CMI *in vitro* disminuyó cerca del 50 % la incidencia de los tres hongos en pruebas *in vivo*. En pruebas *in vivo* la mejor concentración para inhibir el crecimiento de los tres hongos fue de $0.8 \mu\text{L mL}^{-1}$. La aplicación del aceite esencial de orégano de forma indirecta al fruto de zarzamora disminuyó la incidencia de *Alternaria alternata*, *Alternaria alternata* y *Aspergillus carbonarius*.

4.5 Literatura citada

- Acevedo, D., Navarro, M., & Monroy, L. (2013). Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). *Información Tecnológica*, 24, 4. doi: 10.4067/S0718-07642013000400005.
- Aguilar-González, A. E., Palou, E., & López-Malo. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32: 181-185. doi: org/10.1016/j.ifset.2015.09.003
- Albado, P. S., Saez, F. G., & Grabiell, A. S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Rev Med Hered* 12, 1-4.
- García-Camarillo, E. A., Quezada-Viay, M. Y., Moreno-Lara, J., Sánchez-Hernandez, G., Moreno-Martínez, E., & Pérez.Réyes, M.C. J. (2006). Actividad Antifúngica de Aceites Esenciales de Canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Nuez Pecanera [*Carya illinoensis* (F.A. Wangenh) K. Koch]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24, 1-6.
- Gong, Hy; Liu, WH., LV., GY., & Zhou, X. (2014). Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan. *Rev Bras Farmacogn* 24, 25-32. doi: org/10.1590/0102-695X2014241434
- Junqueira-Gonçalves, M. P., Alarcón, E. & Niranjana, K. (2016). The efficacy of potassium sorbate-coated packaging to control postharvest gray mold in raspberries, blackberries and blueberries. *Postharvest Biology and Technology*. 111, 205–208. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.014
- Khayyat, S. A., & Roselin, L. S. (2018). Recent progress in photochemical reaction on main components of some essential oils: Review. *Journal of Saudi Chemical*, doi: org/10.1016/j.jscs.2018.01.008
- Merchegui, K., Jaouadi, W., Coelho, J. P., & Larbi, K. M. (2016). Effect of harvest year on production, chemical composition and antioxidant activities of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (Desf.) Letswaart) growing in North Africa. *Industrial Crops and Products* 90, 32–37. doi: org/10.1016/j.indcrop.2016.06.011
- Mine, S. E., Kurt, S., & Soyulu, S. (2010). In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology* 143, 183–189. doi: org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015
- Nasser, G. A., Leonardi, M., Mugnaini, L., Bertelloni, F., Ebani, V. V., Nardoni, S., Mancianti, F., Hendawy, S., Omer, & Pistelli, L. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild and cultivated *Origanum*

- syriacum* plants grown in Sinai, Egypt. *Industrial Crops and Products*, 67, 201-207. doi: [org/10.1016/j.indcrop.2015.01.038](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.038)
- Piña-Dumolin, G., Saucedo, V.C., Ayala, V. & Muratalla, L. (2001). Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en Zarcamora (*Rubus* sp.). *Rev. Fac. Agron.* 18, 87-105.
- SAS Institute, Inc., 1999. SAS/STAT® User's Guide, Version 8. SAS Institute Inc.: Cary, NC.
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. 2° edición. *Springer*. Munich, Alemania. 368pp.
- Wang, H., Yang, Z., Ying, G., Yang, M., Nian, Y., Wei, F., & Kong, W. (2018). Antifungal evaluation of plant essential oils and their major components against toxigenic fungi. *Industrial Crops & Products* 120, 180–186. doi: doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.053

5. MANEJO DE FRUTOS DE ZARZAMORA EN ATMÓSFERA MODIFICADA CON MICROPERFORADO Y USO DE UN ACEITE ESENCIAL PARA ALARGAR LA VIDA POSTCOSECHA

Resumen

Los frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.), debido a su estructura aglomerada, su alta tasa de respiración y piel frágil son susceptibles al ataque causado por hongos. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de un empaque activo basado en el uso de atmósfera modificada con microperforado y la incorporación de un aceite esencial como agente antimicrobiano, para disminuir el daño causado por hongos en frutos de zarzamora en postcosecha. Se condujo un almacenamiento a 23 °C durante 7 d con frutos manejados al aire libre y en atmósfera modificada con microperforado y presencia de aceite esencial de orégano (AM-M-A). Se analizaron variables fisiológicas (pérdida acumulada de peso (PP), firmeza, color, sabor y apariencia) y variables químicas (SST, pH, acidez, contenido de fenoles solubles totales (CFT), antocianinas totales (AT)) y capacidad antioxidante por el método FRAP y ABTS. Las variables PP, firmeza, apariencia y SST fueron favorecidos por el manejo en AM-M-A. En los parámetros de color y acidez no se encontraron diferencias entre los frutos testigo y los almacenados en AM-A-A. El pH fue mayor en los frutos de AM-M-A. el CFT, AT y la capacidad antioxidante fueron más altos en los frutos utilizados como testigo. Se observó presencia de hongos hasta el día 7 y la vida de postcosecha de los frutos fue de 5 a 6 días con buenas características fisiológicas y químicas, pero con ligeras variaciones en el sabor de los frutos.

Palabras clave: *Rubus fruticosus* L., atmósfera modificada con microperforado, aceite esencial de orégano, vida de anaquel.

MICROPERFORATED-BASED MODIFIED ATMOSPHERE INCORPORATED WITH AN ESSENTIAL OIL TO PRESERVE BLACKBERRY FRUIT IN POSTHARVEST

Abstract

The fruit of blackberry (*Rubus fruticosus* L.), due to its agglomerated structure, its high respiration rate, and fragile skin are susceptible to attack caused by fungi. The objective of the work was to evaluate the effect of an active packaging based on the use of modified atmosphere with microperforation and the incorporation of an essential oil as antimicrobial agent, to diminish the damage caused by fungi in blackberry fruit in postharvest. A storage was conducted at 23 ° C for 7 days with fruits handled outdoors and in modified atmosphere with microperforation and presence of oregano essential oil (AM-M-A). Physiological variables (cumulative weight loss (WL), firmness, color, taste, and appearance) and chemical variables (SST, pH, acidity, total soluble phenols (FST), total anthocyanins (AT), and antioxidant capacity by the FRAP and ABTS methods) were analyzed. The variables WL, firmness, appearance, and SST were favored by handling in MA-M-A. In the parameters of color and acidity, no differences were found between the control fruits and those stored in AM-A-A. The pH was higher in the fruits of AM-M-A. The CFT, AT and the antioxidant capacity were higher in the fruits used as control. The presence of fungi was observed until day 7 and the postharvest life of the fruits was 5 to 6 days with good physiological and chemical characteristics, but slight variations in the taste of the fruits.

Key words: *Rubus fruticosus* L., microperforated based modified atmosphere, oregano essential oil, shelf life.

5.1 Introducción

Los frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.), debido a su estructura aglomerada, su alta tasa de respiración y piel frágil presenta una vida de anaquel que varía de 3 a 4 d a temperatura ambiente, siendo la presencia de hongos la característica que determina su mala apariencia, aspecto que demerita su calidad e inocuidad hacia el consumidor. Sin embargo, la industria de los alimentos busca brindar al consumidor un producto de alta calidad e inocuidad y para ello se han generado diversas tecnologías, entre las cuales destacan los envases activos. Se considera que un envase puede calificarse como activo cuando desarrolla alguna otra función además de la de proporcionar una barrera inerte frente a las condiciones externas (Rodríguez-Sauceda et al., 2014).

El desarrollo de un sistema de envasado activo tiene como objetivo preservar la calidad y prolongar la vida útil de los productos alimenticios. Además de las funciones normales del envasado, el calificado como activo desempeña funciones adicionales tales como actividades antimicrobianas y antioxidantes. Otra definición utilizada es "el envasado en el que componentes secundarios se han incluido deliberadamente en el material de envasado o en el espacio libre del empaque para mejorar el rendimiento del sistema" (Yousuf, Qadri & Srivastava 2018).

Existen diversas técnicas para generar un empaque activo, tales como la inclusión de sobres o almohadillas que contienen compuestos volátiles antimicrobianos, la incorporación de éstos directamente a la estructura del empaque, la aplicación de polímeros tales como el quitosano que actúa como antimicrobiano etc. (Mousavi, Bagher & Limbo, 2018). Junqueira-Gonçalves, Alarcón y Niranján (2016) evaluaron un empaque activo para frutos de zarzamora utilizando sorbato de potasio como agente antimicrobiano y encontraron resultados favorables en la vida postcosecha del fruto.

Los aceites esenciales son ampliamente utilizados en la actualidad como agentes antimicrobianos naturales en el material de envasado. Los aldehídos, fenoles y

terpenoides oxigenados son los principales componentes responsables de la actividad antimicrobiana de estos aceites. Dada a su alta hidrofobicidad, estos compuestos pueden interactuar con los lípidos de la membrana celular de los microorganismos y los hace más permeables. Esta permeabilidad aumentada permite la salida de iones y otros contenidos celulares que conllevan a la muerte celular de los microorganismos (Mousavi et al., 2018).

Dado que uno de los principales problemas de la corta vida de anaquel de los frutos de zarzamora en postcosecha es el ataque de diferentes hongos, este trabajo tuvo como objetivo aplicar un empaque activo para la conservación de dichos frutos basado en el uso de una atmósfera modificada con microperforado y la incorporación de un aceite esencial como agente antimicrobiano para disminuir el daño causado por hongos.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Material vegetal

Frutos de zarzamora variedad "Chellene" fueron colectados en madurez comercial en la comunidad de San Juan Tezontla, Texcoco de Mora, México (9° 32' 04" N, 98° 47' 17" O, 2476 msnm) y fueron trasladados al laboratorio de Atmósferas y Ambientes Controlados de la Universidad Autónoma Chapingo.

5.2.2 Recipientes y tratamientos

Considerando los resultados de la primera fase de este trabajo, se formaron dos tratamientos: frutos almacenados al aire libre (Testigo) y frutos almacenados en recipientes con tres perforaciones. En la tapa (con tres microperforaciones) de los frascos se colocó un algodón, impregnado con AEO a una concentración de $0.8 \mu\text{L mL}^{-1}$ con respecto al frasco de 400 mL que se utilizó (AM-M-A). Se colocó 180 ± 2 g de zarzamora y los frascos fueron perfectamente cerrados, con lo cual se creó un envase activo.

Las perforaciones se realizaron manualmente con una aguja de 100 μm y se distribuyeron en la tapa de los recipientes. Se realizaron evaluaciones de los frutos durante 7 d a 23 °C.

5.2.3 Variables fisiológicas

Pérdida acumulada de peso

Para la medición del peso se utilizó una balanza digital portátil (Ohaus, modelo Scout-Pro, USA). Se tomó un peso inicial el día de la instalación del experimento y un peso final en el punto de muestreo. Con base en la diferencia se calculó la pérdida acumulada de peso. Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

Color

El color se midió en la superficie del fruto con la ayuda de un colorímetro HunterLab (MiniScan XE® Plus, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA, USA). Las mediciones se realizaron por triplicado en cada tratamiento y se registraron los valores en sistema CieLAB (L^* , a^* , b^*) para posteriormente reportarlos como luminosidad (L^*), ángulo de tono o matiz ($H^* = \tan^{-1} b^*/a^*$) y cromaticidad ($C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$) (McGuire, 1992).

Firmeza

La firmeza se midió con un texturómetro modelo TA-TX2i (Stable Micro Systems, Gran Bretaña), utilizando una sonda esférica de 5 mm. Se usó una rutina de medida de fuerza de compresión con velocidad de ensayo fue 2 mm s^{-1} y distancia de deformación de 2 mm. La medición se realizó por triplicado para cada tratamiento y los resultados se expresaron en Newton (N).

Apariencia y sabor

Se llevó a cabo una prueba con tres jueces no entrenados, quienes evaluaron la apariencia y el sabor de los frutos a la salida de cada punto de muestreo, de acuerdo con la escala categórica descrita en el Cuadro 17.

Cuadro 17. Escala categórica para evaluar apariencia y sabor en frutos de zarzamora.

Apariencia y sabor	Puntuación
5	Muy bueno
4	Bueno
3	Regular
2	Malo
1	Muy malo

5.2.4 Variables químicas

Sólidos solubles totales (SST)

Se molieron dos frutos y se aplicó filtrado para obtener jugo de cada unidad experimental. Se tomó una gota de este jugo, se colocó en un refractómetro manual (ALLA FRANCE modelo ATC) con escala de 0-32 % y se midieron los SST, los cuales se expresaron en °Brix, de acuerdo con la metodología descrita por la AOAC (1990).

pH y acidez titulable

Se molieron 20 g de zarzamora por cada unidad experimental con 50 mL de agua destilada y el jugo se filtró. Se utilizó un potenciómetro para (Conductronic modelo pH120, Micro precision calibration Inc. EUA) para medir el pH. Para la acidez se tomó una alícuota (10 mL) del jugo filtrado y se neutralizó con NaOH al 0.03 N hasta que el indicador viró al alcanzar pH de 8.2. Los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico de acuerdo con la Ecuación (1) (AOAC, 1990).

$$\% \text{ de ácido cítrico} = \frac{mL \text{ NaOH} * N * \text{MeqAc} * V * 100}{pm * A} \quad (1)$$

Donde mLNaOH: gasto en la titulación; N: normalidad del NaOH; V: volumen total; MeqAc: miliequivalentes del ácido cítrico (0.064); A: alícuota y pm: peso de la muestra.

Obtención de extractos para compuestos fenólicos

Los extractos de zarzamora se obtuvieron siguiendo el método propuesto por Hernández-Rodríguez et al. (2016). Cada muestra, previamente molida, se mezcló con metanol al 80% (v/v) en una proporción 0.5:10 (p/v) y se ajustó el pH a 3 con HCl al 10%. Posteriormente, la extracción se hizo por agitación en vórtex (1000 rpm, 3 min), sonicación (15 min), agitación en incubadora (150 rpm, 30°C, 30 min) Después la mezcla fue centrifugada (2500 rpm, 15 min) y el sobrenadante se recuperó y se llevó a un volumen final de 10 mL. A partir de este extracto se cuantificaron los fenoles solubles y las antocianinas totales y la capacidad antioxidante. Los extractos de cada tratamiento se procesaron por triplicado.

Fenoles solubles totales

Los fenoles solubles totales se analizaron mediante el método del reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) adaptado a microplacas. En cada pozo de una microplaca se mezclaron 25 μL del extracto diluido (1.5:1, v/v) con metanol al 80%, agua destilada (125 μL), 20 μL reactivo de Folin-Ciocalteu, diluido con agua destilada (1:10, v/v) y 30 μL carbonato de sodio al 20 %. La mezcla fue agitada y se dejó reposar durante 30 min protegida de la luz, la absorbancia frente al blanco fue medida a 760 nm. La curva de calibración de ácido gálico se preparó en el intervalo lineal de 2.5-29.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra en base fresca $\text{mgEAG}100 \text{ g}_{\text{bf}}^{-1}$. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

Antocianinas totales

Las antocianinas totales se cuantificaron mediante el protocolo espectrofotométrico de diferencia de pH. Una alícuota del extracto (100 μL) se mezcló con 900 μL de buffer pH 1 (0.025 M KCl). La absorbancia de la mezcla fue medida a 510 y 700 nm usando un lector de microplacas (Synergy 2 microplate reader, Biotek International, software Gen 5). Otra alícuota del extracto (100 μL) fue mezclada con 900 μL de buffer pH 4.5, la absorbancia de esta

disolución fue medida a las mismas longitudes de onda. El contenido de antocianinas fue calculado con base en la Cianidina-3-O-glucosido con base en la Ecuación (2) (Lee et al., 2005).

$$\text{Antocianinas} = \frac{A \cdot PM}{\epsilon \cdot 0.38} \quad (2)$$

Donde A: $(A_{min} - A_{max})_{pH1} - (A_{min} - A_{max})_{pH4.5}$, PM: 449.2 g mol⁻¹ para cianidina 3-glucósido, ϵ : coeficiente de extinción molar de cianidina 3-glucosido (26 900 L mol⁻¹ cm⁻¹), 0.38 longitud de trayectoria, factor de corrección por uso de microplacas. Para los resultados se tomó en cuenta la dilución. Los resultados fueron expresados en termino de mg equivalentes de cianidina-3-O-glucosido por 100 gramo de muestra en base húmeda (mgECG 100g_{bf}⁻¹).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó por los ensayos ABTS (ácido 2,2-azinobis (3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico)) (Re et al., 1999) y FRAP ((Benzie & Strain 1996). Para el ensayo ABTS, el radical libre ABTS^{•+} fue generado por la reacción entre las disoluciones de ABTS 7.4 mM y persulfato de sodio 2.6 mM, la cuales se mezclaron en una proporción 1:1 (v/v) y se dejaron reaccionar, protegidas de la luz, durante 16 h. Posteriormente, una alícuota de la mezcla de reacción (600 μ L) se aforó a 10 mL con metanol. En cada pozo de la microplaca se colocó una alícuota (20 μ L) del estándar o extracto en estudio (apropiadamente diluido) y se mezcló con 180 μ L la disolución de ABTS^{•+}. La disminución de la absorbancia de la mezcla de reacción se midió a 734 nm. La curva de calibración de Trolox se construyó en un intervalo de concentraciones de 4.99 a 59.93 μ M. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base fresca (μ molET g_{bf}⁻¹). T. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

El reactivo FRAP se preparó en el momento de su uso mezclando buffer de acetatos (300 mM, pH 3.6), disolución de TPTZ 10mM en HCl 40 mM y disolución de FeCl₃·6H₂O 20 mM, en una proporción de 10:1:1, respectivamente. Una

alícuota (20 µL) de estándar, o extracto (apropiadamente diluido) o blanco, se mezcló con 180 µl del reactivo FRAP y con 60 µl de agua destilada. La absorbancia se midió a 595 nm. La curva de calibración de Trolox se preparó en un intervalo de concentraciones de 3.8 a 46 µM. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base fresca ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bf}}^{-1}$). Todas las muestras se analizaron por triplicado.

5.2.5 Análisis estadístico

El experimento se tuvo en forma congruente con un arreglo factorial donde los tratamientos (con dos niveles, Testigo y AM-M-A) y el tiempo fueron los factores de variación. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y a rutinas de comparación de medias mediante el parámetro estadístico de Tukey, con nivel de significancia igual a 0.05. Todos los análisis se realizaron con el programa SAS (SAS Institute Inc., 1999).

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Pérdida acumulada de peso

Cuadro 18. Pérdida de peso en frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C

Pérdida acumulada de peso (%)		
Días	Testigo	AM-M-A
0	0.00 ± 0.00 d ^z	0.00 ± 0.00 b
1	3.85 ± 0.09 d	0.49 ± 0.00 b
3	9.30 ± 0.28 c	0.53 ± 0.13 b
5	14.14 ± 0.64 b	1.85 ± 0.12 a
7	24.85 ± 2.07 a	2.15 ± 0.47 a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor.

La pérdida acumulada de peso se incrementó en función del tiempo (Cuadro 18), registrando diferencia significativa entre tratamientos. Los frutos testigo reportaron la mayor pérdida de peso, mientras que los frutos almacenados en

AM-M-A estadísticamente no tuvieron pérdida en los tres primeros días, registrando al día siete una pérdida de peso de 2.15 %. Los datos encontrados fueron menores a los reportados por Piña-Dumolin, Saucedo, Ayala y Muratalla (2001), quienes reportaron 2.93 % de pérdida en frutos almacenados en atmósferas modificadas activas (5 % O₂ y 5 % CO₂, 2 °C) en 6 d. Por lo tanto, la AM-M-A fue eficiente para reducir la pérdida de peso, debido a que disminuyó la transpiración dentro de los empaques. Este mismo fenómeno fue reportado por Espinosa-Cruz, Valle-Guadarrama, Ybarra-Moncada y Martínez-Damián (2014), al utilizar una atmósfera modificada con microperforado para frutos de aguacate

5.3.2 Firmeza

La firmeza registró diferencia significativa entre tratamientos. En los frutos testigo se registró un promedio de 1.03 (± 0.08) N, mientras que los frutos almacenados en AM-M-A mantuvieron 1.36 (± 0.05) N en promedio durante el almacenamiento. En ambos tratamientos se registró una pérdida de firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento (Cuadro 19), sin embargo, en los envases de atmósfera modificada incorporados con aceite esencial se logró mantener la firmeza por 5 d sin diferencias con respecto al valor inicial. La pérdida de textura implica modificaciones en los polisacáridos y proteínas de la pared celular causadas por diversas enzimas, siendo la poligalacturonasa y la pectinmetilesterasa las mayormente implicadas en los cambios de la pared celular y el cambio de textura en los frutos (Handa, Tiznado-Hernández & Mattoo, 2012). Asimismo, la pérdida de textura se asocia también a pérdida de turgencia en las células (Cortellino, Gobbi, Bianchi & Rizzolo et al., 2015).

En otro trabajo reportaron una disminución de firmeza de 4 a 2.5 N, aproximadamente, para frutos de zarzamora almacenados en empaques de polietileno a 18 °C por 3 d (Horvitz, Chanaguano & Arozarena, 2017). Las diferencias respecto a los resultados de este trabajo podrían estar relacionados con la fuerza de compresión aplicada al realizar las mediciones o a factores fisiológicos como variedad, estado de madurez y temperatura de almacenamiento de los frutos ya que Cortellino et al. (2015) mencionaron que la

firmeza está determinada en gran medida por la anatomía física del tejido (tamaño de célula, grosor, resistencia celular).

Cuadro 19. Valores de firmeza para frutos de zarzamora almacenadas por 7d a 23 °C

Día	Firmeza (N)	
	Testigo	AM-M-A
0	1.49±0.08 a ^z	1.49±0.08 a
1	1.20±0.03 b	1.44±0.02 a
3	1.02±0.04 bc	1.48±0.03 a
5	0.80±0.05 cd	1.41±0.02 a
7	0.65±0.04 d	0.97±0.07 b

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor

5.3.3 Color

Cuadro 20. Valores de luminosidad, cromaticidad y ángulo de tono para frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C.

D	Luminosidad		Cromaticidad		Ángulo de tono (°H)	
	Testigo	AM-M-A	Testigo	AM-M-A	Testigo	AM-M-A
0	16.61±0.30 a ^z	16.61±0.30 a	1.62±0.10 a	1.62±0.10 a	286.09±5.93 a	286.09±5.93 c
1	16.68±0.35 a	17.02±0.35 a	1.59±0.07 a	1.56±0.08 a	292.63±2.81 a	322.09±4.28 ab
3	16.89±0.14 a	17.05±0.33 a	1.55±0.05 a	1.61±0.08 a	321.82±9.06 a	334.71±2.56 a
5	16.84±0.06 a	17.14±0.51 a	1.40±0.08 a	1.31±0.06 a	317.78±13.10 a	320.58±3.67 ab
7	16.55±0.08 a	16.34±0.06 a	1.31±0.03 a	1.44±0.04 a	317.56±4.40 a	301.47±12.30 bc

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor

En cuanto al color en fruto, no se registraron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 20), lo que indicó que los frutos almacenados en AM-M-A mantuvieron un color propio para este fruto durante el almacenamiento. Los valores encontrados fueron similares a los reportados por Mikulic-Petkovsek, Koron, Zorenc y Veberic (2017) quienes encontraron valores de luminosidad, cromaticidad y ángulo de tono para cinco variedades diferentes de zarzamora. Asimismo, de acuerdo con Sant'Anna, Gurak, Ferreira y Tessaro (2013) y con

respecto al espacio CIELAB, los valores de luminosidad correspondieron a colores oscuros y los valores de ángulo de tono a colores azules y rojos. Por lo tanto, a las zarzamoras se les atribuyen colores púrpuras tendiendo a colores oscuros dependiendo principalmente del grado de madurez.

5.3.4 Sólidos solubles totales

De acuerdo con la comparación de medias (Cuadro 21), los frutos testigo presentaron un valor promedio de 9.97 (± 0.31) °Brix, que fue estadísticamente mayor al valor de 9.27 (± 0.20) °Brix encontrado en frutos manejados con AM-M-A, lo cual pudo deberse a que los frutos testigo, al perder mayor cantidad de agua, concentraron mayor cantidad de sólidos. Los valores encontrados en este trabajo fueron similares a los reportados por otros autores en frutos de zarzamora (Perkins & Collins, 2002; Olivera, Kwiatkowski, Rosa & Clemente, 2014).

Cuadro 21. Valores de sólidos solubles totales para frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C.

Sólidos solubles totales (°Brix)		
Días	Testigo	AM-M-A
0	8.66 \pm 0.33 b ^z	8.66 \pm 0.33 b
1	10.00 \pm 0.57 b	9.16 \pm 0.44 ab
3	9.66 \pm 0.33 b	10.33 \pm 0.33 a
5	9.66 \pm 0.33 b	9.33 \pm 0.33 ab
7	11.83 \pm 0.44 a	8.83 \pm 0.16 ab

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor

5.3.5 Acidez y pH

El porcentaje de acidez, cuantificado como ácido cítrico, disminuyó con respecto a los días de almacenamiento sin presentar diferencias significativas entre tratamientos. Por su parte, el pH aumentó con respecto al tiempo (Cuadro 22) de almacenamiento, registrando diferencias significativas entre tratamientos al

término de 7 d. El testigo presentó pH estadísticamente mayor que los frutos almacenados con AM-M-A. Jung, Perkins-Veazie y Fernandez (2015) encionaron que el aumento del pH y la disminución de la acidez titulable se debe a que los ácidos orgánicos son utilizados como sustratos en el proceso de la respiración y para la síntesis de otros compuestos como azúcares.

Las variaciones de acidez y pH fueron acordes con las descritas por otros autores (0.75-0.71% y 3.64-3.68 de acidez y pH) para frutos de zarzamora almacenados a 2 °C por 14 d en atmósferas modificadas activas (Perkins & Collins 2002). Mientras que jung et al. (2015) reportaron valores de 0.94 (± 0.03)-0.92 (± 0.04) y 3.67 (± 0.03)-3.84 (± 0.04) de acidez y pH. Las pequeñas diferencias pudieron deberse a las condiciones de manejo.

Cuadro 22. Valores de acidez titulable y pH de frutos de zarzamora almacenadas 7 d a 23 °C.

Días	% Acidez		pH	
	Testigo	AM-M-A	Testigo	AM-M-A
0	0.76 \pm 0.01 a ^z	0.76 \pm 0.01 a	3.37 \pm 0.07 b	3.37 \pm 0.07 c
1	0.40 \pm 0.05 b	0.50 \pm 0.07 b	3.84 \pm 0.20 b	3.56 \pm 0.08 c
3	0.43 \pm 0.06 b	0.31 \pm 0.02 bc	4.02 \pm 0.12 b	4.19 \pm 0.04 b
5	0.19 \pm 0.03 c	0.29 \pm 0.08 bc	4.84 \pm 0.18 a	4.28 \pm 0.21 ab
7	0.16 \pm 0.00 c	0.16 \pm 0.01 c	5.09 \pm 0.11 a	4.82 \pm 0.13 a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor

5.3.6 Apariencia y sabor

Tanto la apariencia como el sabor son atributos importantes de calidad para cualquier producto fresco. En el presente trabajo se encontró que los frutos testigo mostraron un cambio de apariencia desde el primer día de almacenamiento y para el día 5 los evaluadores observaron una apariencia regular en los frutos, lo cual se debió a que por la pérdida de peso los frutos presentaron apariencia marchita y arrugada. Por su parte, los frutos almacenados en AM-M-A mantuvieron estadísticamente una buena apariencia hasta el día

cinco de almacenamiento, pero para el día 7 se presentó el hongo dentro de los envases y la apariencia disminuyó drásticamente. De acuerdo con Mahajan et al. (2017), la apariencia se relaciona con el color, el tamaño, la forma y los daños visibles; por lo tanto, en AM-M-A los frutos se vieron beneficiados considerablemente ya que presentaron una vida de anaquel entre 5 y 6 d a 23 °C, superior a lo que se encontró en la primera etapa de esta investigación, cuando varió entre 3 y 4 d. Junqueira-Gonçalves et al. (2016) evaluaron también un empaque activo utilizando sorbato de potasio como agente antifúngico en frutos de zarzamora a 5 °C y reportaron para el día 23 un porcentaje de daño de 7 % para el empaque activo y 11 % de daño causado por *Botrytis* para los frutos control.

En el caso del sabor no se registraron diferencias significativas entre tratamientos. No obstante, los frutos testigo mostraron un valor de bueno a muy bueno durante los siete días de almacenamiento y los frutos almacenados en AM-M-A mostraron un sabor de regular a bueno hasta el día 5 y malo para el día 7 (Cuadro 23). Junqueira-Gonçalves et al. (2016) mencionaron que el sorbato de potasio incorporado como antifúngico en los envases, no genera un cambio de sabor en los frutos. Por su parte, Shewfelt (2009) encontró que el sabor, el aroma y la sensación en la boca son parte de lo que se llama en conjunto *flavor* y este es un parámetro de calidad para la aceptación de un producto. En el presente trabajo, se encontró un sabor ligeramente diferente entre los frutos testigo y los almacenados en AM-M-A y a pesar de que esto no fue estadísticamente diferente, será necesario realizar un estudio más profundo de las características sensoriales.

Cuadro 23. Valores de apariencia y sabor en frutos de zarzamora almacenadas siete días a 23 °C.

Días	Apariencia		Sabor	
	Testigo	AM-M-A	Testigo	AM-M-A
0	4.33±0.33 a	4.33±0.33 a	4.33±0.33 a	4.33±0.33 a
1	4.00±0.00 ab	4.66±0.33 a	4.66±0.33 a	3.66±0.33 ab
3	3.33±0.33 abc	4.33±0.33 a	4.33±0.33 a	3.33±0.33 ab
5	3.00±0.00 bc	4.33±0.33 a	4.33±0.33 a	3.33±0.33 ab
7	2.66±0.33 c ^z	1.66±0.33 b	3.66±0.33 a	2.66±0.33 b

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor

5.3.7 Compuestos fenólicos

Tanto para fenoles solubles como para antocianinas totales los frutos testigo mostraron valores estadísticamente mayores que los frutos almacenados en AM-M-A (Cuadro 24). Un caso similar fue reportado por Perkins y Collins (2002), quienes encontraron mayor cantidad de antocianinas en frutos de zarzamora almacenados en aire libre, en comparación con los almacenados en atmósferas modificadas (10 kPa O₂, 15 kPa CO₂) a 2 °C. La inestabilidad de las antocianinas se relaciona más con un cambio de pH, sin embargo, en este trabajo el pH de los frutos almacenados en AM-M-A estuvo más cercano al rango de 1 a 3.5, donde las antocianinas son más estables. Perkins y Collins (2002) reportaron esta misma tendencia y la justificaron con base en reacciones enzimáticas, mediante las cuales el pigmento es degradado debido a la enzima glicosidasa o polifenoloxidasas. Por lo tanto, es necesario estudiar la relación de antocianinas, enzimas y concentraciones de O₂ y CO₂.

Se observó también que los valores de antocianinas totales fueron cercanos a los valores de fenoles solubles totales. De acuerdo con Mikulic-Petkovsek et al. (2017), esto se debió a que las antocianinas representan un 80% de los fenoles solubles totales, siendo la cianidina-3-O-glucósido la que mayormente se encuentra en los frutos de zarzamora.

Cuadro 24. Valores de fenoles y antocianinas totales en frutos de zarzamora almacenadas por 7 d a 23 °C

Días	Fenoles solubles totales mgEAG 100g _{bf} ⁻¹		Antocianinas totales mgECG 100g _{bf} ⁻¹	
	Testigo	AM-M-A	testigo	AM-M-A
0	270.97 ±15.56 b ^z	270.97±15.56 a	221.18±23.61 b	221.18±23.61 a
1	310.48±21.62 ab	281.6±18.43 a	270.5±25.07 ab	181.12±14.09 a
3	356.13±6.12 a	264.44±26.44 a	313.47±10.41 a	185.22±25.70 a
5	337.75±5.44 a	268.47±2.10 a	279.12±3.23 ab	179.51±5.27 a
7	366.39 ±14.54 a	282.60 ±9.31 a	321.45 ±23.50 a	189.10±9.93 a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor

Pese a que hubo diferencias entre tratamientos, los valores reportados fueron similares a los encontrados por Samec y Piljac-Zegarac (2011), en frutos de zarzamora almacenados a 25 °C (391.76 ±13.65 mg EAG 100 g⁻¹ para fenoles y 141.37 ±1.71 mg ECG 100 g⁻¹ para antocianinas totales)

5.3.8 Capacidad antioxidante

Cuadro 25. Valores de capacidad antioxidante para frutos de zarzamora almacenadas siete días a 23 °C.

Días	ABTS (μmolET g _{bf} ⁻¹)		FRAP (μmolET g _{bf} ⁻¹)	
	Días	Testigo	AM-M-A	Días
0	9.13±0.48 b ^z	9.13±0.48 a	13.44±1.26 b	13.44±1.26 a
1	9.43±0.26 ab	8.66±0.34 a	15.80±1.22 ab	13.51±0.60 a
3	10.23±0.04 ab	8.84±0.84 a	18.15±0.37 a	13.00±1.62 a
5	10.18±0.05 ab	8.64±0.16 a	16.49±0.24 ab	11.73±0.10 a
7	10.35±3.80 a	9.52±0.20 a	18.53±1.02 a	13.26±0.40 a

^z Letras iguales al interior de cada factor de variación indican que no se registró diferencias significativas (Tukey, 0.05), se muestra también el error estándar de cada valor

Para el caso del ensayo ABTS no se registraron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 25) y el valor promedio de la capacidad antioxidante fue de 9.86 μmol ET g⁻¹ para los frutos testigo y 8.96 μmol ET g⁻¹ para los frutos almacenados en AM-M-A. Sin embargo, por el ensayo FRAP se obtuvieron valores promedio 16.48 μmol ET g⁻¹ para los frutos testigo y 12.99 μmol ET g⁻¹

para los almacenados en AM-M-A, siendo estos valores estadísticamente menores a los registrados en los frutos testigo. Las diferencias encontradas entre tratamientos en la capacidad antioxidante están relacionadas también con las diferencias de fenoles solubles totales y antocianinas totales encontrados en este trabajo.

Con respecto a otros trabajos (Mikulic-Petkovsek et al., 2017) los valores de capacidad antioxidante (17.23 a 43.21 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$) fueron inferiores en este trabajo. Por su parte, Samec & Piljac-Zegarac (2011) reportaron de 3 a 4 $\text{mmol Fe } 100 \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ para FRAP y de 4 a 5 $\text{mmol TEAC } 100 \text{ g}^{-1}$ para ABTS. Como se observa, es complicado comparar datos de capacidad antioxidante, debido a la gran variedad de métodos analíticos y las unidades de expresión (Horvitz et al., 2017).

5.4 Conclusiones

De acuerdo con los resultados, la aplicación de un empaque activo formado por una atmósfera modificada más aceite esencial de orégano contribuyó a disminuir la pérdida de peso y la pérdida de firmeza en frutos de zarzamora. Esto repercutió positivamente en la apariencia de los frutos, los cuales se mantuvieron en buen estado, mostrando al final una vida postcosecha de entre 5 y 6 d de almacenamiento a 23 °C.

Es necesario hacer un estudio más minucioso para determinar la modificación de los atributos sensoriales de los frutos cuando se encuentran bajo condiciones de atmósferas modificadas activas con incorporación de aceites esenciales.

Durante el almacenamiento, el color, los sólidos solubles totales, el pH y la acidez titulable no mostraron variaciones relacionadas con una pérdida de calidad en los frutos.

Las propiedades antioxidantes de los frutos utilizados como testigo fueron superiores. Sin embargo, el tratamiento con AM-M-A redujo el crecimiento hongos.

5.5 Literatura citada

- AOAC (1990). Official Methods and Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, EEUU. 689 pp
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical*. 239(1):70-6.
- Cortellino, G., Gobbi, S., Bianchi, G., & Rizzolo, A. (2015). Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples. *Food science e technology*, xx:1-13 doi: org/10.1016/j.tifs.2015.06.002
- Espinosa-Cruz, C., Valle-Guadarrama, S., Ybarra-Moncada, Ma. C., & Martínez-Damián, M. T. (2014). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37 (3), 235-242.
- Handa, A. K., Tiznado-Hernández, M.-E., & Mattoo, A. K. (2012). Fruit development and ripening. *Plant Biotechnology and Agriculture*, 405–424. doi:10.1016/b978-0-12-381466-1.00026
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Hernández-Eugenio, G., Villa-García, M., Reyes-Trejo, B., & Guerra-Ramírez, D. (2016). Influence of Polar Solutions on the Extraction of Phenolic Compounds from Capulín Fruits (*Prunus serotina*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 60, 73-78.
- Horvitz, S., Chanaguano, D. & Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226, 293-301. doi: org/10.1016/j.scienta.2017.09.002
- Jung, K. M., Perkins-Veazie, P., Ma, G., & Fernandez, G. (2015). Shelf life and changes in phenolic compounds of organically grown blackberries during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*. 110, 257–263. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.020.
- Junqueira-Gonçalves, M. P., Alarcón, E. & Niranjan, K. (2016). The efficacy of potassium sorbate-coated packaging to control postharvest gray mold in raspberries, blackberries and blueberries. *Postharvest Biology and Technology*. 111, 205–208. doi: org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.014
- Lee, J., DursT, R. W. & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88, 1269-1278.
- Mahajan, P. V., Caleb, O. J., Gil, M. I., Izumi, H., Colelli, G., Watkins, C. B. & Zude, M. (2017). Quality and safety of fresh horticultural commodities: Recent advances and future perspectives. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 2–11. doi: org/10.1016/j.fpsl.2017.08.001
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.

- Mikulic-Petkovsek, M., Koron, D., Zorenc, Z., & Veberic, R. (2017). Do optimally ripe blackberries contain the highest levels of metabolites?. *Food Chemistry*, 215, 41–49. doi: org/10.1016/j.foodchem.2016.07.144.
- Mousavi, K. A., Bagher, H. S. M., & Limbo, S. (2018). Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food and Bioprocess Technology*, 11(1), 1–19. doi: org/10.1016/j.fbp.2018.05.001
- Olivera, D. M., Kwiatkowski, A., Rosa, C. I. L. F., & Clemente, E. (2014). Refrigeration and edible coatings in blackberry (*Rubus* spp.) conservation. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2120–2126. Doi: 10.1007/s13197-012-0702-3
- Perkins, V. P., & Collins, J. K. (2002). Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 235-239. doi: org/10.1016/S0925-5214(02)00025-X
- Piña-Dumolin, G., Saucedo, V.C., Ayala, V. & Muratalla, L. (2001). Atmósferas controladas para combatir daños postcosecha en Zarzamora (*Rubus* sp.). *Rev. Fac. Agron.* 18, 87-105.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang y C. Rice-Evans (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radicals in Biology and Medicine*: 26(9/10), 1231– 1237.
- Rodríguez-Sauceda, R., Rojo-Martínez, G. E., Martínez-Ruiz, R., Piña-Ruiz, H. H., Ramírez-Valverde, B., Vaquera-Huerta, H. & Cong-Hermida, M. (2014). Envases inteligentes para la conservación de alimentos. *Ra Ximhai*, (10)6, 151-173.
- SAS Institute, Inc., 1999. SAS/STAT® User's Guide, Version 8. SAS Institute Inc.: Cary, NC.
- Šamec, D., & Piljac-Zegarac, J. (2011). Postharvest stability of antioxidant compounds in hawthorn and cornelian cherries at room and refrigerator temperatures—Comparison with blackberries, white and red grapes. *Scientia Horticulturae*, 131, 15-21. doi. org/10.1016/j.scienta.2011.09.021
- Sant'Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira, M. L. D. & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods: A review. *Dyes and Pigments* 98, 601e608. doi: org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.
- Shewfelt, R. L. (2009). Measuring Quality and Maturity. *Food Science Technology*, 17, 1-21. doi: g/10.1016/j.cropro.2014.05.012.
- Yousuf, B., Qadri, O.S., & Srivastava, A.K. (2018). Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different

edible coatings: A review. *Food Science and Technology*, 89,198-209 doi:
10.1016/j.lwt.2017.10.051