



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS**

**EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE EL CONTENIDO DE
COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE MORA DE CASTILLA
(*Rubus glaucus*) SIN ESPINAS.**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

JOHANNA BELÉN ANGULO CASTRO

DIRECTORA: ING. CARLOTA MORENO

Quito, Febrero 2013

© Universidad Tecnológica Equinoccial.2013
Reservados todos los derechos de reproducción.

DECLARACIÓN

Yo **JOHANNA BELÉN ANGULO CASTRO**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

JOHANNA BELÉN ANGULO CASTRO

C.I. 1720092897

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título “**Efecto de la radiación UV-C sobre el contenido de compuestos antioxidantes de mora de Castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas**”, que, para aspirar al título de **Ingeniera de Alimentos** fue desarrollado por **JOHANNA BELÉN ANGULO CASTRO**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 18 y 25.

ING. CARLOTA MORENO
DIRECTORA DEL TRABAJO
C.I. 1713755336

El presente trabajo de investigación es parte del proyecto:

“EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C Y ATMÓSFERA MODIFICADA SOBRE LA ACTIVIDAD RESPIRATORIA Y LA CALIDAD POSCOSECHA DE MORA DE CASTILLA SIN ESPINAS (*Rubus glaucus*) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN”.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a todos mis profesores, que durante el transcurso de mi carrera universitaria me brindaron grandes conocimientos y enseñanzas.

A la Ing. Carlota Moreno por todo su apoyo y confianza a lo largo de mi carrera y del desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Bioq. María José Andrade por brindarme todas las facilidades y conocimientos para el éxito de la presente investigación.

A mis amigas Lore Cuesta y Elena Vallejo, por todo el apoyo y la colaboración durante el desarrollo de la parte experimental del proyecto.

A mis padres y mi familia que siempre me apoyan en cada proyecto que emprendo en mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 GENERALIDADES DE LA MORA DE CASTILLA (<i>Rubus glaucus</i>)..	4
2.1.1 ORIGEN DE LA MORA DE CASTILLA	4
2.1.2 DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACIÓN BOTÁNICA	5
2.4 VALOR NUTRICIONAL.....	8
2.3.1 CULTIVO DE LA MORA DE CASTILLA.....	9
2.2 COSECHA	10
2.3 POSCOSECHA DE MORA DE CASTILLA	11
2.5 RADIACIÓN UV-C	14
2.6 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C EN LAS FRUTAS.....	15
2.7 COMPUESTOS ANTIOXIDANTES.....	17
2.7.1 RADICALES LIBRES	17
2.7.2 ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS.....	18
2.7.3 COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES.....	20
2.7.5 VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)	24
2.7.6 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	26
3. METODOLOGÍA	29
3.1 MATERIA VEGETAL.....	29
3.2 APLICACIÓN DE RADIACIÓN UV-C.....	29
3.3 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES.....	30
3.3.1 PREPARACIÓN DE EXTRACTO.....	30

	PÁGINA
3.3.2 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES	31
3.3.3 DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS	32
3.3.4 CONTENIDO DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO).....	33
3.3.4.1 Curva de calibración.....	33
3.3.4.2 Acondicionamiento de Cartuchos OASIS® HLB	34
3.3.4.3 Preparación de Extractos	35
3.3.5 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE....	38
3.3.5.1 Capacidad antioxidante por el método ABTS*	38
3.3.5.2 Capacidad antioxidante por método dpph•	39
3.3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	41
4.1 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE LA PÉRDIDA DE PESO EN MORA DE CASTILLA SIN ESPINAS (<i>Rubus glaucus</i>) .	41
4.2 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES	42
4.3 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS	46
4.4 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE EL CONTENIDO DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)	49
4.5 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL	52
4.4.1 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MÉTODO ABTS*+	52
4.4.2 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MÉTODO DPPH•.....	55
4.4.3 CORRELACIÓN ENTRE EL MÉTODO DPPH• Y ABTS*+	57
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	61
5.1 CONCLUSIONES	61
5.2 RECOMENDACIONES	63

	PÁGINA
BIBLIOGRAFÍA	64
ANEXOS	74

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Clasificación Botánica de la Mora de Castilla (<i>Rubus glaucus</i>).....	7
Tabla 2. Composición Nutricional de la Mora de Castilla en una porción de 100g.....	8
Tabla 3. Clasificación de Fenoles según su estructura química.....	21
Tabla 4. Diluciones de Solución Madre.....	34
Tabla 5. Coeficientes de correlación (r) entre fenoles totales, antocianinas y ácido ascórbico con capacidad antioxidante DPPH• y ABTS ^{•+} de mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas control y tratadas (2, 5 y 8 kJ/m ²).....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Planta de mora de castilla sin espinas (<i>Rubus glaucus</i>).....	6
Figura 2. Frutos de mora de castilla sin espinas.....	7
Figura 3. Índice de madurez para la cosecha de mora de castilla.....	11
Figura 4. Espectro electromagnético.....	14
Figura 5. Estructura de las principales antocianinas presentes en la mora de castilla	23
Figura 6. Estructura del ácido L-ascórbico.....	24
Figura 7. Pérdida de peso de mora de castilla sin espinas (<i>Rubus glaucus</i>) control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m ² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.....	41
Figura 8. Contenido de fenoles totales en mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m ² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.....	45
Figura 9. Contenido de antocianinas en mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m ² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.....	48
Figura 10. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico) en mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m ² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.....	51
Figura 11. Capacidad antioxidante total ABTS ^{•+} en mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m ² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.....	54
Figura 12. Capacidad antioxidante total DPPH [•] en mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m ² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.....	56

Figura 13. Correlaciones entre capacidad antioxidante con los métodos ABTS•+ y DPPH• en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas control (a) y tratadas con dosis de 2 (b), 5 (c) y 8 (d) kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C..... 57

ÍNDICE DE ANEXOS

PÁGINA

ANEXO 1

Cosecha de mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas en barrio Huachi Magdalena- Ambato.....	74
---	----

ANEXO 2

Coeficientes de correlación (r) entre fenoles totales, antocianinas y ácido ascórbico con capacidad antioxidante DPPH• y ABTS ⁺ de mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i>) sin espinas control y tratadas 2, 5 y 8 kJ/m ²).....	75
---	----

RESUMEN

La radiación UV-C ha sido estudiada en ciertas frutas y verduras frescas con el objetivo de lograr un incremento en el tiempo de vida útil. Al aplicar este tratamiento poscosecha en dosis adecuadas se puede inducir la síntesis de compuestos antioxidantes y retardar el envejecimiento del tejido. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la radiación UV-C sobre el contenido de compuestos antioxidantes de la mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas cosechada en el cantón Ambato, provincia de Tungurahua, Ecuador. La fruta se dividió en dos grupos: frutos control (sin radiación UV-C) y frutos tratados con dosis de radiación UV-C de 2, 5 y 8 kJ/m². Tanto los frutos control como los tratados fueron almacenados en bandejas de PVC con perforaciones y en refrigeración a 4°C durante 18 días. A los 0, 3, 6, 9, 12, 15 y 18 días se retiraron tres bandejas de cada tratamiento, se determinó la pérdida de peso y luego las frutas se congelaron a -20°C para su posterior análisis, donde se determinó el contenido de fenoles totales (método Folin-Ciocalteu), ácido ascórbico (método diferencial de fenoles), antocianinas (extracción metanol-HCl), y capacidad antioxidante (métodos ABTS^{•+} y DPPH[•]). Durante el almacenamiento, tanto los frutos control como los tratados perdieron peso, sin embargo los frutos tratados con dosis de 2 kJ/m² presentaron menor porcentaje de pérdida de peso, alcanzando el 5% en el día 18. Inmediatamente después del tratamiento con UV-C, se observó un incremento significativo del contenido de fenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante; mientras que la vitamina C sufrió una reducción en su contenido. A lo largo del almacenamiento, todos los compuestos antioxidantes analizados incrementaron su contenido en los frutos tratados con las dosis de 2 y 5 kJ/m² a excepción de la vitamina C (ácido ascórbico) que continuó con una tendencia decreciente. La dosis de 8 kJ/m² tuvo efectos negativos sobre la fruta provocando disminución de la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y antocianinas, además de provocar mayores pérdidas de

vitamina C. Se determinó una fuerte correlación entre la capacidad antioxidante con el contenido de compuestos fenólicos ($r = 0.91$) y con el contenido de antocianinas ($r = 0.89$); mientras que para la vitamina C la correlación fue negativa ($r = -0.75$). Según los resultados obtenidos en este estudio, la dosis de 2 kJ/m^2 indujo un mayor desarrollo de los compuestos antioxidantes durante el almacenamiento refrigerado, esto puede atribuirse a que la dosis baja de radiación estimuló la síntesis de compuestos antioxidantes logrando aumentos en todos los compuestos analizados excepto la vitamina C.

ABSTRACT

The UV-C treatment has been studied in certain fruits and vegetables in order to increase lifetime and improve the physicochemical characteristics of these products. By applying the appropriate dose, this postharvest treatment may induce the synthesis of antioxidants and retard aging of the fruit. The aim of this study was to evaluate the effect of UV-C radiation on the content of antioxidant compounds of Andean Blackberry (*Rubus glaucus*) boneless harvested in Ambato, Tungurahua province in Ecuador. The fruit was split into two groups: control fruit (no UV-C) and fruit treated with doses of UV-C radiation of 2, 5 and 8 kJ/m². Both the control and the treated fruits were stored in PVC perforated trays and stored refrigerated at 4 ° C for 18 days. At days 0, 3, 6, 9, 12, 15 and 18 three trays of each treatment were stored frozen at -20°C in order to determine the content of Total phenols (Folin-Ciocalteu), ascorbic acid (phenol differential method), anthocyanins (methanol-HCl extraction), and antioxidant capacity (ABTS^{•+} and DPPH). During storage, the control and treated fruits lost weight; however, the fruits treated with a dose of 2 kJ/m² had lower loss rate, reaching 5% on day 18. Immediately after UV-C treatment, a significant increase of total phenol content, anthocyanins and antioxidant capacity was observed, while the vitamin C (ascorbic acid) had a reduction in content. During storage, all compounds increased their antioxidant compounds in treated fruits with the dose of 2 and 5 kJ/m² with the exception of vitamin C, which continued a downward trend. 8 kJ/m² dose had negative effects on the fruit, its antioxidant capacity decreased as well as total phenolic content and anthocyanins, and also produced higher losses of vitamin C. A strong correlation was found between the antioxidant capacity and the phenolic content ($r = 0.91$) and also with the anthocyanin content ($r = 0.89$), while for vitamin C there was a negative correlation ($r = -0.75$). According to the results obtained in this

study, the dose of 2 kJ/m² induced further development of antioxidant compounds during refrigerated storage, this can be attributed to the low dose of radiation which stimulated the synthesis of antioxidant compounds achieving increases in all analyzed compounds except for vitamin C.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El Ecuador es un país agrícola y gran parte de su economía está basada en la producción de frutas y hortalizas, particularmente la mora es una de los productos más demandados por el mercado tanto nacional como internacional, debido a sus características de sabor, aroma, funcionalidad y aporte nutricional (es rica en vitaminas A, E y C y pigmentos naturales) (Alvarado, 2002).

La mora de castilla, fruta nativa de la región sierra, es muy cotizada e importante tanto para su consumo en fresco como para la industria de pulpas, jugos y conservas (Alvarado, 2002).

La mora de castilla es una fruta perecible, sufre daños durante la manipulación, transporte y almacenamiento, causando pérdidas que le restan valor y calidad. Además estos factores influyen en sus características físicas, químicas y niveles de compuestos antioxidantes (Leoni y Mondino, 2003).

Debido a que la calidad de las frutas y hortalizas después de la cosecha sólo puede conservarse, no mejorarse (Kader, 2007), es necesario estudiar y desarrollar técnicas de poscosecha que permitan la conservación de la mora de castilla y contribuyan a mantener los niveles de antioxidantes necesarios para no perder las propiedades que caracterizan a la mora.

No se reportan estudios relacionados con uso de tecnologías poscosecha ni su influencia en el tiempo de vida útil de mora de castilla sin espinas, pero se conoce que la mora de castilla (*Rubus glaucus*) o mora de castilla con

espinas es una fruta muy perecible debido a su elevado contenido de agua, lo que la hace frágil al manejo y susceptible al ataque microbiano durante el período de almacenamiento. Su vida útil es muy corta, de sólo 3 a 5 días, por esta razón se recomienda que su manipulación sea mínima y que el proceso de comercialización se inicie inmediatamente después de la cosecha (Cerdas, Gamboa, y Castro, 2002). Cuando el manejo poscosecha no es adecuado, las pérdidas son muy altas, alrededor de 60% y 70%.

Por otro lado, el efecto germicida de la irradiación UV-C se ha empleado en frutas y hortalizas como un método de desinfección superficial a temperatura ambiente que no deja residuos en el producto por lo que se considera una buena alternativa para alargar el tiempo de vida útil y retrasar la pérdida de los niveles de compuestos antioxidantes (Allende, McEvoy, Luo, Artés & Wang, 2006). Por estas razones se planteó la aplicación de la radiación UV-C en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas con la finalidad de evaluar el impacto que causará en los compuestos antioxidantes.

Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron:

- Determinar el contenido de fenoles totales de la fruta irradiada durante el período de almacenamiento en refrigeración.
- Determinar el contenido de antocianinas de la fruta irradiada durante el período de almacenamiento en refrigeración.
- Determinar los niveles de contenido de vitamina C de la fruta irradiada durante el período de almacenamiento en refrigeración

- Determinar la capacidad antioxidante total de la fruta irradiada durante el período de almacenamiento en refrigeración.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DE LA MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*)

2.1.1 ORIGEN DE LA MORA DE CASTILLA

La mora de castilla (*Rubus glaucus*) fue descubierta por Hartw y descrita por Benth, es originaria de las zonas tropicales de América; en Ecuador es cultivada a lo largo del callejón interandino especialmente en las provincias de Chimborazo, Pichincha, Bolívar, Cotopaxi, Imbabura, Tungurahua, Carchi (Martínez, 2007).

Según Farinango (2010), desde el año 1980 en Estados Unidos se han investigado y desarrollado varios estudios para la producción de variedades de mora de castilla con mejores características. En el Ecuador sobresale la mora de castilla del género *Rubus* con y sin espinas.

Según Guerrero (2010) la variedad de mora de castilla sin espinas se obtuvo después de 3 años de investigaciones en mejoramiento genético, realizadas por técnicos e investigadores del Programa Nacional de Fruticultura del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. El estudio se realizó mediante la identificación y

selección de materiales de mora de castilla que tienen como característica relevante no tener espinas.

2.1.2 DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

Según León (2007) la mora de castilla sin espinas es una planta de vegetación perenne, arbustiva semi-erecta conformada por varios tallos con un diámetro de 1 y 2 cm con una longitud de 3 a 4 m y hasta 3 metros de alto. Sus hojas tienen bordes aserrados, miden de 3 a 5 cm de largo y no poseen espinas en la parte inferior, como se observa en la figura 1.

Los tallos y hojas están recubiertos de un polvo blanquecino. En la base de la planta se encuentra la corona, de donde se forman los tallos la cual está conformada por raíces superficiales. Según Martínez (2007) el sistema radicular es profundo, pudiendo llegar a más de un metro de profundidad dependiendo del suelo y subsuelo.



Figura 1. Planta de mora de castilla sin espinas (*Rubus glaucus*)

Las flores son blancas y se disponen en racimos en las puntas de las ramas o en toda la rama, poseen 5 sépalos y 5 pétalos.

La fruta es esférica y de tamaño variable alcanzando entre 1.5 y 2.5 cm en su diámetro. Es una baya formada por pequeñas drupas adheridas a un receptáculo (entre 70 y 100). Dentro de cada drupa hay una semilla, cuando maduran tienen un color que va de rojo a rojo púrpura o rojo oscuro como se observa en la figura 2. El peso del fruto promedio es de 3 a 5 gramos, su consistencia es dura y su sabor es agridulce tierno a dulce cuando está maduro.

Esta variedad se caracteriza por poseer mayor cantidad de sólidos solubles totales (°Brix), mejor tamaño de fruto y productividad. La producción de frutos es continua aunque hay épocas de mayor producción con intervalos de 5 a 6 meses (Martínez, 2007).



Figura 2. Frutos de Mora de Castilla sin espinas

La clasificación botánica de la mora de castilla (*Rubus glaucus*) se encuentra en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación Botánica de la Mora de Castilla (*Rubus glaucus*)

CLASIFICACION	NOMBRE
Reino	Vegetal
División	Antófila
Clase	Angiosperma
Subclase	Dicotiledónea
Orden	Rosales
Familia	Rosácea
Género	<i>Rubus</i>
Especie	<i>glaucus</i>
Nombre Científico	<i>Rubus sp.</i>

(Martínez, 2007)

2.4 VALOR NUTRICIONAL

Según Deighton, Brennan, Finn & Davies (2000) las frutas en general son ricas en sales minerales y vitaminas; estas características las hacen muy nutritivas y beneficiosas para la salud. La mora de castilla es una fruta baja en calorías y muy rica en compuestos antioxidantes debido a la presencia de compuestos fenólicos, antocianinas y carotenoides, éstos dos últimos son pigmentos naturales.

Las moras son ricas en vitaminas C y E, también contienen una buena cantidad de pectina y son muy ricas en hierro asimilable, lo que las hace aún más beneficiosas en la prevención de anemia. La mora es rica en ácidos orgánicos como el cítrico y málico que le aportan el sabor ligeramente ácido y tiene una gran cantidad de fibra.

Tabla 2. Composición Nutricional de la Mora de Castilla en una porción de 100g

Compuesto	Cantidad/100g	Unidad
Agua	92.8	g
Proteína	0.6	g
Carbohidratos	5.6	g
Grasa	0.1	g
Fibra	0.5	g
Cenizas	0.4	g
Calcio	42	mg
Sodio	3.7	mg
Potasio	196-208	mg
Hierro	1.7	mg
Vitamina C	8	mg
Vitamina E	13.3	mg
Vitamina A	177	UI

(Naveda, 2010)

2.3.1 CULTIVO DE LA MORA DE CASTILLA

Según Bejarano (2002) la mora presenta tres etapas de desarrollo: la primera en la que se obtienen las nuevas plantas, una segunda o de formación y desarrollo vegetativo y la tercera conocida como productiva que se inicia a los ocho meses a partir de la plantación y se mantiene constante por varios años.

Según Martínez (2007), para que la planta de mora tenga un desarrollo adecuado se deben cumplir con los siguientes requisitos climáticos:

- Clima: precipitación de 600 a 800 mm anuales
- Temperatura media: crece a temperaturas de 8 a 22°C pero alcanza su mayor producción de 12 a 14°C. A temperaturas menores la planta posee mayor crecimiento vegetativo lo que exige mayor cantidad de podas. La humedad relativa del ambiente debe estar entre 70 y 80%.
- Altitud: 2500 – 3100 m.s.n.m.
- Luminosidad: requiere de 1200 a 1600 horas de brillo solar al año.
- Vientos: Requiere zonas libres de vientos fuertes, de lo contrario se necesitan barreras rompe vientos.
- Suelos: profundos, sueltos, ricos en materia orgánica con disponibilidad de humedad y buen sistema de drenaje. La planta resiste pH bajo en el suelo pero su comportamiento es óptimo cuando el pH del suelo oscila entre 5.5 a 7.5.

2.2 COSECHA

La cosecha es la etapa más delicada de todo el proceso de producción de mora (Bejarano, 2002). Debido al continuo desarrollo de los frutos, la maduración no es uniforme, por lo cual se requieren por lo menos dos a tres cosechas semanales para obtener frutos de adecuada maduración (Ardilla & Luis, 2001).

Según Cadena (2008) la cosecha se estabiliza al año y medio con un rendimiento aproximado de 14 a 18 t/ha/año. La fruta se debe recoger cuando tiene un color vino tinto, si se recolecta en estado verde no alcanza su madurez fuera de la planta, por esta razón se la conoce como un fruto no climatérico.

La cosecha se debe realizar en forma manual, la fruta se debe recoger durante las primeras horas del día, una vez que ha desaparecido el rocío ya que al recogerse húmeda se favorece el desarrollo microbiano afectando la vida útil poscosecha. Se deben tomar frutos de consistencia dura, firme, sanos, enteros, con pedúnculo y entre los colores tres y cuatro, según el índice de madurez presentado en la Norma INEN 427:2010 como se observa en la figura 3.

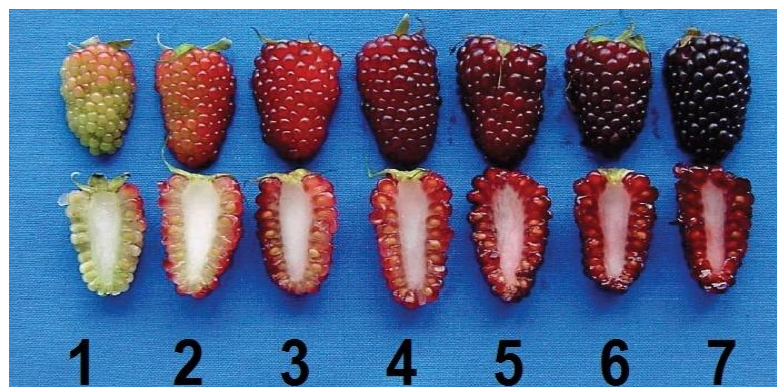


Figura 3. Índice de Madurez para la cosecha de Mora de Castilla

(INEN, 2010)

Los recipientes donde se las coloca no deben exceder los 12cm de alto ya que se la fruta puede sufrir daños mecánicos causando que se rompan las drupas y acelerando el deterioro y pérdidas poscosecha. Toda la fruta se debe almacenar en lugares frescos y ventilados durante la cosecha. Lamentablemente en nuestro país se realiza la recolección en canastos de 20 libras, lo cual hace que el fruto se maltrate y se pierda la calidad poscosecha (Saltos, 2001).

2.3 POSCOSECHA DE MORA DE CASTILLA

La poscosecha se inicia el momento de la separación del producto del medio donde ha crecido y termina con la preparación del alimento para su consumo final o posterior conservación (Serrano, 2011).

Al ser tejidos vivos, las frutas y hortalizas se encuentran sometidas a cambios continuos después de la cosecha; algunos son deseables pero

otros no. Estos cambios no pueden detenerse pero si controlarse (Saltos, 2001).

Las frutas una vez cosechadas realizan procesos metabólicos de respiración, donde los compuestos orgánicos complejos almacenados durante la fotosíntesis se transforman en compuestos simples como CO₂, agua y energía con la ayuda de oxígeno (Vasco, 2008). Mientras las frutas respiran poseen comportamientos diferentes, según la intensidad respiratoria y la producción de etileno en la maduración. El etileno es un gas natural producido constantemente por el fruto, originalmente su concentración es muy baja pero aumenta ligeramente antes de iniciar el proceso de maduración. Su producción aumenta cuando la fruta está bajo mucho estrés, cuando ha sido maltratada físicamente o cuando sufre algún ataque por microorganismos (Kader, 2007).

Al considerar la intensidad respiratoria y la producción de etileno se distinguen dos tipos de frutas: climatéricas y no climatéricas (Kader, 2007). La mora es una fruta no climatérica, por lo que la madurez de cosecha debe ser igual o muy cercana a la de consumo, ya que estos frutos una vez separados de la planta no siguen madurando. Los frutos no climatéricos tienen una actividad respiratoria relativamente baja que declina lentamente tras la maduración (Ardilla, 2001).

Según Kader (2007) cuando se conocen los factores biológicos que afectan a la calidad de la fruta por ejemplo la respiración, producción de etileno, maduración, pérdida de agua, cambios composicionales y los factores ambientales involucrados en el deterioro de la fruta como temperatura, humedad relativa, composición atmosférica, luz, entre otros; se pueden

aplicar técnicas poscosecha que contribuyan al mejoramiento de la calidad de las frutas a partir de la cosecha. Dentro de los procedimientos de tecnología poscosecha se destaca el manejo de la temperatura como la herramienta más efectiva para extender la vida útil de frutas y hortalizas. La mora de castilla se caracteriza por ser una fruta no sensible al daño por frío, siendo la temperatura de 0 a 5°C óptima para el transporte y almacenamiento. La humedad relativa también juega un rol muy importante en la conservación de la fruta ya que influye en la pérdida de agua, desarrollo de pudriciones, y uniformidad en la maduración. La humedad relativa adecuada es 85 a 95% para mora de castilla.

Actualmente, no existen estudios relacionados con uso de tecnologías poscosecha ni su influencia el tiempo de vida útil de mora de castilla sin espinas, pero se conoce que la mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) o mora de Castilla con espinas es una fruta muy perecible debido a su elevado contenido de agua, lo que la hace frágil al manejo y susceptible al ataque microbiano durante el período de almacenamiento. Su vida útil es muy corta, de sólo 3 a 5 días, por esta razón se recomienda que su manipulación sea mínima y que el proceso de comercialización se inicie inmediatamente después de la cosecha; cuando el manejo poscosecha no es adecuado, las pérdidas son muy altas, alrededor de 60% y 70% (Cerdas, Gamboa, & Castro, 2002).

2.5 RADIACIÓN UV-C

La luz ultravioleta es una radiación no ionizante con una longitud de onda de 100 a 400nm; se clasifica en tres tipos: UV-A (315-400nm), UV-B(280-315nm) y UV-C(200-280nm) como se indica en la figura 4.

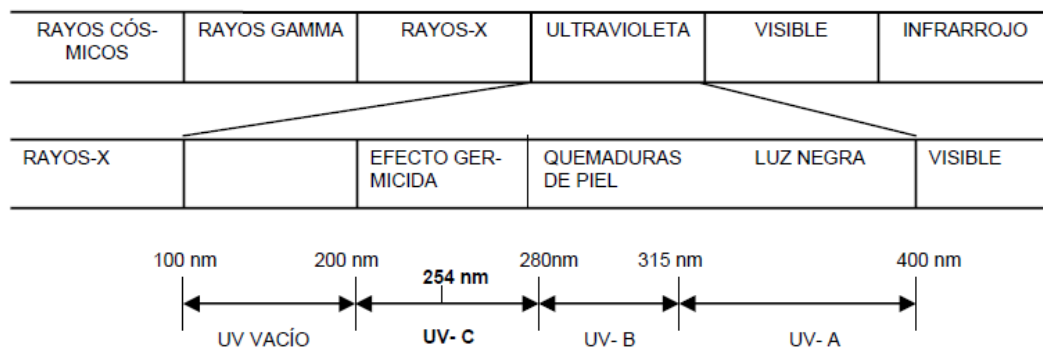


Figura 4. Espectro electromagnético

(Snowball & Hornsey, 1988)

La radiación UV-C tiene su máximo pico de emisión a 254 nm y se ha comprobado que es en esta longitud de onda donde presenta su mayor acción germicida, por lo que ha sido ampliamente estudiada en varios tejidos vegetales (Allende & Artés, 2006).

La radiación ultravioleta tipo UV-C puede ser considerada como una nueva tecnología para prolongar la vida poscosecha de frutas y hortalizas enteras y cortadas (Rivera Pastrana, Gardea Béjar, Martínez Téllez, Rivera Domínguez, & González Aguilar, 2007). Ya que se ha estudiado como un tratamiento alternativo reciente para la preservación de frutas y hortalizas

debido a las grandes ventajas que presenta sobre la calidad poscosecha (Maharaj, Arul, & Nadeau, 1999).

La aplicación de la radiación UV-C en frutas y hortalizas ha resultado un sistema efectivo para prolongar la vida útil de estos productos por ser letal para la mayoría de microorganismos (Baka, Mecier, Corcuf, Castaigne & Arual, 1999).

Cuando el tiempo de radiación de UV-C oscila entre 1 y 5 minutos no incrementa significativamente la temperatura del tejido (alrededor de 1 a 3 °C) y tampoco produce alteraciones; por el contrario, favorece los procesos de deterioro del producto sin dejar residuos ni afectar las características sensoriales del alimento. La sensibilidad de los tejidos difiere del genotipo del mismo; ya que en ocasiones una alta exposición al tratamiento con UV-C puede oxidar los compuestos bioactivos del fruto como por ejemplo la vitamina C, carotenos y fenoles oscureciendo la superficie el tejido (Rivera *et al.*, 2007).

2.6 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C EN LAS FRUTAS

El efecto germicida de la radiación UV-C se ha empleado en diferentes alimentos como un método de desinfección superficial a temperatura ambiente que no deja residuos en el producto, por lo que se considera una buena alternativa para la conservación de alimentos (Rivera-Pastrana, 2009)

Según González Aguilar, Villegas-Ochoa, Martínez Téllez, Gardea & Ayala-Zavala, (2007) la utilización de dosis bajas ha tenido éxito en la desinfección de frutas y hortalizas y algunos efectos atribuidos a la radiación UV-C son:

- Reducción de desórdenes fisiológicos que ocurren durante el almacenamiento en frío;
- Mejoramiento de las propiedades nutraceuticas debido al incremento en los niveles de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante;
- Inactivación de enzimas relacionadas con procesos de maduración y senescencia.

Se han reportado estudios en los que la irradiación con UV-C modifica las propiedades nutricionales de frutas y hortalizas, como la acumulación de fitoalexinas y el incremento de algunas vitaminas y antioxidantes (Rivera Pastrana *et al.*, 2007). En lo que respecta a la influencia del tratamiento con radiación UV-C sobre los pigmentos de las frutas y hortalizas, existen estudios que reportan la reducción en la degradación de clorofila en brócoli y la acumulación de antocianinas y carotenoides en tomate (Costa, Vicente, Civello, Chaves & Martínez, 2006).

En mango fresco cortado e irradiado con UV-C se reportó un incremento significativo de la actividad antioxidante, el cual puede correlacionarse con aumentos en el contenido de fenoles y flavonoides totales (González-Aguilar, Zavaleta-Gatica & Tiznado-Hernández, 2007). El tratamiento UV-C indujo la síntesis de antocianinas en frutos de fresa y manzanas con lo que mejoró la calidad nutricional del producto (Baka, *et al.*, 1999).

2.7 COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son compuestos que a baja concentración respecto a un sustrato o molécula, retrasan o previenen su oxidación. La función principal es neutralizar los radicales libres. Al chocar con un radical libre, el antioxidante cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil no tóxico (Almeida, 2012).

2.7.1 RADICALES LIBRES

Los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran estabilidad (Garrido, 2004).

En determinadas circunstancias, la producción de radicales libres puede aumentar en forma descontrolada, situación conocida con el nombre de estrés oxidativo. El concepto expresa la existencia de un desequilibrio entre las velocidades de producción y de destrucción de las moléculas tóxicas que da lugar a un aumento en la concentración celular de los radicales libres. Las células disponen de mecanismos de protección del efecto nocivo de los radicales libres basado en un complejo mecanismo de defensa constituido por los agentes antioxidantes (Aguilar, 2011).

Los radicales libres son muy reactivos, ya que una vez que ha conseguido aparearse, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en radical libre, formándose así una reacción en cadena que destruye las células. La vida biológica media del radical libre es de microsegundos; pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas y a las membranas celulares (Rivera, *et al.*, 2007).

Los radicales libres alteran el buen funcionamiento de las células, atacando a componentes estructurales claves de las mismas, tales como lípidos y proteínas de la membrana celular, enzimas e incluso al ADN, responsable del funcionamiento y renovación celular (Lima, 2010).

En condiciones normales, la producción de radicales libres es constante y controlada ya que son neutralizados por las defensas antioxidantes que pueden ser sustancias propias como las enzimas o pueden estar presentes en los alimentos como las vitaminas, carotenos, flavonoides, entre otros (Cárdenas & Pedraza, 2006).

2.7.2 ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS

Los antioxidantes de los alimentos pueden ser definidos como cualquier sustancia que es capaz de aplazar, retardar o prevenir el desarrollo de ranciedad en el alimento u otro deterioro que se produzca como consecuencia de la oxidación. Los antioxidantes pueden inhibir o retardar la oxidación de dos formas: captando radicales libres, en cuyo caso se llaman

antioxidantes primarios o por mecanismos que no estén relacionados con la captación de radicales libres llamados antioxidantes secundarios (Pokorny, 2001).

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas; el enzimático y no enzimático; los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular (Zamora, 2007).

Según Zamora (2007) el primer sistema de defensa correspondiente a las enzimas antioxidantes, está basado en un complejo enzimático de defensa que puede incluir la superóxidodismutasa, catalasa, glutatión peróxidasa, entre otras. El segundo sistema de antioxidantes no enzimático, es un sistema paralelo al primero y especialmente útil cuando el sistema enzimático se satura. Está determinado por una serie de compuestos llamados depuradores de radicales libres; los cuales intervienen logrando retrasar la producción de los radicales libres. Algunos antioxidantes no enzimáticos son la vitamina E, C, A y los carotenoides; mientras que los minerales selenio, cobre, zinc y magnesio forman parte de la estructura molecular de algunas de las enzimas antioxidantes.

Los antioxidantes se usan en una gran cantidad de productos alimenticios, su actividad está influida por la temperatura, la composición del alimento, la estructura del alimento y la disponibilidad de oxígeno.

Según Salvatierra (2011), el grupo de alimentos más rico en antioxidantes son las frutas, y especialmente las frutas del bosque como la fresa, mora, uva, ciruela o la granada.

El proceso por el que los radicales libres van atacando distintas moléculas de las células se conoce como envejecimiento celular. Esto es exactamente lo que los antioxidantes previenen; un consumo regular de antioxidantes implica un estado general más sano tanto interna, como externamente en el cuerpo (Zamora, 2007).

2.7.3 COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES

Los fenoles son compuestos orgánicos, no nitrogenados, de estructura aromática con uno o varios grupos hidroxilo, libres o formando parte de otra función: éter, éster, glucósido, entre otros (Bravo, 1998).

Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal; son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de plantas (Martínez Valverde, Perigao, & Ros, 2000).

Los fenoles se encuentran casi en todos los alimentos de origen vegetal; en especial tienen alto contenido de fenoles la cebolla, té, vino tinto, cacao y aceite de oliva. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos ya que actúan como colorantes y antioxidantes. (Martínez, *et al.*, 2000).

Los fenoles se pueden clasificar de varias maneras debido a su diversidad estructural; según su estructura química se clasifican en dos grupos como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Clasificación de Fenoles según su estructura química

TIPO	COMPUESTOS
No Flavonoides (C6-C3)	Fenoles no carboxílicos: <ul style="list-style-type: none"> - fenoles simples (C6) - ácido hidroxibenzóico (C6-C1) - ácidos hidroxicinámicos (C6-C3) Ácidos fenoles: derivados del ácido benzoico C6-C3 y derivados del ácido cinámico
Flavonoides (C6-C3-C6) Formados por dos grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado	<ul style="list-style-type: none"> - Antocianos - Flaconas, flavononas, flavanoles, flavanonoles - Flavanoles, taninos condensados

(Naveda, 2010)

Dentro de las técnicas analíticas para la cuantificación e identificación de compuestos fenólicos se encuentran las técnicas de cromatografía como la de capa fina (TCL), cromatografía de gases (CG) y de líquidos de alta resolución (HPLC) y también se encuentran las técnicas espectrofotométricas (Martínez- Valverde *et al.*, 2000).

Uno de los métodos más usados en espectrofotometría es en ensayo de Folin-Ciocalteu, este método consiste en que los compuestos fenólicos de la muestra se oxidan por acción del reactivo.

El reactivo de Folin-Ciocalteu está formado por una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3W_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) que se reduce por acción de los fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}). La oxidación presente en la muestra causa la aparición de un color azul que se cuantifica con un espectrofotómetro basándose en una curva de calibración de ácido gálico o catequina (Naveda, 2010).

2.7.4 ANTOCIANINAS

Las antocianinas son el grupo más grande de pigmentos solubles que existe en el reino vegetal; son responsables del color rojo y azul en frutas y vegetales. Recientemente se han usado mucho en la industria de alimentos gracias a sus llamativos colores y alta solubilidad además de su asociación a beneficios en la salud (Castañeda & Ovando, 2009).

El estudio de las antocianinas en frutas ha tomado fuerza no sólo por la capacidad colorante; sino también por su capacidad antioxidante (Cooke, D., Steward, W. P., Gescher, A. J., Marczylo, T. 2005). Es así como los extractos de distintas frutas como mora, frambuesa y fresas han demostrado actuar de manera eficaz como inhibidores de radicales libres (Garzón, 2008).

Químicamente son glucósidos fruto de la unión de antocianidinas y uno o más monosacáridos. Los azúcares que normalmente forman parte de las estructuras de las antocianinas en las bayas son la glucosa, arabinosa, xilosa y la ramnosa. En la mora se han detectado predominantemente antocianos derivados de la cianidina unidos a varios azúcares (glucosa, arabinosa, rutinosa y xilosa) (Leiva, 2009).

Las principales antocianinas presentes en el género *Rubus* son el glucósido de cianidina y el rutinósido de cianidina (Salvatierra, 2011), como se aprecia en la figura 5. Varios autores coinciden en las concentraciones de estos dos compuestos en la especie *Rubus glaucus*. Tanto Garzón (2009) como Mertz (2007) coinciden en una menor cantidad de glucósido de cianidina con proporciones de 40 y 30% del total de antocianinas y mayor cantidad del rutinósido de cianidina con porcentajes entre 45% y 60%.

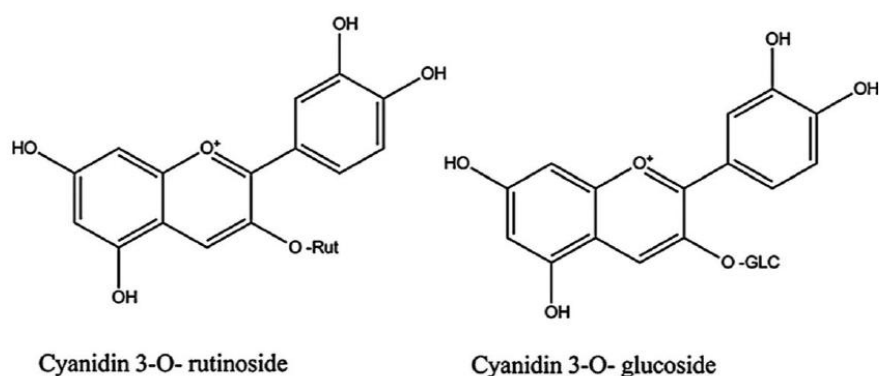


Figura 5. Estructura de las principales antocianinas presentes en la mora de castilla (*Rubus glaucus*).

(Salvatierra, 2011)

Según un estudio realizado en mora de castilla (Garzón, Rield &Schwartz, 2009) se determinó que el 67% del contenido de antocianinas de la fruta pertenece a la cianidina-3-glucósido; en el presente estudio se cuantifica esta antocianina cuya presencia es mayoritaria en la fruta.

2.7.5 VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)

El ácido ascórbico conocido popularmente como vitamina C es un ácido orgánico, antioxidante, hidrosoluble y sensible al calor. Tiene una estructura de lactona (compuesto orgánico del tipo éster cíclico) como se aprecia en la figura 6. El ácido ascórbico es particularmente sensible a las reacciones de oxidación, destruyéndose con gran facilidad durante el procesamiento de alimentos en presencia de oxígeno. Además, su sensibilidad implica un adecuado manejo de poscosecha para evitar caídas abruptas en sus niveles. (Catalá, 2001).

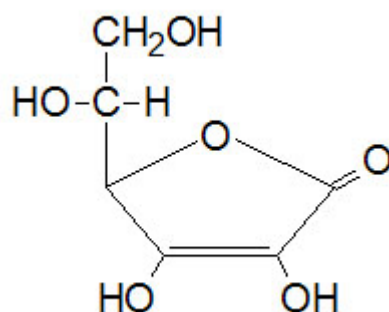


Figura 6. Estructura del ácido L-ascórbico.

(Lima, 2010)

La mayoría de las reacciones metabólicas del ácido ascórbico se deben a su fuerte potencial reductor y su actividad antioxidante deriva del desplazamiento del ácido L-ascórbico a su forma oxidada L-dehidroascórbico; esto también habilita la molécula para combatir radicales oxidativos y los radicales acuosos como el oxígeno singulete (Fennema, 2000).

El ácido ascórbico se distribuye en células de plantas donde juega muchos roles cruciales en crecimiento y metabolismo. Como antioxidante presenta la capacidad de eliminar especies reactivas de oxígeno y actúa como cofactor manteniendo la actividad de un número de enzimas (Catalá, 2001).

La vitamina C se oxida con facilidad en solución, en especial cuando es sometida a calor; la oxidación puede acelerarse por la presencia de hierro, cobre o pH alcalino (Cabezas, 2008). Además está presente en las frutas y verduras en forma de ácido ascórbico y ácido dehidroascórbico. También se encuentra en los alimentos procesados a los que ha sido añadida como antioxidante (Pokorny, 2001).

La acción de la vitamina C es suministrada por el ácido L-ascórbico (AA) y su forma oxidada, el ácido deshidroascórbico (DHAA). En humanos ambas formas son biológicamente activas, definiéndose así la vitamina C total como la suma de las dos (Ledezma-Gairaud, 2006).

Dentro de las funciones de la vitamina C en el organismo se pueden destacar dos acciones básicas: en el sistema inmunológico y en el sistema nervioso; aunque participa en un sinnúmero de eventos en todo el cuerpo. De este modo refuerza y tonifica las paredes arteriales, participa en la síntesis de carnitina, compuesto vital para la oxidación de los lípidos, de ahí su importancia para combatir la obesidad, así como en la síntesis de colágeno. Coadyuva además al mejor aprovechamiento de otras vitaminas y minerales como el ácido fólico y el hierro (Lima, 2010).

Se han realizado pocos estudios para determinar el efecto que tienen los tratamientos con radiación UV-C sobre el contenido de vitamina C. Sin

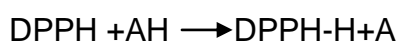
embargo, en tomates tratados con UV-C y almacenados a 13 °C, se evidenció mayor acumulación de ácido ascórbico en el pericarpio con respecto a los frutos no irradiados (Jagadeesh, Gariepy, Goyette, Raghavan & Vigneault, 2009).

En zuquinis, se determinó que la enzima ascorbato oxidasa, participante del catabolismo del ácido ascórbico, fue inactivada después de la exposición del fruto a la radiación UV-C durante 8,5 min (Maccarrone, D'andrea, Salucci, Avigliano & Finazzi Agro, 1993).

2.7.6 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Según Pokorny (2001), la captación de radicales libres es el principal mecanismo de acción de los antioxidantes en los alimentos. Se han desarrollado muchos métodos en los que se mide la capacidad antioxidante a través de captación de radicales libres sintéticos en solventes orgánicos polares. Los radicales usados son del tipo 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolina-ácido sulfónico) (ABTS^{•+}).

En el método DPPH• se mide la captación de este radical a través de la disminución de la absorbancia medida a 515nm, que se produce por reducción de un antioxidante (AH) o por reacción con especies radicales (R).



En la mayor parte de los casos se ha usado el método del DPPH• para medir la captación de radicales después de los 15 ó 30 minutos de iniciada la reacción. El dato se expresa como valor EC₅₀, es decir, la concentración de antioxidante necesaria para captar el 50% de los radicales DPPH• en un tiempo determinado (Pokorny, 2001). Entre las ventajas de usar este método, se tiene que el ensayo DPPH• es un método rápido y sencillo y que no requiere de un equipamiento sofisticado. La desventaja que tiene este método es que sólo puede disolverse en medio orgánico y en algunos casos la interpretación resulta complicada, ya que algunos antioxidantes pueden causar interferencias si poseen un espectro de absorción similar al DPPH• (Einbond, Reynertson, LuoXiaoDong, Basile, & Kennelly, 2004).

El uso del radical catiónico ABTS^{•+} es otro método para determinar la capacidad antioxidante, éste es más reactivo que el DPPH•, por lo que la reacción transcurre completamente en seis minutos. El método más reciente de análisis consiste en el uso de persulfato potásico para oxidar el ABTS^{•+} a su radical catiónico. La actividad de captación de radicales por el método de ABTS^{•+} se expresa como valor TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Activity). Entre las ventajas del método podemos destacar la reproducibilidad, flexibilidad en diversos medios acuosos o lipofílicos de extractos de alimentos y fluidos fisiológicos; ya que el reactivo es soluble tanto en medios solventes acuosos como orgánicos (Pokorny, 2001)

Se han realizado estudios para determinar la capacidad antioxidante total de mora de castilla (Garzón, Rield, Schwartz, 2009), arándanos (Wang, Wang, & Chen, 2008), (PerkinsVeazie, Collins, & Howard, 2008), brócoli (Costa, Vicente, Civello, Chaves, & Martínez, 2006) y pimiento verde troceado (Rodoni, Concellón, Chaves, & Vicente, 2012). Todos estos experimentos usaron el método del ABTS^{•+} para la determinación de la capacidad antioxidante debido a que éste es un método sencillo y el tiempo de reacción

es mínimo comparado con otros métodos como el DPPH•; donde el tiempo de reacción es propio de cada producto y debe ser determinado mediante una cinética de reacción.

Según Kuskoski, Vega, Rios, Fett, Troncoso & Agustín (2005) los métodos más aplicados para evaluar la actividad antioxidante son DPPH•y ABTS^{•+}. Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH•es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS^{•+}tiene que ser generado tras una reacción química con persulfato de potasio.

Con el ABTS^{•+}se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH• solo puede disolverse en medio orgánico. El radical ABTS^{•+}requiere de alrededor de 15 horas en oscuridad para lograr estabilidad; mientras que el DPPH• logra estabilizarse en 5 horas de agitación constante (Kuskoski *et al.*, 2005)

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1 MATERIA VEGETAL

El estudio se realizó con mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas cosechada en una plantación localizada en el barrio Huachi Magdalena en la ciudad de Ambato, provincia de Tungurahua.

La fruta se cosechó en estados de madurez entre tres y cuatro según la escala presentada en la figura 3, y se colocó en bandejas plásticas recubiertas con papel kraft para evitar daños mecánicos durante el transporte. Una vez cosechada, la fruta fue trasladada al laboratorio de la Universidad Tecnológica Equinoccial, donde se realizó una clasificación para descartar frutos con daño mecánico y los que no cumplen con la madurez deseada.

3.2 APLICACIÓN DE RADIACIÓN UV-C

Las muestras de mora fueron divididas en dos grupos:

- Muestras Control (sin radiación)
- Muestras Tratadas (con 3 dosis de radiación UV-C)

Para realizar el tratamiento de radiación, se colocaron las moras en planchas de espuma flex de 2 cm de alto y se ubicaron a 30 cm de distancia de las lámparas de UV-C (TUV G30T8, 30W Philips) y fueron irradiadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m². La intensidad de radiación se midió con un radiómetro digital UV (UVX Radiometer UVP).

Se pesaron alrededor de 160 gramos de frutas tratadas y control y se colocaron en bandejas de PVC tipo clamshell perforadas para ser almacenadas en refrigeración a 4 °C durante 18 días.

La pérdida de peso se evaluó cada 3 días durante 18 días de almacenamiento en refrigeración y se expresó como el porcentaje de pérdida de masa en relación a la masa inicial. Se retiraron de refrigeración 3 bandejas de fruta por cada tratamiento y control, se almacenaron en fundas Reynold's® específicas para congelación y se mantuvieron a -20 °C hasta su posterior análisis.

3.3 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

3.3.1 PREPARACIÓN DE EXTRACTO

Se tomó 1 g de tejido congelado y triturado en un procesador de alimentos (Black&Deker) y se homogenizó en 10 ml de etanol. La suspensión obtenida se agitó en baño refrigerado durante 20 minutos y posteriormente se

centrifugó a 6000 rpm en una centrífuga (Hermle Z323) refrigerada a 4°C durante 20 minutos. Al finalizar la centrifugación se separó el sobrenadante y se dispensó en eppendorfs para su posterior almacenamiento a -20°C.

Los extractos etanólicos preparados se utilizaron para la determinación del contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante. Para cada tratamiento (2, 5 y 8 kJ/m²) y tiempo de almacenamiento se realizaron tres moliendas y las lecturas se realizaron por triplicado para cada muestra.

3.3.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES

El contenido de fenoles totales se determinó mediante una reacción colorimétrica de óxido-reducción. El agente oxidante utilizado fue el reactivo de Folin-Ciocalteu según el método descrito por Singleton & Rossi (1965) con ligeras modificaciones. Una alícuota de 50 µL de extracto se colocó en un tubo de ensayo que contenía 1150 µL de agua bidestilada; se añadieron 100 µL de Folin-Ciocalteu diluido en agua destilada (1:1); se homogenizó el sistema y se cubrió con papel film, se dejó en reposo durante 3 minutos a temperatura ambiente. Luego se colocó 200 µL de una solución de Na₂CO₃ 20% m/v en NaOH 0,1N; se homogenizó nuevamente y se cubrió con papel film. El volumen final de reacción fue de 1500 µl.

Después de 60 minutos de reposo se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (Evolution 60S). La concentración de fenoles totales fue determinada empleando una curva de calibración con ácido gálico de 10 a

50 μL en volumen final de reacción. Los resultados se expresaron como μg ác. gálico eq./g. tejido. El ensayo se realizó por triplicado.

3.3.3 DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS

Para la determinación de antocianinas se pesó 0.4 g de tejido congelado y triturado en un procesador de alimentos (Black&Deker) y se homogenizó en 10 ml de una solución acidificada de metanol y ácido clorhídrico al 1%. Posteriormente se agitó la suspensión durante 15 minutos en baño refrigerado. Se centrifugó a 6000 rpm durante 10 minutos a 4 °C y se filtró el sobrenadante y se almacenó en otro tubo; al pellet o tejido que queda adherido al tubo inicial se le agregó 10 ml de la solución acidificada de metanol y ácido clorhídrico al 1% y se repitió el proceso una vez más o hasta que el pellet quedó completamente blanco. Los sobrenadantes se recogieron en el mismo tubo y al finalizar las extracciones se aforó a un volumen final de 30 ml con la solución extractora.

Para comprobar la longitud de onda de máxima absorción de la muestra, se realizó un barrido donde se apreció el pico más alto de absorción y se adoptó esa longitud de onda para las mediciones. En el caso de la mora el pico de máxima absorción es de 530 nm.

Se expresó el contenido de antocianinas totales/kg (como equivalentes de cianidina-3-glucósido), según la ecuación 1:

$$C = \left(\frac{A}{E}\right) \left(\frac{V}{1000}\right) (PM) \left(\frac{1}{\text{pesomuestra}}\right) (10^6) \quad (1)$$

Donde

C = Concentración de antocianinas totales (mg/kg)

A = Absorbancia máxima

E = Absortividad molar cianidina-3-glucósido (25955/cmM)

V = volumen total de extracto (volumen final de aforo)

PM = peso molecular cianidina-3-glucósido

3.3.4 CONTENIDO DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)

El contenido de vitamina C (ácido ascórbico) fue determinado según el método descrito por Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, MJ. (2005) con ligeras modificaciones. El método se basa en el uso del reactivo Folin-Ciocalteu, usado para la determinación de polifenoles, éste interactúa con otras sustancias y elimina la interferencia que produce la vitamina C en la reacción, así por diferencia se puede determinar el contenido de vitamina C en la muestra.

3.3.4.1 Curva de calibración

Para la preparación de la curva de calibración se pesó 100 mg de ácido ascórbico y se disolvió en 100 ml de agua bidestilada, protegiendo siempre

de la luz. A partir de esta solución se prepararon diluciones que se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 4. Diluciones para curva de calibración

Alícuotas de solución madre ácido ascórbico (μL)	Concentración mg/L
200	10
400	20
800	40
1200	60
1600	80

Se tomó una alícuota de 500 μL de cada dilución y se añadió 2.5 ml de Folin-Ciocalteu; se homogenizó y se dejó en reposo por 2 minutos. Luego se colocó 2 ml de solución de Na_2CO_3 7.5% m/v en agua bidestilada, se homogenizó nuevamente y se llevó a un baño térmico a 50°C durante 15 minutos. Se enfrió rápidamente en un baño refrigerado y se leyó la absorbancia a 760 nm. Para el blanco se utilizó 500 μl de agua bidestilada y se repitió el proceso.

3.3.4.2 Acondicionamiento de Cartuchos OASIS®HLB

Se realizaron lavados por gravedad para el acondicionamiento de los cartuchos previo al análisis usando:

- 3 ml de metanol puro
- 6 ml de agua bidestilada (dosificando 3 ml por 2 ocasiones)

Una vez usado el cartucho, se lo puede reacondicionar realizando el siguiente lavado por gravedad:

- 12 ml de metanol puro (dosificando 3 ml por 4 ocasiones)
- 4 ml de agua bidestilada (dosificando 2 ml por 2 ocasiones)

3.3.4.3 Preparación de Extractos

Se pesaron 3.5 g de tejido congelado y triturado en un procesador de alimentos Black&Deker, se añadieron 10ml de una solución extractora 70:30 (acetona:agua), se agitó durante 20 minutos y se llevó a baño ultrasónico durante 10 min. Se trasvasó a un embudo con papel filtro y se realizó lavados con la solución extractora hasta completar un volumen de 20 ml. El filtrado se trasvasó a frascos ámbar y se lo almacenó en congelación hasta su análisis. Para cada tratamiento y días de análisis se realizaron dos moliendas, efectuando dos extracciones de cada una. Los extractos cetónicos se trataron de dos formas diferentes.

Muestra A

Se tomó una alícuota de 2 ml de extracto cetónico y 2ml de agua bidestilada. De esta dilución se tomó 2 ml y se colocó en el cartucho OASIS® HLB Cartridge previamente acondicionado; el filtrado se recogió en una probeta limpia y seca. Una vez filtrado el extracto cetónico se lavó el cartucho con 2 ml de agua bidestilada y se recogió en la misma probeta anotando el volumen al que llegó; este filtrado se trasvasó a tubos de ensayo con tapa.

Se tomó una alícuota de 500 µl y se añadió 2.5 ml de Folin-Ciocalteu, se colocó 2 ml de solución de Na₂CO₃ 7.5% m/v en agua bidestilada, se homogenizó nuevamente y se colocó los tubos en un baño térmico a 50 °C por 15 minutos. El proceso se realizó por duplicado. Se enfrió rápidamente en baño refrigerado y se leyó la absorbancia de cada tubo de ensayo a 760 nm.

Muestra B

Se tomó el sobrenadante de los filtrados que se colocó en los tubos de ensayo y se calentó a 85 °C durante 2 horas en baño térmico, después del calentamiento se enfrió con baño refrigerado.

Se tomó una alícuota de 500 µl y se añadió 2.5 ml de Folin-Ciocalteu, se colocó 2 ml de solución de Na₂CO₃ 7.5% m/v en agua bidestilada, se homogenizó nuevamente y se colocó los tubos en un baño térmico a 50 °C por 15 minutos. El proceso se realizó por duplicado. Se enfrió rápidamente en baño refrigerado y se leyó la absorbancia de cada tubo de ensayo a 760 nm en el espectrofotómetro.

3.3.4.4 Cuantificación

La cuantificación de vitamina C se realizó mediante una interpolación de los valores de absorbancia de las muestras en una curva de calibración donde se grafica la absorbancia en función de la concentración.

Se aplicaron las siguientes ecuaciones para el cálculo de vitamina C:

$$CnA = \frac{y-b}{x} (fd) \frac{Vextractante (L)}{masadelamuestra (g)} \quad (2)$$

$$CnB = \frac{y-b}{x} (fd) \frac{Vextractante (L)}{masadelamuestra (g)} \quad (3)$$

Una vez calculados los valores CnA y CnB, se aplicó la ecuación No. 4 para calcular la concentración de vitamina C en el extracto:

$$Cn. VitC = CnA - CnB \quad (4)$$

Donde;

Cn.VitC = concentración de vitamina C como equivalente ácido ascórbico (mg/g) de muestra.

3.3.5 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

3.3.5.1 Capacidad antioxidante por el método ABTS^{•+}

La capacidad antioxidante se determinó por espectrofotometría en los extractos etanólicos. El análisis se basa en una decoloración del radical ABTS^{•+} según la metodología desarrollada por Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999) y descrita por Kuskoski, E.M., Vega, J.M., Rios, J.J., Fett, R., Troncoso, A.M., Agsutin, G. (2005) con ligeras modificaciones.

El radical ABTS^{•+} se obtuvo mediante la reacción de ABTS^{•+} 7 mM con persulfato de potasio 2.45 mM incubados a temperatura ambiente y oscuridad durante 16 horas.

Al tener el radical formado, éste se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia entre 0.695 - 0.705 a 734 nm. Aproximadamente se diluyeron 200 µL de ABTS^{•+} en 25 ml de etanol.

Para la determinación de la capacidad antioxidante se colocaron 1000 µL de ABTS^{•+} en tubos de ensayo y se añadieron 20 µL de extracto diluido en etanol con una relación 1:1 y se dejó reposar durante 6 minutos cubierto con papel film y a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 734 nm empleando un espectrofotómetro ThermoScientific Modelo Evolution 60S. Para el blanco se sustituyó el extracto por etanol.

Para la curva de calibración se utilizó trolox de 10 a 30 μL en volumen final de reacción y los resultados se expresaron como μmol de trolox/g de tejido. El ensayo se realizó por triplicado.

3.3.5.2 Capacidad antioxidante por método DPPH•

La capacidad antioxidante se determinó por espectrofotometría en los extractos etanólicos a través de la reacción con el radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) en etanol, según el procedimiento descrito por Brand Williams, Cuvelier & Berset, (1995) con ligeras modificaciones.

Alícuotas de diferentes volúmenes de muestra (volumen final 250 μL) se añadieron a 1 ml de una solución de DPPH• 40 mg/L en etanol (volumen final de reacción 1250 μL). Se homogenizó, y la absorbancia fue medida a 515 nm después de 45 minutos empleando un espectrofotómetro ThermoScientific Modelo Evolution 60S. Se realizó la cinética de consumo de (DPPH•) con diferentes cantidades de extracto para determinar el tiempo de reacción y se encontró que a este tiempo (45 minutos) la reacción alcanza un plateau o estado estacionario. El consumo de (DPPH•) fue calculado usando una curva de calibración con trolox de 50 a 200 μL en el volumen final de reacción. Los resultados se expresaron como μmol de trolox por gramo de tejido. El ensayo se realizó por triplicado.

3.3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En este estudio se utilizó un diseño experimental factorial AxB, donde se plantearon como variables independientes: dosis de radiación UV-C (kJ/m^2) y el tiempo de almacenamiento (días). Las variables dependientes fueron: fenoles totales, capacidad antioxidante total, antocianinas y de vitamina C. Los resultados se procesaron mediante un análisis de varianza y las medias fueron comparadas con la prueba de Tukey con una significancia 0.05 usando el software STATGRAPHICS Centurion XVI.

Se utilizó un análisis de regresión bivariada para determinar la correlación entre el contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante total, antocianinas y vitamina C (ácido ascórbico) a través del software SPSS versión 20.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE LA PÉRDIDA DE PESO DE LA MORA DE CASTILLA SIN ESPINAS (*Rubus glaucus*)

Durante el almacenamiento los frutos tratados y control perdieron peso. Hasta el día 3 la pérdida de peso no presentó diferencias significativas entre control y tratados, desde el día 12 los frutos control incrementaron su pérdida de peso drásticamente como se aprecia en la figura 7, mientras que los frutos tratados no presentaron diferencias significativas entre sí durante los 18 días de almacenamiento en refrigeración.

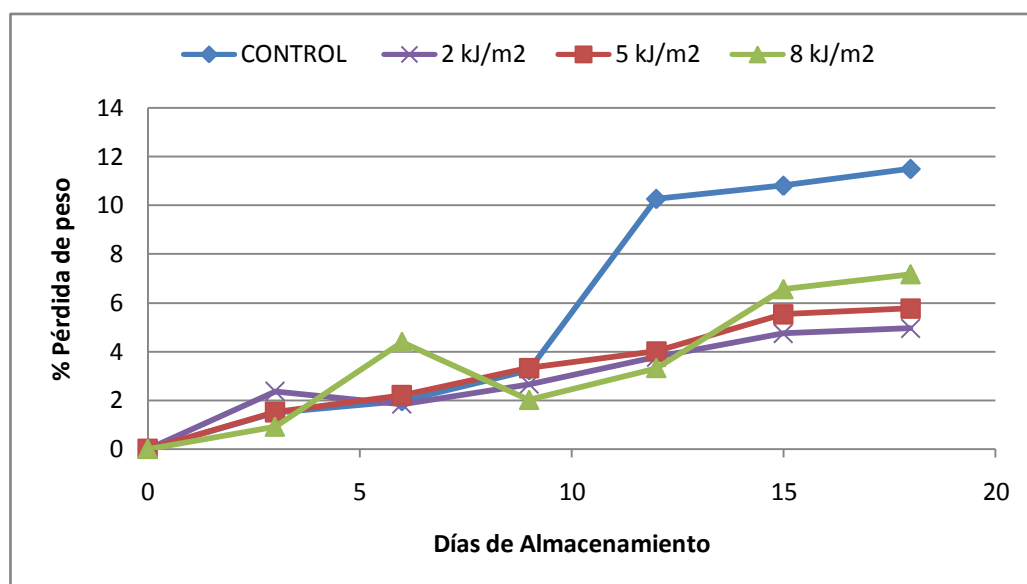


Figura 7. Pérdida de peso de mora de castilla sin espinas (*Rubus glaucus*) control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.

Los frutos control perdieron en promedio 20 g (peso por bandeja) al final del almacenamiento, lo que se traduce en una disminución del 12%, mientras que los frutos tratados con dosis de 2 kJ/m² presentaron una pérdida de peso de 7 g (por bandeja) alcanzando un 5% menos hasta el día 18. Resultados similares fueron reportados por Lemoine, Civello, Martínez & Chaves (2007), quienes demostraron que el efecto de la radiación UV-C a 4 kJ/m² permite reducir la pérdida de peso en cabezas de brócoli mínimamente procesadas sin observarse diferencias significativas entre las muestras.

Los frutos tratados con dosis de 5 y 8 kJ/m² perdieron alrededor de 9 y 12 gramos (por bandeja) respectivamente hasta el día 18. Según Kader (2007) la pérdida de peso en la fruta es un proceso fisiológico normal debido a la transpiración y es la principal causa de deterioro ya que además de producir pérdida de peso, produce pérdida de la apariencia, textura, sabor y calidad nutricional, sin embargo en el presente estudio se evidenció que el almacenamiento en refrigeración combinado con la aplicación de radiación UV-C ayuda a reducir la velocidad de pérdida de peso y retrasa los procesos de deterioro en la mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas.

4.2 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES

Inmediatamente después de aplicar la radiación UV-C los frutos tratados con dosis de 2 kJ/m² presentaron un aumento de 0.22 mg de ácido gálico/ g de tejido comparado con la muestra control, es decir un 25% más en el contenido de fenoles totales. Mientras que para la dosis de 5 kJ/m² el

contenido de fenoles totales disminuyó 10% (0.1 mg ácido gálico/g tejido) con respecto de los frutos control, como se muestra en la figura 8. No se encontraron diferencias significativas en el contenido de fenoles totales entre la dosis de 8 kJ/m² y la muestra control.

En un estudio de aplicación de UV-C en arándanos realizado por Wang CY., Chen CT., Wang SY. (2009) se obtuvieron resultados similares ya que con la aplicación de dosis bajas de radiación (0.43; 2.15 kJ/m²) el efecto inmediato fue un incremento de 1 mg de ácido gálico/ g de tejido y a medida que la dosis se aumentó (6.45 kJ/m²) se observó una disminución de 0.28 g de ácido gálico/ g de tejido.

Durante el almacenamiento se observó que el contenido de fenoles totales aumentó para todos los frutos tanto control como tratados; sin embargo el contenido de fenoles totales de los frutos tratados fue mayor con respecto del control.

Los frutos tratados con dosis de 2 kJ/m² presentaron un aumento de 0.42 mg de ácido gálico/ g de tejido (38%) respecto de los frutos control en el día 9; las dosis de 5 y 8 kJ/m² también aumentaron su contenido de fenoles totales, pero lo hicieron en menor proporción que la dosis antes mencionada incrementando 0.16 mg de ácido gálico/ g tejido (14%) en el mismo día.

Resultados similares se reportaron en estudios de fresa (Erkan, Wang & Wang 2007) donde la fruta que recibió una dosis de radiación UV-C de 2.5 kJ/m² presentó el mayor incremento en el contenido de fenoles (0.54 mg

de ácido gálico/ g de tejido) respecto de dosis de 0.5 y 10 kJ/m² de radiación que aumentaron su contenido en 0.15 y 0.08 respectivamente.

En el día 12, se observó una disminución de 0.05 mg de ácido gálico/ g tejido en los frutos tratados con 2 kJ/m², lo que representa un 4% en el contenido de fenoles totales. Mientras que para las dosis 5 y 8 kJ/m² se presentó un incremento del 0.17 mg ácido gálico/g tejido (13%) y 0.15 mg ácido gálico/g tejido (11%) respectivamente comparados con la muestra control.

En los días 15 y 18 los frutos tratados con 5 y 8 kJ/m² mantuvieron estable el contenido de fenoles totales, a diferencia de los frutos tratados con 2 kJ/m² que presentaron un incremento del 11% (0.06 mg ácido gálico/g tejido) respecto del control en el día 18.

En un estudio realizado en maíz rojo (Almeida, 2012) se obtuvo como resultado un incremento en los compuestos fenólicos del maíz durante 10 días de almacenamiento refrigerado, sin embargo al relacionar con el resultado de pérdida de peso, se evidenció que a mayor pérdida de peso, más concentración de compuestos fenólicos. Esto se atribuyó a la síntesis y concentración de estos compuestos cuando se tiene tejido con menor humedad.

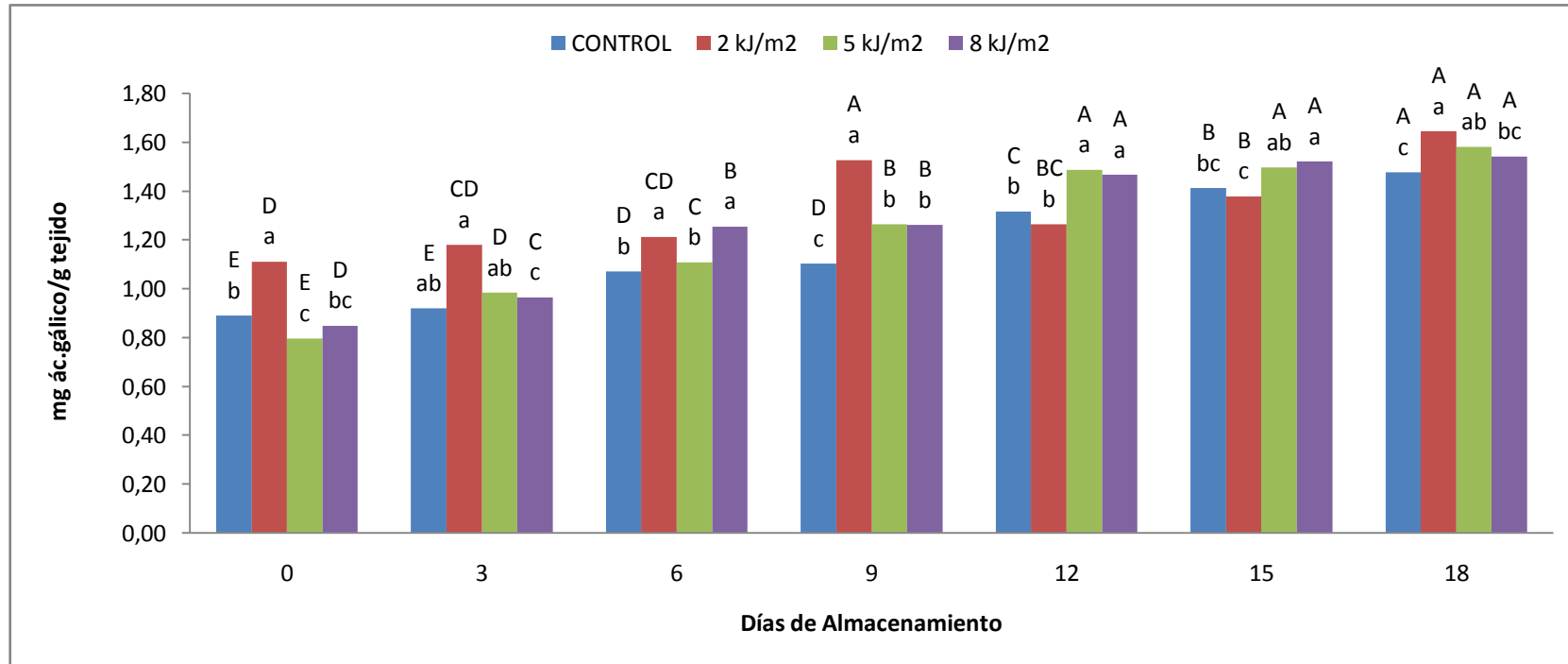


Figura 8. Contenido de Fenoles Totales en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C. Los resultados se expresan como mg de ácido gálico/g tejido.

Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo día de almacenamiento con una p<0,05.

Tukey HSD = 0,153

Letras mayúsculas distintas diferencia significativa entre los días de almacenamiento para un mismo tratamiento.

El aumento en el contenido de fenoles totales puede asociarse a una mayor actividad enzimática en la biosíntesis de compuestos fenólicos como se ha observado en estudios de pimiento (Vicente, Pineda, Lemoine, Civello, Martínez & Chaves, 2005), brócoli (Costa *et al.*, 2006) y mango fresco y cortado (González-Aguilar *et al.*, 2007), donde se tuvo como resultado un incremento en el contenido de fenoles totales al aplicar radiación UV-C. Además en fresas irradiadas con UV-C (Nigro, Ippolito, Lima, 2000) y se observó un incremento en la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa comparada con el control. Esta enzima juega un papel clave en la síntesis de fenoles; lo cual podría ser la causa del incremento de estos compuestos (González-Aguilar *et al.*, 2007).

4.3 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS

Inmediatamente después del tratamiento con radiación UV-C, el contenido de antocianinas se incrementó en todos los tratamientos; en las dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² el aumento fue de 0.10, 0.12 y 0.13 mg cianidina/ kg de tejido, lo que corresponde a 23, 26 y 30% respectivamente, comparado con la muestra control como se observa en la figura 9. En estudios similares realizados en dos variedades de arándanos se evidenció un incremento del 10% (aprox. 0.31 mg cianidina/ kg de tejido) en el contenido de antocianinas respecto del control al aplicar dosis de radiación UV-C de 2 y 4 kJ/m² (Perkins- Veazie, Collins & Howard 2008).

Hasta el día 9 los frutos presentaron una tendencia de aumento en el contenido de antocianinas, siendo mayor para los frutos tratados con dosis de 2 kJ/m² cuyo incremento fue de 0.30 mg cianidina/ kg de tejido (38%)

respecto del control. Las muestras tratadas con 5 y 8 kJ/m² también aumentaron hacia el día 9 con un 0.20 y 0.18 mg cianidina/ kg de tejido, es decir, 27 y 23% respectivamente. Según Beltrán (2010) el tratamiento UV-C en fresas incrementó el contenido de antocianinas en un 20% (0.16 mg cianidina/ kg de tejido) a lo largo de 10 días de almacenamiento en refrigeración.

A partir del día 12 el contenido de antocianinas de las dosis de 2 y 5 kJ/m² se mantuvo prácticamente estable hasta el final del almacenamiento. La dosis de 8 kJ/m² presentó una ligera disminución del 7% (0.07 mg cianidina/ kg de tejido) respecto del control, esta disminución se puede atribuir al deterioro y envejecimiento de la fruta hacia estos días ya que la mora es una fruta altamente perecible una vez cosechada (Castañeda & Ovando 2009).

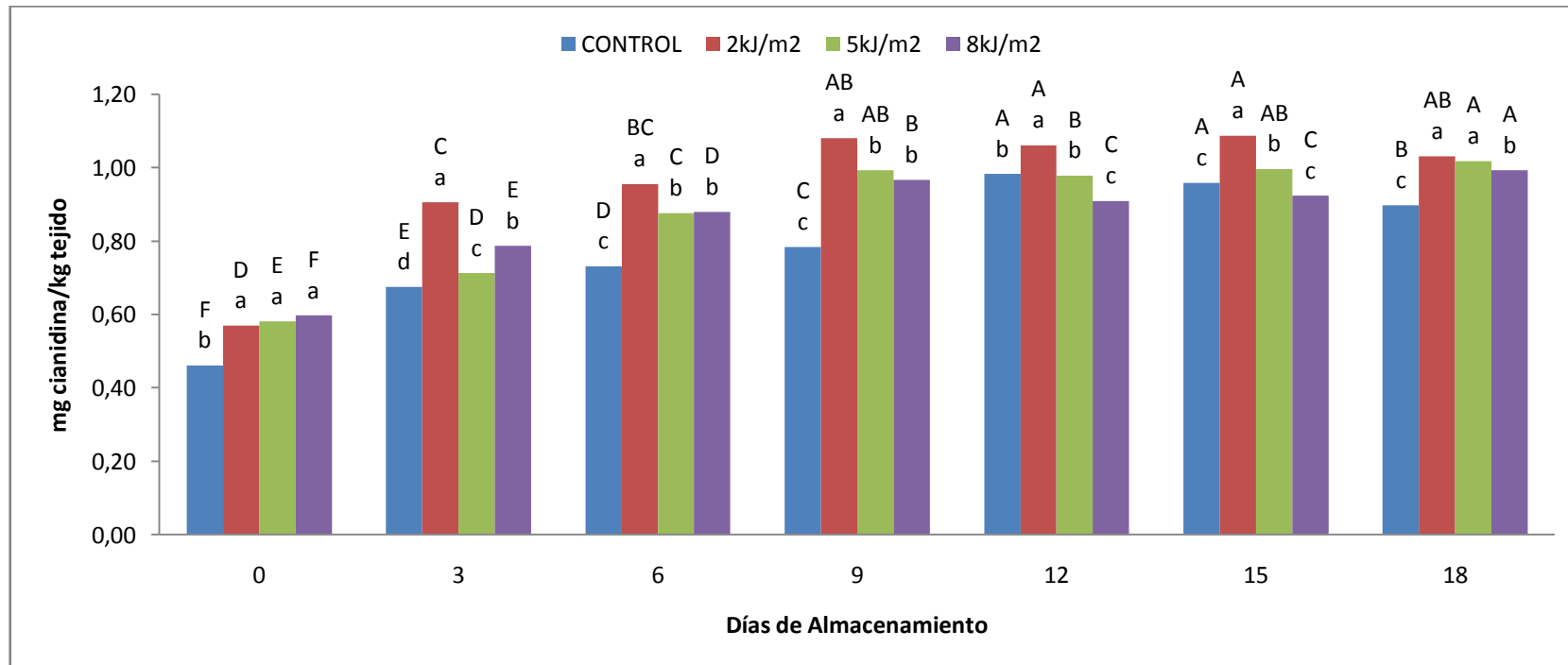


Figura 9. Contenido de antocianinas en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C. Los resultados se expresan como mg de cianidina/kg de tejido.

Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo día de almacenamiento con una $p < 0,05$.

Tukey HSD = 0,0433

Letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre los días de almacenamiento para un mismo tratamiento.

4.4 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE EL CONTENIDO DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)

Inmediatamente después de la aplicación de radiación UV-C, las muestras no presentaron diferencia significativa en el contenido de ácido ascórbico como se indica en la figura 10.

Desde el día 3 hasta el día 9 el contenido de vitamina C de los frutos tratados y control no presentó variaciones significativas. A partir del día 12 los frutos tratados con 5 y 8 kJ/m² presentaron una disminución en su contenido de vitamina C de 0.08 y 0.09 mg ácido ascórbico/ g tejido lo que se traduce en un 31 y 35% menos respectivamente hasta el día 18. Contrariamente a los resultados obtenidos en estudios con brócoli (Lemoine *et al.*, 2007), donde se demostró que el contenido de ácido ascórbico de las muestras tratadas con 8 kJ/m², fue mayor que las muestras control durante 21 días de almacenamiento.

Al final del almacenamiento, la dosis de 2 kJ/m² presentó el menor porcentaje de decrecimiento respecto del día cero con una pérdida total de 0.23 mg ácido ascórbico/ g tejido (30%) en el contenido de vitamina C. Resultados similares fueron reportados en un estudio en melón irradiado con UV-C (Kalt, *et al.*, 2005) donde se redujo en un 20% (0.31 mg ácido ascórbico/ g tejido) el contenido de vitamina C en el fruto tratado a lo largo de 7 días de almacenamiento.

La mayor pérdida de vitamina C podría atribuirse probablemente a la dosis de radiación UV-C, ya que al aplicar dosis superiores a 5 y 8 kJ/m² a una distancia de 30 cm, se podría inducir la producción de radicales libres y en

consecuencia presentarse reacciones de oxidación. Estudios realizados en arándanos (Wang, 2008) presentaron un decrecimiento en el contenido de ácido ascórbico al aplicar dosis superiores a 4.3 kJ/m^2 de radiación UV-C. Thayer & Rajswoki (1999) reportaron que la radiación causa la oxidación de una porción del ácido ascórbico total hacia su forma reducida y que ambas formas de la vitamina C son biológicamente activas, sugiriendo un impacto nutricional mínimo.

En un estudio realizado en fresas (Beltrán, Ramos 2010) se evidenció una disminución de la vitamina C entre 2.5 a 12%; (0.05 a 0.15 mg ácido ascórbico/g tejido); esta disminución fue atribuida a su intervención directa en reacciones metabólicas y enzimáticas dentro de la fruta.

Según Toapanta (2012) la disminución de vitamina C observada en uvilla tratada con una dosis de 8 kJ/m^2 a una distancia de 30 cm, puede atribuirse como consecuencia de diferentes procesos como la continuación de biosíntesis de vitamina C por períodos más prolongados que en frutos sin radiación UV-C o una menor oxidación por vía no enzimática o enzimática.

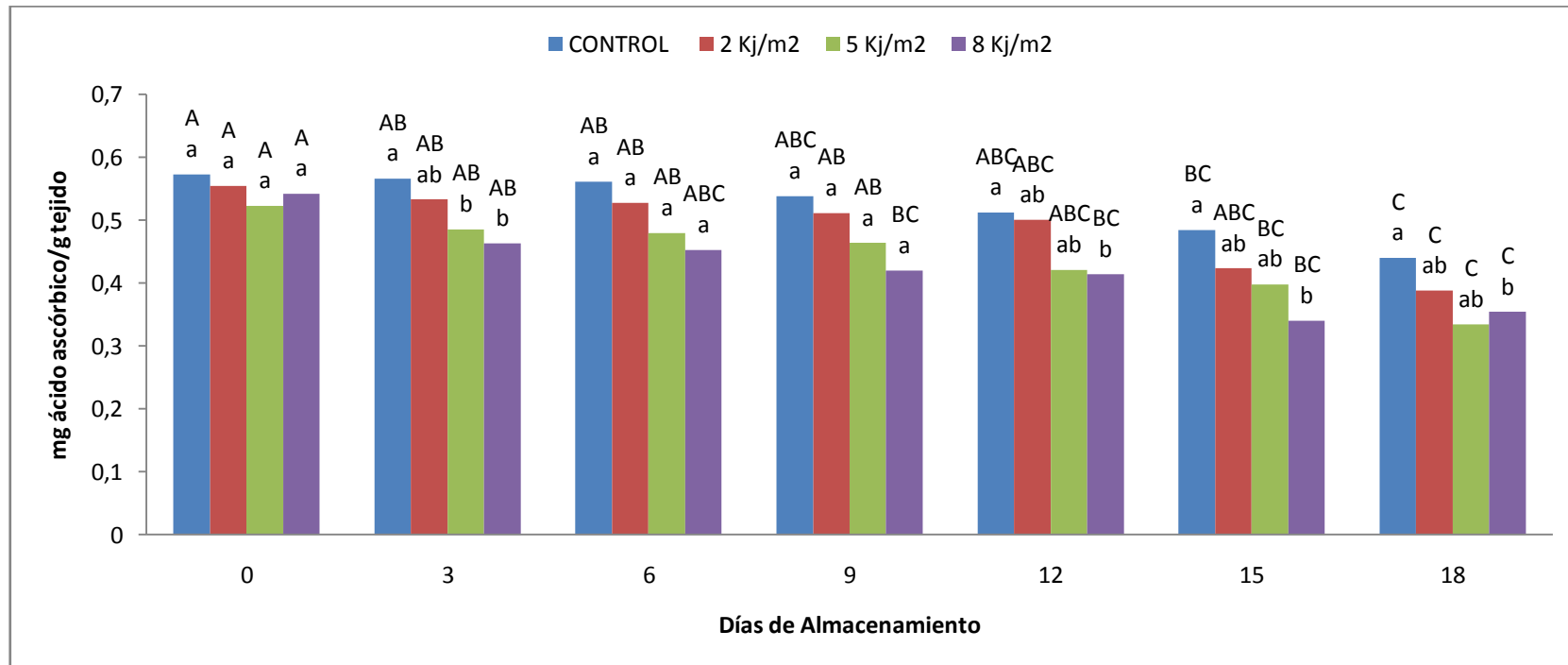


Figura 10. Contenido de Vitamina C (ácido ascórbico) en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C. Los resultados se expresan como mg de ácido ascórbico) /g de tejido.

Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo día de almacenamiento con una p<0,05.
Tukey HSD= 0,135

Letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre los días de almacenamiento para un mismo tratamiento.

4.5 EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

4.5.1 Capacidad antioxidante método ABTS•⁺

Inmediatamente después de la aplicación del tratamiento con radiación UV-C, la capacidad antioxidante total de los frutos tratados con 2 kJ/m² presentó un incremento de 1.52 µmol eq. Trolox/ g tejido (19%) respecto de los frutos control; los frutos tratados con 5 y 8 kJ/m² presentaron un incremento del 0.8 y 2.1 µmol eq. Trolox/ g tejido (10% y 26%) respectivamente como se evidencia en la figura 11. En estudios similares realizados en brócoli (Costa *et. al.*, 2006) y arándanos (Perkins Veazie *et al.*, 2008) el tratamiento con luz UV-C incrementó la capacidad antioxidante de las muestras inmediatamente después de su aplicación.

Hasta el día 3, la capacidad antioxidante de los frutos tratados y control no presentó variaciones, en el día 6 la capacidad antioxidante de los frutos tratados con dosis de 2 y 8 kJ/m² se incrementó en 0.57 y 0.80 µmol eq. Trolox/ g tejido (21 y 27%) respectivamente. En los días 9 y 12 la capacidad antioxidante de los frutos tratados con dosis de 2 kJ/m² se mantuvo constante. En el día 12, los frutos tratados con dosis de 8 y 5 kJ/m² incrementaron su capacidad antioxidante en 0.36 y 0.53 µmol eq. Trolox/ g tejido, incremento correspondiente al 18 y 21% respectivamente comparados con la muestra control.

En los días 15 y 18 los frutos tratados con 2 kJ/m² incrementaron su capacidad antioxidante en 2.18 µmol eq. Trolox/ g tejido (22%) respecto del

día 9. Al final del almacenamiento se observó un notable incremento en la capacidad antioxidante de los frutos control y tratados. Los frutos control aumentaron su capacidad antioxidante a lo largo del almacenamiento en 7.59 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g tejido}$; mientras que los frutos tratados con 2, 5 y 8 kJ/m^2 aumentaron su capacidad antioxidante respecto del control en 8.18, 7.34 y 6.93 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g tejido}$ respectivamente. Este resultado evidencia que la dosis de 2 kJ/m^2 favoreció el incremento de la capacidad antioxidante de la fruta en un mayor porcentaje que los dos tratamientos aplicados. Según Wang (2009) algunos frutos presentan comportamiento dependiente de la dosis de radiación UV-C que se les aplique, presentando incrementos en la capacidad antioxidante total a medida que las dosis de radiación es menos intensa (inferior a 4.33 kJ/m^2).

En un estudio realizado por Carrasco (2008) se reportó que dosis superiores a 7 kJ/m^2 radiación UV-C en manzanas disminuyeron la capacidad antioxidante total de la fruta, en pimiento verde troceado (Rodoni *et al.*, 2012) demostraron que la capacidad antioxidante no sufrió mayor diferencia respecto de la muestras control durante 7 días de almacenamiento a 7°C.

En un estudio de fisiología poscosecha realizado en pejibaye (Serrano, Umaña & Sáenz 2011), se determinó que a medida que la fruta perdió peso, el nivel de compuestos antioxidantes de pejibaye disminuyó. Esto se atribuyó al envejecimiento del tejido a lo largo del almacenamiento. Contrariamente al presente estudio donde a medida que la fruta perdió peso, la capacidad antioxidante aumentó; esto se puede atribuir a una mayor concentración de compuestos antioxidantes cuando la mora pierde agua.

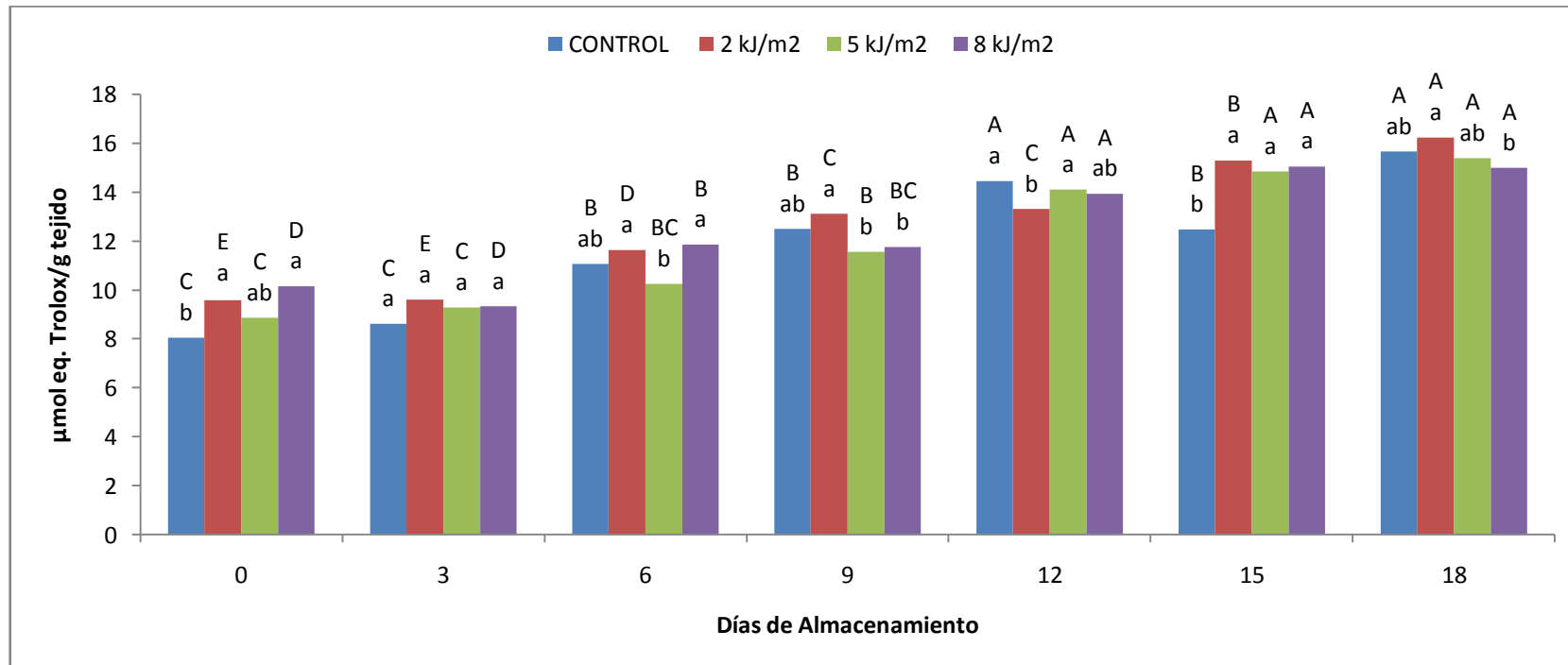


Figura 11. Capacidad Antioxidante Total ABTS⁺⁺ en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C. Los resultados se expresan como μmol eq. Trolox/g tejido.

Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo día de almacenamiento con una p<0,05.

Tukey HSD= 1,681

Letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre los días de almacenamiento para un mismo tratamiento

4.5.2 Capacidad antioxidante método DPPH•

Después del tratamiento con radiación UV-C, las muestras tratadas con 2 kJ/m^2 presentaron un incremento de $1.63 \text{ } \mu\text{mol eq. Trolox/ g tejido}$ (15%) respecto de las muestras control; mientras que los frutos tratados con 5 y 8 kJ/m^2 no presentaron diferencias significativas respecto de la muestra control como se aprecia en la figura 12.

Durante el almacenamiento, se evidenció un aumento en la capacidad antioxidante tanto de los frutos control como de los tratados, siendo mayor en los frutos tratados con dosis de 2 kJ/m^2 . En el día 15 los frutos tratados con 2 kJ/m^2 incrementaron en $3.7 \text{ } \mu\text{mol eq. Trolox/ g tejido}$ (26%) su capacidad antioxidante respecto del control. La capacidad antioxidante de las dosis de 5 y 8 kJ/m^2 no varió significativamente desde el día 12 al 18. En estudios relacionados con la capacidad antioxidante de frutillas que han sido irradiadas con luz UV-C demostraron que con el tratamiento de radiación UV-C en dosis inferiores a 4 kJ/m^2 se puede inducir un aumento en la capacidad antioxidante total de la fruta a lo largo del almacenamiento (Erkan *et al.*, 2008).

Al final del almacenamiento las muestras control aumentaron su capacidad antioxidante en $4.5 \text{ } \mu\text{mol eq. Trolox/ g tejido}$ (29%) respecto del día 0, sin embargo los frutos tratados con 2, 5 y 8 kJ/m^2 incrementaron su capacidad antioxidante en 6.14, 4.84 y $3.73 \text{ } \mu\text{mol eq. Trolox/ g tejido}$ (36, 31 y 25%) respectivamente. Al contrario de lo reportado en estudios similares realizados por Wang Chen & Wang (2009) donde la capacidad antioxidante de arándanos presentó una disminución del 20% ($6.9 \text{ } \mu\text{mol eq. Trolox/ g tejido}$) al aplicar dosis de radiación UV-C superiores a 4.3 kJ/m^2 .

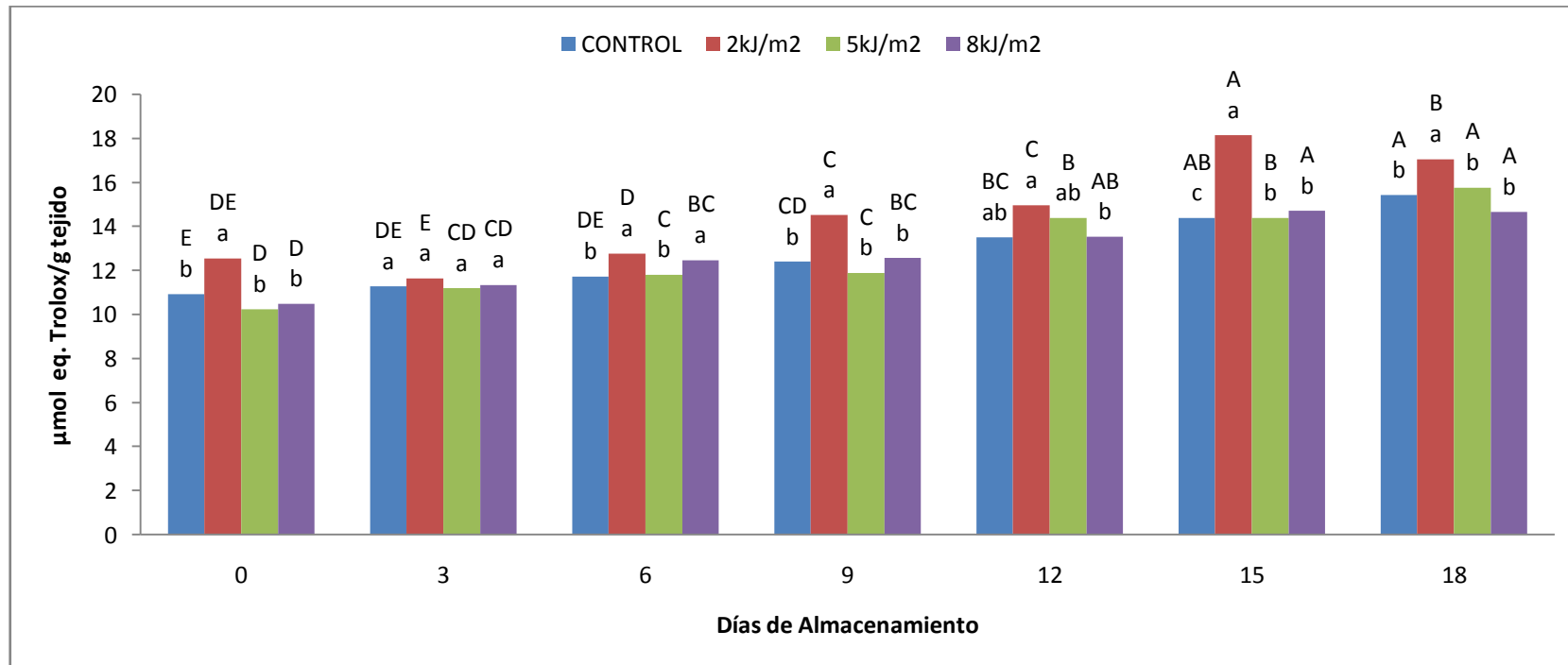


Figura 12. Capacidad antioxidante total DPPH• en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas control y tratadas con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C. Los resultados se expresan como μmol eq. Trolox/g tejido.

Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre tratamientos para un mismo día de almacenamiento con una p<0,05.

Tukey HSD = 1,539

Letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre los días de almacenamiento para un mismo tratamiento.

4.5.3 CORRELACIÓN ENTRE EL MÉTODO DPPH• Y ABTS^{•+}

Para el presente estudio se determinó la capacidad antioxidante a través de los métodos del DPPH• y ABTS^{•+}; para determinar la correlación que existe entre métodos se graficaron las medias de los resultados obtenidos para cada tratamiento como se muestra en la figura 13.

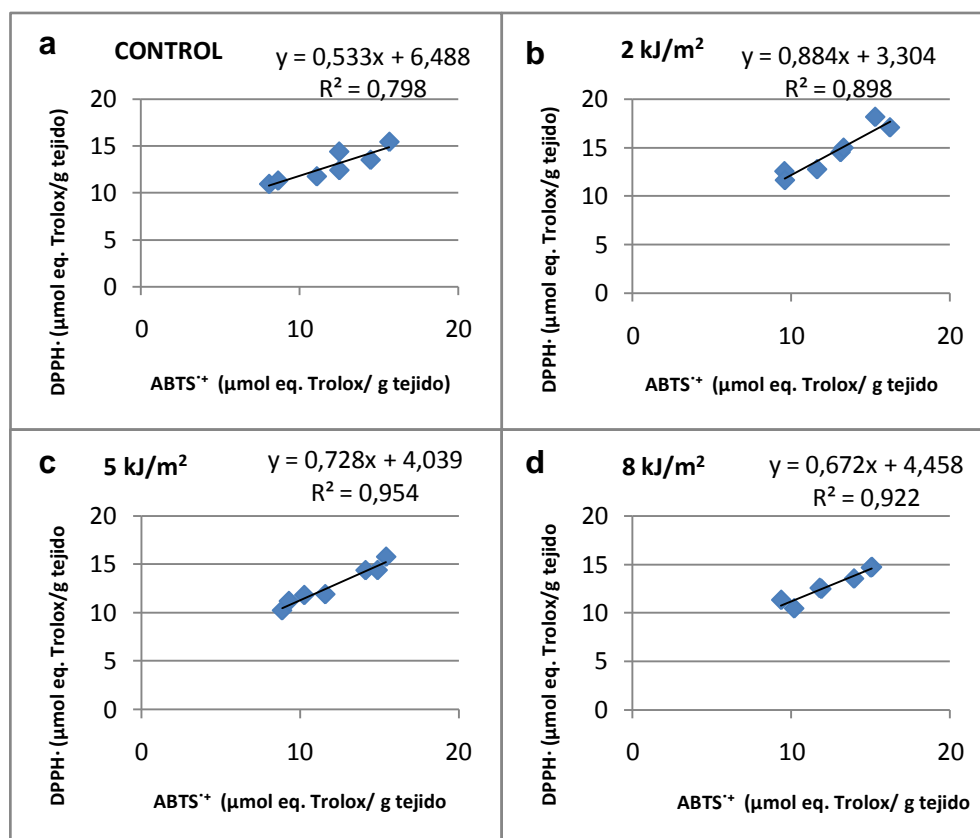


Figura 13. Correlaciones entre capacidad antioxidante con los métodos ABTS^{•+} y DPPH• en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas control (a) y tratadas con dosis de 2 (b), 5 (c) y 8 (d) kJ/m² de radiación UV-C almacenadas a 4°C.

Se evidenciaron fuertes correlaciones entre los dos métodos aplicados para la determinación de la capacidad antioxidante total de la mora de castilla sin espinas (*Rubus glaucus*), en los frutos control y tratados con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² se obtuvo una correlación positiva de 0.798, 0.898, 0.954 y 0.922 respectivamente como se aprecia en la figura 13a.

Según Vasco, Ruales & Kamal-Eldin (2008) cada método proporciona un estimado de la capacidad antioxidante que es subjetiva a las condiciones y reactivos usados en el análisis. Por esta razón el uso de diferentes métodos ayuda a identificar variaciones en la respuesta de los compuestos extraídos de la fruta.

Según Rojas-Barquera, Restrepo-Sánchez & Nárvaez-Cuenca (2005) las diferencias que se presentan en los resultados al emplear dos métodos de cuantificación se pueden atribuir a las particularidades que presenta cada uno de ellos tanto en la preparación de los radicales, su naturaleza y campo de acción así como al tiempo de reacción con la muestra.

Estudios similares realizados en guayabas (Rojas-Barquera *et al.*, 2005) presentaron diferencias puntuales en el resultado entre varios métodos de actividad antioxidante aplicados entre los que se encontraron DPPH• y ABTS•+ pero no se evidenció diferencias significativas en la tendencia global de la capacidad antioxidante total con ningún método.

En la tabla 5 se presentan los resultados del análisis de correlación bivariado entre fenoles totales, antocianinas, vitamina C y capacidad antioxidante.

Tabla 5. Coeficientes de correlación (r) entre fenoles totales, antocianinas y ácido ascórbico con capacidad antioxidante DPPH• y ABTS•+ de mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas

	FENOLES	ABTS•+	DPPH•	ANTOCIANINAS	VITAMINA C
FENOLES	-	0.91	0.86	0.83	-0.76
ABTS•+	-	-	0.89	0.78	-0.75
DPPH•	-		-	0.76	-0.66
ANTOCIANINAS	-	-	-	-	-0.63

Se determinó una fuerte correlación entre fenoles totales y capacidad antioxidante tanto en DPPH• y ABTS•+ con valores del coeficiente de correlación de 0.86 y 0.91 respectivamente. Resultados similares se reportaron en arándanos irradiados con UV-C (Perkins Veazie *et al.*, 2008) al obtener una fuerte correlación entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante ($r=0.7-0.9$).

En el contenido de antocianinas y capacidad antioxidante se encontró una alta correlación al tener valores de r entre 0.7 a 0.87 tanto en controles como en fruta tratada. Según Rodarte Castrejón (2008) el contenido alto de antocianinas se relaciona con una alta capacidad antioxidante.

En un estudio similar en mora de castilla (Rodríguez, López & García, 2007) reportaron una alta correlación entre el contenido de antocianinas y capacidad antioxidante con valores de r (0.7). Al igual que en arándano

irradiado con UV-C (Perkins Veazie *et al.*, 2008) donde el coeficiente de correlación entre antocianinas y capacidad antioxidante fue de 0.80.

En cuanto a la correlación entre el contenido de ácido ascórbico y la capacidad antioxidante, éstos presentaron una fuerte correlación negativa ya que el contenido de vitamina C (ácido ascórbico) disminuyó a lo largo del tiempo de almacenamiento de la fruta mientras que la capacidad antioxidante se incrementó. Según Kalt *et al.*, (1999) en un estudio realizado en fresa, frambuesa y arándanos reportó una fuerte correlación negativa entre el contenido de vitamina C y la capacidad antioxidante de las frutas; al igual que el presente estudio.

Al tomar en cuenta todas las variables analizadas en el presente estudio se concluye que la aplicación de dosis de 2 kJ/m^2 (5 minutos y 30 cm de distancia) incrementa en mayor proporción los fenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante y disminuye la pérdida de vitamina C en la mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas durante el almacenamiento en refrigeración.

La respuesta de la mora de castilla ante dosis inferiores a 5 kJ/m^2 de radiación UV-C probablemente está relacionada a sus características particulares tanto físicas como químicas permitiendo que este tratamiento potencialice sus propiedades y le otorgue un valor agregado para los consumidores.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- La velocidad de pérdida de peso de la fruta y su proceso de deterioro disminuyó en los frutos tratados con las tres dosis de radiación UV-C; a su vez esta pérdida de agua dio lugar a una mayor concentración de compuestos antioxidantes a lo largo del almacenamiento tanto en frutos control como tratados
- La aplicación de radiación UV-C tuvo un efecto positivo en los frutos reduciendo la pérdida de peso, que inicialmente fue de 20 gramos en los frutos control a un rango de 6 a 11 gramos en los frutos tratados con dosis de 2, 5 y 8 kJ/m² durante el almacenamiento en refrigeración.
- Durante el tiempo de almacenamiento existió un incremento en el contenido fenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante tanto para frutos control como tratados. La aplicación de una dosis de radiación UV-C de 2 kJ/m² permitió un mayor incremento en estos compuestos.
- El contenido de ácido ascórbico presentó una disminución progresiva durante el almacenamiento para los frutos control y tratados; siendo

mayor en la dosis de radiación UV-C de 8 kJ/m² (pérdida global de 0.23 mg ácido ascórbico/ g tejido), este comportamiento probablemente se debió a la sensibilidad de la vitamina C ante el tratamiento UV-C que se prolongó durante 15 minutos.

- El tratamiento con radiación UV-C (2 kJ/m²) logró maximizar el contenido de antocianinas durante 18 días incrementando su contenido en 0.6 mg cianidina/ g tejido respecto de los frutos control. Esto demuestra el efecto benéfico de la aplicación de dosis cercanas a 2 kJ/m² de radiación UV-C para el incremento de los compuestos antioxidantes en mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas.

- Al cuantificar la capacidad antioxidante total por dos métodos diferentes se encontraron altas correlaciones entre ellos tanto en los frutos tratados como en los frutos control; esto indica que, pese a las características de cada método tanto en preparación de radicales y tiempo de reacción, ambos métodos están estrechamente relacionados.

- Se encontraron fuertes correlaciones entre los compuestos fenólicos, antocianinas y vitamina C con la capacidad antioxidante de la mora. Indicando que el mayor aporte para la capacidad antioxidante viene de compuestos fenólicos, seguidos por antocianinas y en menor proporción el ácido ascórbico.

- El tiempo de aplicación de radiación UV-C en la fruta es un factor determinante en el efecto de este tratamiento; en el presente estudio

se determinó que la dosis óptima de radiación fue de 2 kJ/m² (5 minutos y 30 cm de distancia) logrando potencializar la capacidad antioxidante de la fruta.

5.2 RECOMENDACIONES

- Estudiar el efecto de las reacciones enzimáticas de la mora de castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas para corroborar el efecto de la radiación UV-C sobre estos compuestos que van ligados estrechamente a los antioxidantes analizados en el presente estudio.
- Investigar aplicaciones de radiación UV-C a productos elaborados a base de mora tales como pulpas, jugos, mermeladas, néctares para determinar si el efecto de la radiación UV-C obtenido en el presente estudio se replica o no en éstos subproductos de mora.
- Diseñar un equipo de radiación UV-C que minimice la manipulación de la mora durante su aplicación y que pueda irradiar la fruta uniformemente sin necesidad de una rotación manual que podría causar daño mecánico ya que la mora es una fruta muy delicada y perecible.
- Evaluar el efecto que tiene el consumo de frutas sometidas a este tratamiento poscosecha con luz UV-C en la salud de las personas, para determinar su influencia más allá de lo organoléptico y fisicoquímico de la fruta.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Allende, A., McEvoy, J., Luo, Y., Artés, F., Wang, C. (2006). Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed "Red Oak Leaf" lettuce. *Food Microbiology*. 23: 241–249.
- Almeida, J. (2012). Caracterización y evaluación de la capacidad antioxidante del de maíz negro (*Zea mais L*) y su colorante. Escuela Politécnica Nacional.
- Alvarado, A. (2002). Mora ("*Rubus*"). Consultado 4 de abril 2012. Consejo nacional de producción de mercadeo y agroindustria. Costa Rica. http://cnp.go.cr/php_mysgl/admin/KTML/uploads/files/boletines/mora_junio_2002.pdf
- Ardilla, N., Luis R. (2001). Producción de Mora de Castilla. Consultado 5 de Julio del 2012, de <http://www.agriculturasensitiva.com/mora.htm>
- Baka, M., Mecier, J., Corcuf, F., Castaigne, F., & Arual, J. (1999). Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. *Food Science Journal* 64, 1068-1072.
- Bejarano, W. (2002) Manual de la mora de castilla (*Rubus glaucus benth*). Proexan. Quito

- Beltrán A., Ramos M., Alvares M. (2010). Estudio de vida útil de fresas (*Fragaria, vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C). Universidad Técnica de Ambato.
- Brand Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28, 25-30.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317.
- Cárdenas, R., & Pedraza, C. (2006), UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits & vegetables*, 71-102.
- Carrasco, R., René, C. (2008) Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista. Sociedad. Química. Perú*. 108-124.
- Cerdas, M., Gamboa, M., y Castro, J. (2002). Caracterización postcosecha de tres variedades de mora. *Convenio Postcosecha CNP-UCR*. Costa Rica.
- Cooke, D., Steward, W. P., Gescher, A. J., Marczyklo, T. (2005) Anthocyanins from fruits and vegetables – Does bright colour signal cancer chemopreventive activity. *Eur. J. Cancer*. 41, 1931–1940.

- Costa, L., Vicente, A., Civello, P., Chaves, A., & Martínez, G. (2006). UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 204-210.
- Deighton, N., Brennan, R., Finn, C., & Davies, H. (2000). Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J. Science Food Agriculture*, 80: 1307–1313.
- Einbond, R.G., Reynertson, K.A., Luo XiaoDong., Basile, MJ., Kennelly, EJ. (2004). Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*, 84,23-28
- Erkan, M., Wang, S.Y. & Wang, C.Y. (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 48, (2), 163-171
- Farinango, M. (2010). Estudio de la fisiología poscosecha de la mora de castilla (*Rubus glaucus* benth) y de la mora variedad brazos (*Rubus* sp.). Escuela Politécnica Nacional.
- Fennema, O. (2000) *Química de los alimentos*. Editorial Acribia. España.
- Garrido Chamorro, R.P. (2004). Vitamina C y Antioxidantes. Consultado el 29 de octubre del 2011 de web personal de doctor Garrido. <http://galeon.com/medicinadeportiva1/01nutri.htm>
- Garzón, G. (2008). Anthocyanins as Natural Colorants And Bioactive Compounds: A Review. *Acta Biol.Colomb.* 13:(3):27-36

- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, MJ. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1370-1373.
- González-Aguilar, G., Zavaleta-Gatica, R., & Tiznado-Hernández, M. (2007). Improving postharvest quality of mango "*Haden*" by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 45(1), 108-116.
- González Aguilar, G.A., Villegas-Ochoa, M.A., Martínez Téllez, M.A., Gardea, A.A. & Ayala-Zavala, J.F. (2007). Improving Antioxidant Capacity of Fresh-Cut Mangoes Treated with UV-C. *Journal Food Science: Sensory Nutritive Qualities of food*, 72, (3), 197-202.
- Guerrero, M. (2010). Iniap de Ecuador promueve nueva variedad de mora sin espinas. Consultado el 30 de agosto del 2012. El nuevo empresario. http://www.elnuevoempresario.com/noticias_19658_iniap-de-ecuador-promueve-nueva-variedad-de-mora-sin-espinas-.php
- Henríquez, A. (2012) Cambios en la capacidad antioxidante de carambola (*Averrhoa carambola L.*) mínimamente procesada tratada con radiación UV-C. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- INEN (2010). Norma Técnica Ecuatoriana, Frutas frescas. Mora. Instituto Ecuatoriano de Normalización. 2 427:2010.
- Jagadeesh, S., Charles, M., Gariepy, Y., Goyette, B., Raghavan, G. & Vigneault, C. (2009). Influence of Postharvest UV-C Hormesis on the Bioactive Components of Tomato during Post-treatment Handling. *Food and Bioprocess Technology*, 24, (1), 190-202

- Kader, A. (2007) Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas. Centro de Información e Investigación en Tecnología Poscosecha. California.
- Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior RL. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 47, 4638-44
- Kalt, W.; Lawand, C.; Ryan, D.; McDonald, J.; Donner, H.; Fomey, C. (2003). Oxygen Radical Absorbing Capacity, Anthocianin and Phenolic content of highbrush Blueberries (*Vaccinium corimboosum L.*) during rippening and storage. *Journal American Society Horticultural Science*, 128 (6): 917-923.
- Kuskoski, E.M., Vega, J.M., Rios, J.J., Fett, R., Troncoso, A.M., Agsutin, G. (2005) Characterization of anthocyanins from fruits of baguacu (*Eugenia Umbelliflora Berg*) *Journal Agriculture Food Chemistry*, 51, 5450–5454
- Lemoine, M. L., Civello, P. M., Martínez, G. A. and Chaves, A. R. (2007), Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea var. Italica*). *Journal Science Food Agriculture*, 87: 1132–1139.
- León, J. (2007) El cultivo de mora. Curso de tecnología de producción de tomate de árbol, uvilla, tuna, pitahaya, mora, frutilla y frambuesa para exportación. Fundación Aliñambi. INIAP. Quito
- Leoni, C., & Mondino, P. (2003). Enfermedades de poscosecha en frutales de hoja caduca, uva de mesa y citrus. Seminario/Taller Actualización técnica en fisiología y manejo poscosecha de frutas y hortalizas.

- Lima, L. (2010). Estrés oxidativo y antioxidantes: actualidad sobre antioxidantes en alimentos. Consultado el 5 de marzo del 2012. Centro de Medicina http://sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres_oxidativo_y_antioxidante
- Maccarrone, M., D'andrea, G., Salucci, M.L., Avigliano, L. & Finazzi Agro, A. (1993) Temperature, pH and UV irradiation effects on ascorbate oxidase. *Phytochemistry*, 32, (4), 795-798.
- Maharaj, R., Arul, J. & Nadeau, P. (1999). Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum cv. Capello*) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 15, 13–23.
- Martínez, A. (2007) Manual del cultivo de la mora de castilla (*Rubus glaucus benth*). Primera edición. Ambato, Ecuador. pp 7-30.
- Martínez Valverde, I., Perigao, M.J. & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *ALAN*, 50, (1), 5-18.
- Mertz, C., Gancel, A.L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., Pérez, A.M., Ruales, J., Brat, P. (2009). Phenolic compounds, catotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15, (3), 145-188
- Naveda, G. (2010). Establecimiento de un proceso de obtención de extracto de ruda (*Ruta graveolens*) con alto contenido de polifenoles. Tesis Escuela Politécnica Nacional.

- Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G. (2000). Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. *J. Plant Pathol.* Consultado el 20 de abril 2012. <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/610/61030403.pdf>
- Perkins-Veazie, P., Collins, J., & Howard, L. (2008). Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biology and Technology*, 47, (3), 280-285.
- Pokorny, J., Nedyalka, Y., Gordon, M. (2004) Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones Prácticas. Acribia. España.
- Re R., Pellegrini N.; Proteggente A. Pannala A. Yang M.; Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 26, 1231-1237.
- Rivera-Pastrana, D., Gardea-Béjar, A., Martínez-Téllez, M., Rivera-Domínguez, M., & González-Aguilar. (2007). Efectos Bioquímicos Poscosecha de la Irradiación UV-C en frutas y hortalizas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30, (4), 361-372.
- Rodríguez, L., López L., García, M. (2007). Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus b.*), maracuyá (*Passiflora edulis s.*), guayaba (*Psidium guajava l.*) y papayuela (*Carica cundinamarcensis J.*) Facultad de Ciencias Naturales, Ingeniería de Alimentos. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Cra. 4 # 22- 61.

- Rojas-Barquera, D., Restrepo-Sánchez, L., Nárvaez-Cuenca, E. (2005). Evaluación del contenido de vitamina C, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. Facultad de ciencias y química. Universidad Nacional de Colombia.
- Rodarte- Castrejón, A., Eichholz I., Rohn, S., Kroh, L., Huyskens-Keil, S. (2008). Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening . Food Chemistry. 109 (2008) 564–572
- Rodoni, L. M., Concellón, A., Chaves, A. R. and Vicente, A. R. (2012), Use of UV-C Treatments to Maintain Quality and Extend the Shelf Life of Green Fresh-cut Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of Food Science, 77: C632–C639.
- Saltos, A. (2001). Investigación y Desarrollo de Tecnologías Aplicadas a la conservación de frutas- Mora de Castilla (*Rubus glaucus*). UTA-BYD – FUNDACYT, Ambato.
- Salvatierra, S. (2011). Influencia de la proporción de fruta en el color, composición fenólica y actividad antioxidante de vinos de mora y manzana de ecuador. Tesis de Máster en Tecnología y Calidad en las Industrias Agroalimentarias. Universidad Pública de Navarra.
- Serrano, M., Umaña, G., Sáenz, M. (2011). Fisiología poscosecha, composición química y capacidad antioxidante de frutas de pejobaye (*Bactris gasipaes kunth cv. Tuira darién*) cosechadas a tres diferentes edades. Agronomía Costarricense. ISSN: 0377-9424 / 2011.

- Singleton, V.L., & Rossi, Jr. J.A., (1995). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdenic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J.Enol.Vitic.*, 16, 144-158.
- Snowball M., & Hornsey, I.S. (1998). Purifications of water supplies using ultraviolet light. *Developments in Food Microbiology*. Science Publishers. London, 171-191.
- Toapanta, S. (2012). Cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de uvilla (*Physalis peruviana L.*) orgánica sin capuchón tratada con radiación UV-C. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Vasco, C., Ruales, J., Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*.
- Vicente, A., Pineda, C., Lemoine, L., Civello, P., Martínez, G. & Chaves, A. (2005). "UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper". *Postharvest Biology and Technology*, (35), 69.
- Wang, CY., Wang, SY., Chitsun Chen (2008). Increasing antioxidant activity and reducing decay of blueberries by essential oils. *Food chemistry*, 56, 3587–3592.
- Wang CY., Chen CT., Wang SY. (2009) Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry*, 117, (3), 426-431.

Zamora J. (2007). "Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud". Programa de Maestría en Nutrición Humana. Universidad de Costa Rica. *Rev Chil Nutr*, 34, (1).

ANEXOS

ANEXO 1.
COSECHA DE MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*)
SIN ESPINAS EN BARRIO HUACHI MAGDALENA-
AMBATO.



ANEXO 2

COEFICIENTES DE CORRELACIÓN (r) ENTRE FENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS Y ÁCIDO ASCÓRBICO CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH• Y ABTS^{•+} DE MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*) SIN ESPINAS CONTROL Y TRATADAS (2, 5 Y 8 kJ/m²)

Muestra	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE								ANTOCIANINAS				VITAMINA C Ácido Ascórbico			
	ABTS ^{•+}				DPPH•								Ácido Ascórbico			
	Control	2kJ/m ²	5kJ/m ²	8kJ/m ²	Control	2kJ/m ²	5kJ/m ²	8kJ/m ²	Control	2kJ/m ²	5kJ/m ²	8kJ/m ²	Control	2kJ/m ²	5kJ/m ²	8kJ/m ²
FENOLES	0.912	0.841	0.977	0.956	0.984	0.712	0.963	0.979	0.889	0.651	0.932	0.875	-0.918	-0.786	-0.928	-0.925
ABTS					0.894	0.948	0.977	0.96	0.866	0.733	0.852	0.715	-0.854	-0.932	-0.945	-0.869
DPPH									0.832	0.609	0.817	0.84	-0.967	-0.909	-0.976	-0.969
ANTOCIANINAS													-0.764	-0.586	-0.791	-0.878