

Efecto de atmósferas controladas en el color y vida de
anaquel de frambuesa roja (*Rubus idaeus*)”

2023



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

Efecto de atmósferas controladas
en el color y vida de anaquel de
frambuesa roja (*Rubus idaeus*)

Tesis

Que como parte de los requisitos para
obtener el Grado de

Maestro en Ciencia y Tecnología de
Alimentos

Presenta

Judith Zavala Gutiérrez

Dirigido por:

Dra. Dulce María Rivera Pastrana

Querétaro, Qro. a 18 enero 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



Efecto de atmósferas controladas en el color y vida de
anaquel de frambuesa roja (*Rubus Idaeus*)

por

Judith Zavala Gutiérrez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-300249-0323-123



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Efecto de atmósferas controladas en el color y vida de
anaquel de frambuesa roja (*Rubus idaeus*)

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta

Judith Zavala Gutiérrez

Dirigido por:

Dra. Dulce María Rivera Pastrana

Dra. Dulce María Rivera Pastrana
Presidente

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva
Secretario

Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Vocal

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales
Suplente

Dra. Dalia Vázquez Celestino
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Fecha de aprobación por el Consejo Universitario (Febrero 2023) México

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a series of loops and a horizontal line extending to the left.

Judith Zavala Gutiérrez

Resumen

México es el segundo productor de frambuesas en el mundo, para el 2020 registró un incremento en la producción nacional del 13.6%. La vida pos cosecha de la frambuesa es muy corta, y el color, es un parámetro de calidad que tiene una fuerte influencia en la decisión de compra de esta fruta. Las antocianinas son los compuestos responsables de su característico color rojo brillante. Una alternativa para alargar su vida útil es almacenar la fruta en atmósferas controladas (AC) a 1-2 °C y 90% de humedad relativa (HR). Sin embargo, se ha observado que la exposición continua a altas concentraciones de CO₂ provoca la reducción del contenido de antocianinas y afecta al desarrollo del color de la fruta durante el almacenamiento, sugiriendo un efecto inhibitor en la síntesis de antocianinas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento de AC, en particular la aplicación continua, sobre los cambios de color asociados con el contenido de antocianinas y la vida útil. Los frutos de frambuesa fueron almacenados en una composición de AC de 10 %O₂, 15 %CO₂ con 90 % RH a 2 ± 2 °C en dos tiempos de exposición: exposición temprana (primeros 3 días de almacenamiento) y exposición continua (16 días), además de un tratamiento de control (16d en aire). En los días 0, 3, 7,14 y 16, se tomaron muestras para evaluar el contenido y el perfil de antocianinas, así como los cambios en los parámetros de calidad (color, pérdida de peso, firmeza, pH, SST, TA). Los resultados mostraron que la AC prolonga la vida útil de las frambuesas, y el tratamiento continuo, mantuvo los parámetros de color mejor que el control conservando un color más brillante. Sin embargo, la AC disminuyó los contenidos fenólicos y las antocianinas monoméricas totales en un 34 y 35% respectivamente durante la exposición al tratamiento. El perfil de antocianinas no se vio afectado por el tratamiento, sin embargo, las concentraciones fueron variables durante los días de almacenamiento encontrándose reducciones de hasta el 74% bajo AC. Los cambios de color observados durante el almacenamiento en AC favorecen la apariencia visual de los frutos, pero reducen las antocianinas componentes con propiedades nutracéuticas.

Palabras clave: color, frambuesa, antocianinas, atmósferas controladas, vida postcosecha.

Abstract.

Mexico is the second largest raspberry producer in the world, and in 2020 recorded a national production increase of 13.6%. Raspberry postharvest life is very short, and color, is a quality parameter that has a strong influence on purchase decision of this fruit. Anthocyanins are the compounds responsible to its bright red characteristic color. An alternative to extend its shelf life is to store fruit in controlled atmospheres(CA) at 2 ± 2 °C and 90% relative humidity (RH). However, it has been observed that continuous exposure to high CO₂ concentrations results on the reduction of anthocyanins content and affects fruit color development during storage, suggesting an inhibiting effect on the synthesis of anthocyanins. The objective of this work was to evaluate the effect of CA storage time, particularly continuous application, on color changes associated with anthocyanin content and shelf life. Raspberry fruits were stored in a CA composition of 10 %O₂, 15 %CO₂ with 90 % RH at 2 ± 2 °C at two exposure times: early exposure (first 3 days of storage) and continuous exposure (16 days), in addition to a control treatment (16d in air). On days 0, 3, 7,14 and 16, samples were taken to evaluate anthocyanins content and profile, as well as changes in quality parameters (color, weight loss, firmness, pH, TSS, TA) The results showed that CA extend the shelf life of raspberries, and continuous treatment, maintained color parameters better than the control resulting in a brighter color. However,CA decreased phenolic contents and total monomeric anthocyanins in 34 y 35% respectively during treatment exposure. Anthocyanin profile was not affected by the treatment. However, anthocyanin concentrations were variable during storage, finding reductions up until 74% under AC. Color changes observed during storage favor the visual appearance of the fruits but reduce the anthocyanin components with nutraceutical properties.

Keywords: color, raspberry, anthocyanins, controlled atmospheres, postharvest life.

Índice

2. ANTECEDENTES	2
2.1 Generalidades de la frambuesa	2
2.1.1 Variedades	5
2.2. Importancia económica.....	6
2.2.1 Producción Mundial.	6
2.2.2 Producción Nacional	8
2.3 Manejo postcosecha	9
2.3.1 Parámetros de calidad.....	11
2.3.1.2 Color	12
2.3.2 Tecnologías postcosecha.....	15
2.4 Composición de la frambuesa.....	19
2.4.1 Composición nutricional de la frambuesa	19
2.4.2 Vitaminas	20
2.4.3 Compuestos fenólicos.....	21
2.4.4 Elagitaninos	22
2.4.5 Antocianinas	23
2.4.5.1 Estructura química de las antocianinas.....	23
2.4.5.2 Factores postcosecha que pueden afectar la síntesis de las antocianinas.....	26
2.4.5.3 Biosíntesis de antocianinas.....	31
2.4.5.4 Regulación de biosíntesis de antocianinas.	33
2.4.5.5 Enzimas de la biosíntesis de antocianinas (<i>PAL</i> , <i>CHS</i> y <i>UFGT</i>).....	35
3. JUSTIFICACIÓN	39
OBJETIVOS.....	40
4.1 Objetivo general	40
4.2 Objetivos específicos	40
5. METODOLOGÍA	41
5.1 Material biológico.....	41

5.2 Estrategia experimental.	41
5.3 Parámetros de calidad.....	42
5.3.1 Tasa de respiración	42
5.3.2 Pérdida de peso.....	42
5.3.3 Color	42
5.3.4 Firmeza	43
5.3.5 Sólidos solubles pH y acidez titulable	43
5.4 Cuantificación de compuestos fenólicos	44
5.4.1 Extracción de compuestos fenólicos.....	44
5.4.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales	44
5.4.3 Antocianinas monoméricas totales y poliméricas.....	44
5.4.4 Perfil de antocianinas	46
5.5 Análisis Estadístico	47
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
6.1 Cambios de color durante los días de almacenamiento	48
6.2. Cambio en los parámetros fisicoquímicos	51
6.2.1 Pérdida de Peso.....	51
6.2.2 Firmeza.....	52
6.2.3 Sólidos Solubles Totales (% brix)	55
6.3 Fitoquímicos	56
6.3.1 Fenoles Totales (FT).....	56
6.3.2 Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)	58
6.3.3 Perfil de antocianinas.....	59
7. REFERENCIAS	63

Índice de figuras

Figura 1. Planta de frambueso con brote del año de color verde (primocaña) y caña del segundo año, de color marrón (floricaña).	3
Figura 2. Partes de la planta de frambuesa.	4
Figura 3. Planta de frambuesa variedad adelita.	6
Figura 4. Producción mundial de frambuesa de 1994 a 2020.	7

Figura 5. 10 principales países productores de frambuesa.	8
Figura 6. Estados productores de frambuesa.	9
Figura 7. Evolución del color en diferentes estados de madurez en frambuesa	11
Figura 8. Variedad "Killarney" almacenada a 0°C (A) y 7°C (B).	14
Figura 9. Estructura química de las cuatro clases principales de polifenoles.....	22
Figura 10. Estructura básica de las antocianinas.	24
Figura 11. Antocianinas más comunes en plantas.	25
Figura 12. Representación esquemática de la ruta biosintética de flavonoides dirigida para antocianinas.....	33
Figura 13. Reacción que cataliza la enzima PAL1	37
Figura 14. Reacción catalizada por CHS	37
Figura 15 Cambios de color durante el almacenamiento en atmósferas controladas.....	48
Figura 16 Cambios de color durante el almacenamiento después de 3 días en AC.....	49
Figura 17 Cambios en los parametros de Chroma y hue de frutos de frambuesa almacenados a 4°C.	51
Figura 18 Firmeza de frutos de frambuesa almacenados a 4°C durante 16 días.....	53
Figura 19. Cambios en la firmeza y pérdida de peso de frutos de frambuesa almacenados a 4°C.	54
Figura 20 Cambio de %SST durante el almacenamiento en atmósferas controladas a 4°C	55
Figura 21 Cambio en el contenido de FT durante los tratamientos en AC	57
Figura 22 Cambio en AMT durante el almacenamiento en AC.....	58
Figura 23 Cromatogramas de frutos de frambuesa almacenados a 4°C, A) Frutos control, B) frutos bajo ACC HPLC.	61

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía NCBI <i>Rubus idaeus</i> (frambuesa roja americana).	2
Tabla 2. Entidades con aporte en la producción de frambuesa.	9
Tabla 3. Efecto de las condiciones óptimas y condiciones fuera de rango de los factores que intervienen en las atmósferas controladas.	16
Tabla 4. Contenido nutricional de frambuesa por cada 100g.	19
Tabla 5. Frutos de frambuesa roja "Adelita" sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C.	30
Tabla 6. Gradiente HPLC para la determinación de antocianinas.	46
Tabla 7 parámetros de color de frutos de frambuesa sometidos a tratamientos de atmósfera controlada (temprana continua) y control negativo (aire) almacenados a 1°C por 14 días	50
Tabla 8 Parámetros de calidad durante el almacenamiento de frambuesa a 4°C.....	52
Tabla 9 Cambios en el contenido de antocianinas durante el almacenamiento a 4°C durante 16 días	61

Introducción

La producción mundial de frambuesa ha incrementado en los últimos años, y México es el segundo productor a nivel mundial (FAOSTAD, 2021). El color es un importante atributo de calidad del fruto para la aceptabilidad del consumidor (Li et al., 2018). Cuando el fruto es cosechado en un estado de madurez adecuada tiene una mayor dureza y soporta mejor la manipulación y transporte.

Las frambuesas son fuente rica de componentes químicos bioactivos como son: compuestos fenólicos, elagitaninos, ácido ascórbico y antocianinas, con una alta capacidad antioxidante, útil para la prevención de enfermedades crónicas humanas. Debido a su composición nutricional y nutraceútica contiene efectos positivos para la salud. En particular elagitaninos, como lambertina C y sanguinina H-6, y flavonoides, principalmente antocianinas (Lo Piccolo et al., 2020).

Las antocianinas son compuestos fenólicos de la familia de los flavonoides, forman parte del metabolismo secundario, son pigmentos solubles en agua, en las plantas contribuyen a los colores brillantes azul, rojo, y el color malva de las flores, frutos y hojas (Teng et al., 2017). Existen factores que pueden tener un efecto en la síntesis o acumulación de antocianinas entre ellos el pH, la luz UV, temperatura, el frío, ozono, nutrición.

El almacenamiento en atmósferas controladas de frutos y vegetales se refiere al almacenamiento en atmósferas con niveles reducidos de oxígeno y /o altas concentraciones de dióxido de carbono respectivamente, a bajas temperaturas y alta humedad relativa. La tecnología de atmósferas controladas permite extender la vida de anaquel de las frambuesas, sin embargo, se ha observado que cuando son expuestas durante largos periodos de almacenamiento a altas concentraciones de CO₂, hay cambios en la coloración y potencialmente en su capacidad antioxidante. Por lo que en este trabajo se propone estudiar los cambios bioquímicos y físicos generados por la atmósfera controlada continua sobre la síntesis de antocianinas y desarrollo del color en frambuesa roja, lo que puede afectar la vida de anaquel del fruto.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la frambuesa

Las berries han sido parte de la dieta humana durante siglos, mientras que las frambuesas son las berries más populares en el mundo. El sitio de origen de la frambuesa roja (*Rubus idaeus*) ha sido postulado en las montañas Ida de Turquía en Europa fueron los soldados romanos quienes esparcieron el cultivo de esta planta. En los años 1700, las frambuesas fueron exportadas para colonias de América (Jennings, 1988).

El género de plantas *Rubus* (Rosácea), contiene una estimación conservadora de más de 500 especies (Graham et al., 2018) y cientos de cultivares. La producción anual cultivada de frambuesa y mora, es económicamente significativa para más de 43 ciudades (FAO, 2019). Las especies *Rubus* son nativas a lo largo del hemisferio norte; sin embargo, el centro principal de la diversidad está en Asia. El subgénero *ideobatus* (frambuesa) es el más importante comercialmente de los subgéneros domesticados, mientras que las especies de frambuesa económicamente importantes son; la frambuesa roja europea (*R. idaeus* L. subsp. *idaeus*), la frambuesa roja de Norte América (*R. idaeus* subsp. *strigosus* (Michx.))(Bobinaite et al., 2015).

Tabla 1. Taxonomía NCBI *Rubus idaeus* (frambuesa roja americana).

Fuente: (Información obtenida de USDA, 2014).

REINO	PLANTAE-PLANTAS
SUB REINO	Tracheobionta- planta vascular
SUPER DIVISIÓN	Spermatophyta- planta de semilla
DIVISIÓN	Magnoliophyta- planta de flor
CLASE	Magnoliopsida- dicotiledónea

SUB CLASE	Rosidae
ORDEN	Rosales
FAMILIA	Rosaceae
GENERO	<i>Rubus L.</i>
ESPECIE	<i>Rubus idaeus L.</i>
SUBESPECIES	<i>Rubus idaeus L.ssp.idaeus</i> frambuesa roja americana

La planta de frambuesa tiene raíces perenes y coronas, mientras que sus tallos o cañas son bienal. Existen dos tipos de frambuesas, fructificación floricaña y fructificación primocaña (figura 1). En fructificación floricaña (verano), el primer año las primocañas son vegetativas, mientras que el segundo año el cultivo florea a principios de verano. Las primocañas de frambuesas dan frutos en otoño, producen frutos en la parte media superior, seguida por fruto en la parte media inferior de las floricañas en la primavera a principios de verano. El tiempo de vida de una plantación de frambuesa roja es de 10-15 años (Bobinaite et al., 2015).



Figura 1. Planta de frambueso con brote del año de color verde (primocaña) y caña del segundo año, de color marrón (floricane).

Fuente:(García, 2016).

Las flores de frambuesa tienen 5 sépalos y 5 pétalos, los sépalos persisten hasta que la fruta está madura, las partes de la flor se desarrollan durante el proceso de crecimiento activo, el crecimiento se detiene hasta que se produce la polinización y la fertilización iniciando el

desarrollo del fruto, surgen entre 60-90 estambres (Jennings, 1988) los estilos surgen en espiral en la parte terminal del receptáculo y determinan el tamaño y la forma de la fruta (Graham et al., 2018). Los carpelos tienen un ovario con dos óvulos, uno de los cuales usualmente es abortado. La fertilización ocurre un día después de la polinización y el núcleo del endospermo comienza a dividirse un día después. Inicialmente, todo el sistema se comporta como una unidad con el embrión, el endospermo, la testa y el endocarpio creciendo uno al lado del otro (Topham, 1970). Los frutos de frambuesa son agregados de todas las drupelas formadas después de la fertilización de cada ovario de la misma flor, adheridas a un receptáculo común, cada drupela es una fruta completa, usualmente tiene una semilla (Graham & Woodhead, 2011); y el control de la formación de drupelas debe ser coordinada para agregarse y formar el fruto como lo muestra la figura 2. La cohesión de drupelas depende del enlazamiento de los pelos de la epidermis (Graham et al., 2018).

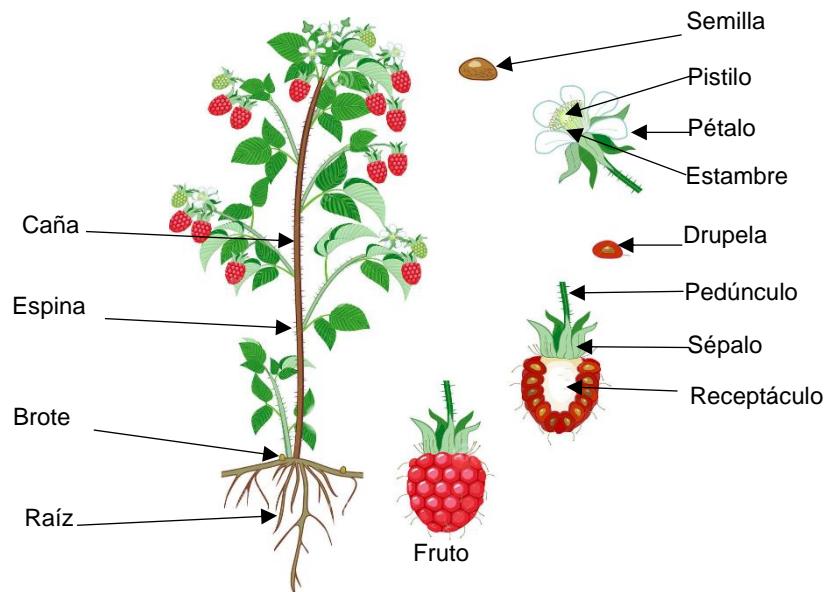


Figura 2. Partes de la planta de frambuesa.

Fuente: (Imagen modificada de istockphoto, 2019).

2.1.1 Variedades

Existen variedades remontantes o reflorescentes y no remontantes o no reflorescentes. Dentro de estas variedades se encuentran; “Heritage, September, Autumn Bliss, Ruby, Polka, Maravilla, Erika, Adelita”. En México se producen; Adelita, Erica, Lupita y Polka en los estados de Jalisco y Michoacán (Trujano-Fragoso et al., 2017). Adelita que es una variedad muy reciente, obtenida por Planasa (Plantas de Navarra S.A), las cañas son de soporte medio, pero resistentes para soportar el peso de la fruta, tiene un buen potencial productivo, el fruto es grande, de color atractivo, homogéneo y buen sabor (figura 3). Posee una gran consistencia, lo que le proporciona una buena postcosecha, mientras que la variedad Erika, procede de un cruce de Autum Bliss X Tulameen, es una variedad muy productiva, el fruto es de color rojo-anaranjado, de buen sabor y buen tamaño, se desgrana poco en la recolección, su fruto de color claro, buena consistencia para manipulación y transporte, en cuanto a la variedad Ruby es similar a Heritage, vigorosa, de fruto medio, forma cónica, color rojo brillante, consistencia media y un buen sabor (García Rubio J. Carlos, Gonzales de Lena, 2014).



Figura 3. Planta de frambuesa variedad adelita.

Las variedades no remontantes, producen una sola cosecha al año, durante la época de verano, sobre las ramas crecidas en el año anterior; es decir, un año crecen las ramas y al siguiente dan fruto y se secan comportándose de esta forma como tallos bianuales. Tal es el caso de las variedades “Glen Lyon, Glen Moy, Glen Prosen, Gradina, entre otros”(García, 2016).

2.2. Importancia económica

Los incrementos en la producción de frambuesa se deben probablemente a la combinación de diferentes factores, como son; la globalización del mercado de las berries, la mecanización de agricultura y el incremento del interés de los consumidores por alimentos saludables.

Los cultivos *Rubus* son de significancia global en su producción y valor. Para frambuesa roja la mayor producción está en Europa proveniente de Serbia, Rusia y Polonia, seguida de UK, España y Portugal, particularmente para el mercado fresco. Fuera de Europa, la gran producción de frambuesa está en México, USA y Chile (Graham & Brennan, 2018).

2.2.1 Producción Mundial.

La producción mundial de la frambuesa ha incrementado en los últimos años. Para el 2019 la producción mundial fue de 822, 493 toneladas, comparado con 2014 que fue de 612, 571 toneladas teniendo un aumento del 25%. El principal productor es la Federación de Rusia con 174,000 toneladas que representa el 21.15% seguido de México con una producción de 128 848 que corresponde al 15.66% de la producción mundial siendo el segundo productor a nivel mundial. En tercer lugar, se encuentra Serbia con 120,058 con 14.59 % (FAOSTAT, 2021). En la siguiente grafica (figura 4) se puede observar el aumento que ha tenido la producción de frambuesa desde 1961 hasta 2019 con un máximo de aproximadamente 800,000 toneladas, así como, los países productores de frambuesa (figura 5)

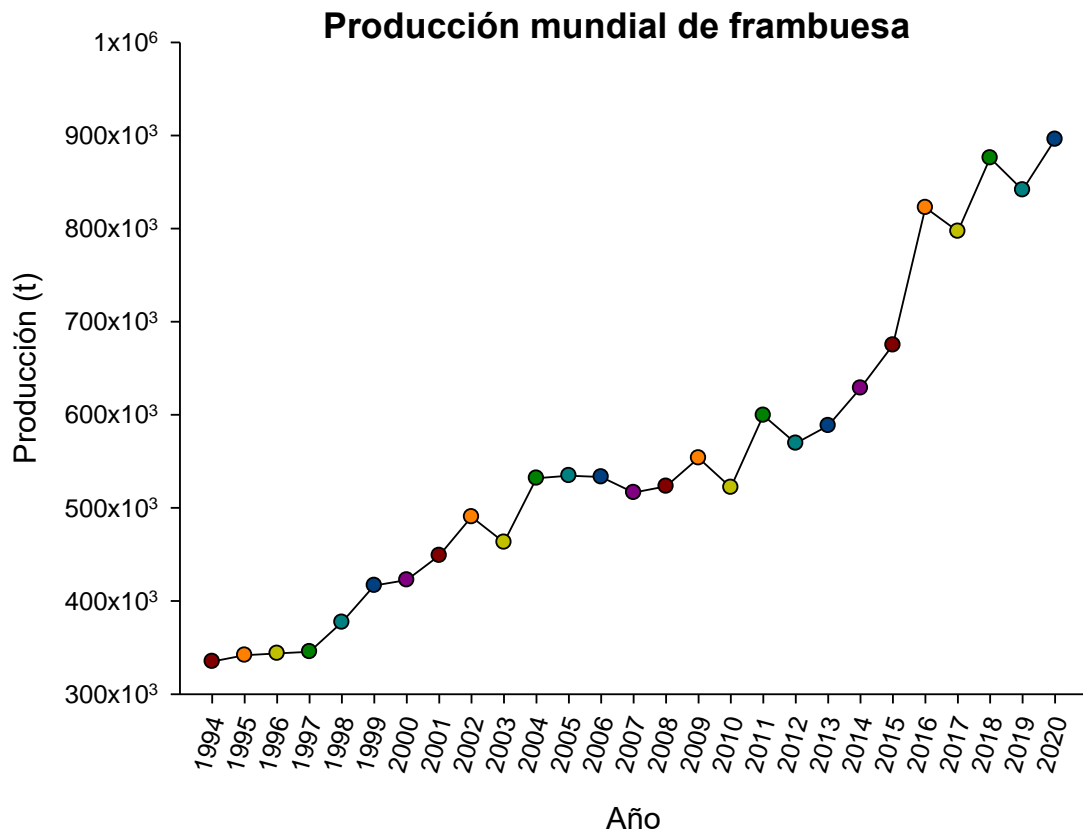


Figura 4. Producción mundial de frambuesa de 1994 a 2020.

Fuente: (FAOSTAT, 2021)

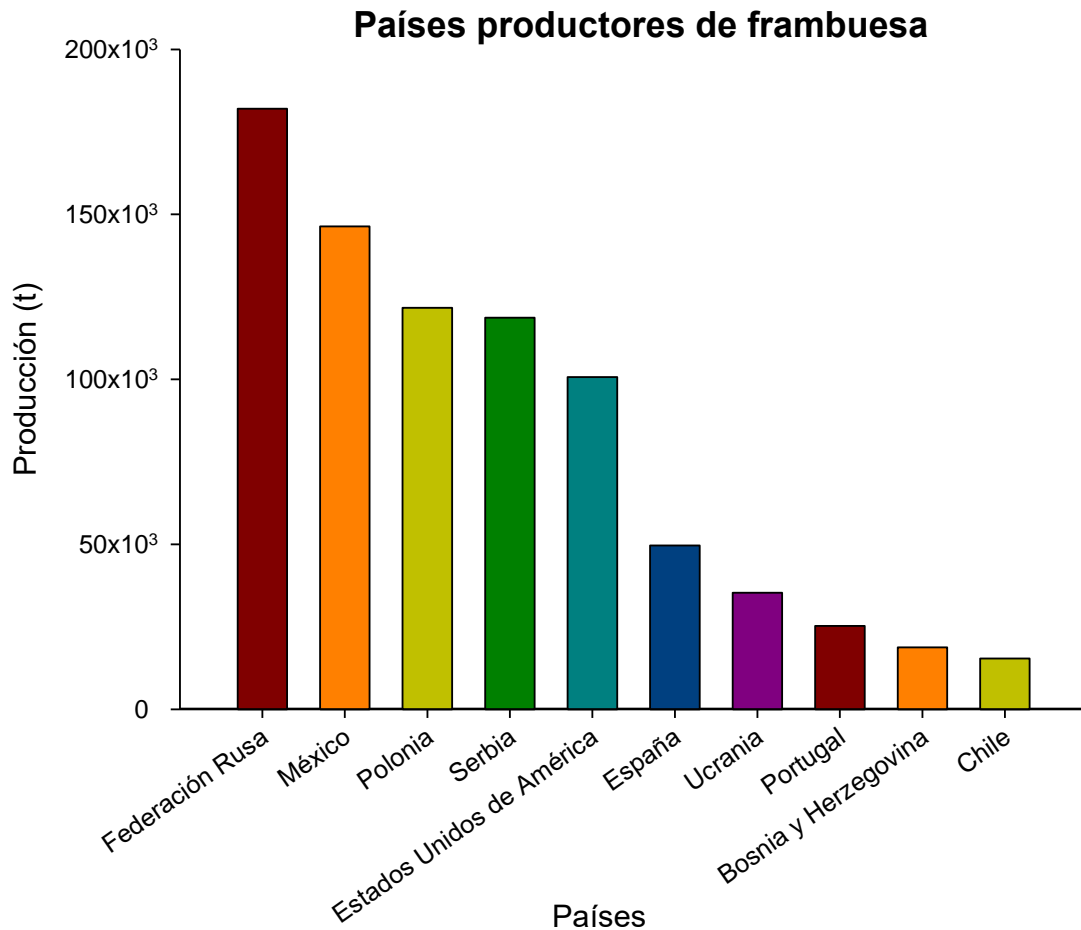


Figura 5. 10 principales países productores de frambuesa.

Fuente: (FAOSTAT, 2021)

2.2.2 Producción Nacional

El cultivo de frambuesa continúa incrementando siendo México el segundo productor a nivel mundial, con 128,848 toneladas. Los estados con mayor producción a nivel nacional son; Jalisco como primer lugar con 89,496.87 toneladas con un 69.45% de la producción total, en segundo lugar, esta Michoacán con 25,988.14 toneladas con un 20.16%, siendo Baja California el tercer estado productor de frambuesa con 11,739.2 con el 9.11%. También los estados de Guanajuato, Puebla, México, Colima y la Ciudad de México, aportan un porcentaje de producción en menor cantidad (tabla 2).

Tabla 2. Entidades con aporte en la producción de frambuesa.

Fuente: (SIAP, 2021).

No.	Entidad	Producción (t)	Valor Producción (miles de pesos)
1	Jalisco	116,339.75	3,514,220.75
2	Michoacán	29,872.16	1,870,315.55
3	Baja California	16,088.91	1,198,844.44
4	Guanajuato	2,073.29	111,233.65
5	Puebla	1,159.35	33,006.98
6	México	86.63	1,735.24
7	Colima	29.24	1,294.93
8	Tlaxcala	17.2	638.12
9	Ciudad de México	10.09	106.59
	Total	165,676.62	6,731,396.26



Figura 6. Estados productores de frambuesa.

Fuente: (SIAP, 2021)

2.3 Manejo postcosecha

Las frambuesas son caracterizadas por su alto contenido de humedad y pérdida de humedad después de la cosecha, dando como resultado la marchitez, susceptibilidad a daño mecánico, y ataque a microorganismos (bacterias y hongos) e infestación de insectos. Las frambuesas son órganos vivientes sujetos a continuos cambios después de la cosecha y por lo tanto requieren atención detallada a lo largo de su manejo desde el sitio de producción hasta su consumo. Algunos cambios que ocurren después de la cosecha del fruto son deseables, otros cambios son indeseables y requieren técnicas y tratamientos para retardar y minimizar su incidencia. Durante la maduración y senescencia, ocurren procesos irreversibles que dirigen al deterioro del fruto. Entender los factores biológicos y ambientales que afectan la tasa de deterioro postcosecha es esencial para desarrollar tratamientos para mantener la calidad y extender la vida postcosecha (S. Kumar et al., 2018).

Durante la maduración del fruto, así como, el manejo en la cosecha son dos factores críticos para mantener la calidad postcosecha (S. Kumar et al., 2018). Para obtener frutos de calidad al cosechar y mantener la calidad durante el transporte y comercialización hasta que el fruto sea consumido, es esencial cosechar en una óptima etapa de maduración (Sturm et al., 2003) para evitar una excesiva manipulación y daño del fruto. Los frutos para el mercado fresco deben ser cosechados a mano de forma ordenada, con una selección adecuada y empacado en campo directamente en el contenedor final (S. Kumar et al., 2018).

La colecta es diaria y en ocasiones hasta 2 veces al día sobre la misma planta, la maduración es escalonada y puede durar desde 4-5 semanas en periodo de cosecha en verano (junio-julio), hasta incluso 10-12 semanas en cosecha al final de verano-otoño. La frambuesa a pesar de estar considerada como un fruto no climatérico, que no madura una vez separados de la planta, su color puede modificarse a rojo intenso, según las variedades en muchos casos a pocas horas de su recolección. Para prolongar al máximo la vida poscosecha y la calidad del fruto es importante iniciar su refrigeración lo antes posible, sin dejar transcurrir más de 3-4 horas desde su recolección hasta la entrada en la cámara. Se hace un pre-enfriado, el cual consiste en bajar la temperatura interna del fruto a 4-5°C en las 3 primeras horas desde su recolección, mediante circulación de aire forzado, a continuación se mantiene refrigerado a 0°C con una humedad relativa de 90-95%. Cuando se utilizan las atmósferas controladas se cubren los pallets, una vez refrigerados de forma individual con una bolsa de plástico para a continuación inyectarle los gases adecuados. La concentración de gases aplicada en frambuesa se sitúa en el 5-10% O₂ y 15-20% CO₂. En este ambiente es más lenta la tasa de respiración, el ablandamiento del fruto y se reduce la proliferación de *Botritis* u otros hongos del fruto (García, 2016).

Algunos parámetros que se deben considerar en el manejo son; cosechar con cuidado tratando de dañar lo menos posible la fruta, sin apretar o golpear, cosechar individualmente el fruto y traspasar inmediatamente al clamshell o bandeja, cosechar por sectores, por variedad, evitar mezclar la fruta para disminuir la heterogeneidad de la caja, tener higiene en el manejo de la fruta, limpieza en las manos de los cosechadores, uñas cortas, limpieza en los materiales de

cosecha como bandejas y clamshell, cosechar temprano en la mañana evitando las temperaturas altas, no cosechar con rocío, con lluvias, humedad de la fruta (García, 2016).

2.3.1 Parámetros de calidad

2.3.1.1 Estado de maduración

La maduración de la fruta es uno de los factores que tienen influencia en la composición, almacenamiento y calidad del fruto, el momento ideal de cosecha es muy importante para el desarrollo y calidad después de la cosecha, así como una larga vida de anaquel. Los frutos que son cosechados antes de tiempo y después de tiempo, son susceptibles a desordenes fisiológicos (Benichou et al., 2018). Cuando la frambuesa es cosechada para el mercado en fresco, el momento idóneo de la recolección es cuando el fruto adquiere el color anaranjado (figura 7), justo antes de su plena madurez fisiológica. En este estado (C3), el fruto tiene una mayor dureza y soporta mejor la manipulación y el transporte (Robledo et al., 2017).

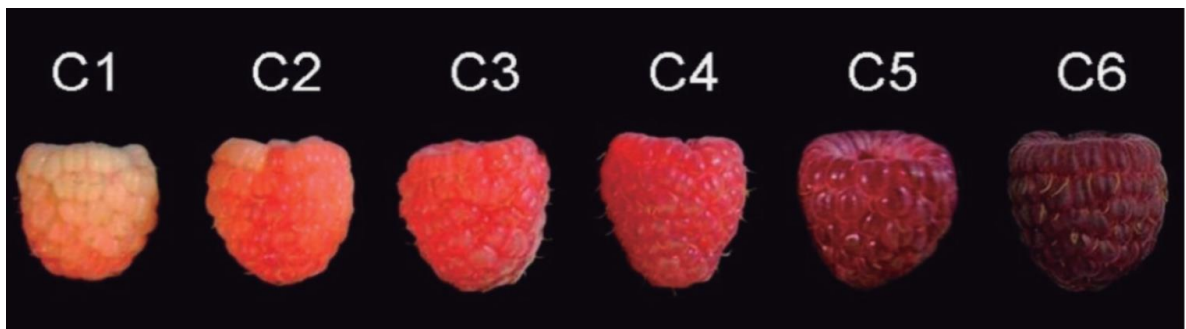


Figura 7. Evolución del color en diferentes estados de madurez en frambuesa

Fuente: J.P. Zoffoli c

2.3.1.2 Color

El color es un fenómeno de percepción que depende del observador y las condiciones en las que se observa. Es una característica de luz, la cual es medible en términos de intensidad y longitud de onda. El color de un material se vuelve visible solo cuando la luz de un objeto o fuente luminosa ilumina o golpea la superficie. Los pigmentos primarios que imparten la calidad del color son solubles en grasa. Las clorofilas (verde), carotenoides (amarillo, naranja y rojo), antocianinas son solubles en agua (rojo y azul), flavonoides (amarillo) y betalaínas (rojo). El color de los productos agroalimentarios como frutas y hortalizas es derivado de pigmentos naturales, muchos de los cuales cambian al transcurrir la maduración. La apariencia y el color atrae al consumidor y ayuda a impulsar su compra, el consumidor usa factores de apariencia para indicar frescura y calidad en sabor (Pathare et al., 2013).

Evaluar las frecuencias de diferentes colores y la contribución de las mismas antocianinas no es fácil. Esto es debido a diferencias subjetivas dentro de las clases de color en las que se agrupan los frutos. Por ejemplo, algunos autores agrupan juntos el color rojo y naranja, mientras que el rojo oscuro puede ser clasificado como marrón. Otros pueden distinguir frutos entre azul (violeta y purpura) y negro, o pueden tener una categoría para frutos azul-negro. La transformación de los cambios de color de los frutos puede estar correlacionada con aspectos de fisiología y morfología de la planta, esto se debe a la regulación de genes involucrados para la síntesis de antocianinas así como otras rutas metabólicas (Jean-Hugues B. et al., 2009)

El brillo es un aspecto visual de la calidad que depende de la capacidad de una superficie para reflejar la luz, el brillo en el exterior de la fruta entera tiende a ser un atributo deseable para las frutas enteras. El color suele influir en el juicio del sabor de los alimentos; frutas como las cerezas, frambuesa y fresas se asocian con el color rojo. Para mantener la calidad del color los productos deben medirse y estandarizarse (Pathare et al., 2013).

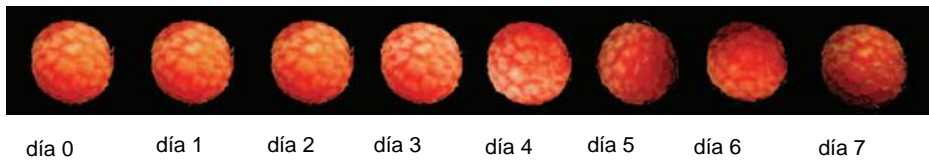
El color es un importante atributo de calidad del fruto para la aceptabilidad del consumidor (Li et al., 2018). El ojo humano es atraído por la coloración roja, en particular coloración

cromátida rojiza de los frutos, es percibida como una característica positiva asociada con la etapa de maduración del fruto, indirectamente proporcional acerca de la información del sabor y calidad de los frutos (Lo Piccolo et al., 2020). La calidad visible se refiere a la apariencia de la fruta, el fruto debe ser rojo uniforme claro a oscuro, sin coloraciones blancas o verdes, de aspecto brillante con un tamaño mayor a 8mm y de forma cónica, con todas sus drupelas, firme y sin síntomas de deshidratación (Robledo et al., 2017).

Durante la maduración de frambuesa los pigmentos cambian de verde a rojo, los cambios en el color de la fruta de rojo anaranjado a rojo púrpura durante la maduración se ha atribuido a un aumento en la síntesis de antocianinas, durante la maduración algunas antocianinas son sintetizadas mientras otras como la cianidina 3- glucósido están presentes en el desarrollo del fruto. En muchos cultivares, el color de frambuesa se oscurece durante almacenamiento con cambios más rojo azulado después de 16 días a 0°C y 20°C. Los cambios de color dependen del almacenamiento, temperatura, con un cambio de color más rápido en la fruta almacenada a 20°C que los almacenados a 0 o 4.5°C (Watkins, 2020).

La fruta fresca de frambuesa roja cambia de color durante el almacenamiento a medida que se desarrollan las antocianinas y aumenta el pH. El cambio de color a rojo oscuro es una característica que resta buena apariencia poscosecha. El color de la fruta depende del cultivar y temperatura de almacenamiento (Watkins, 2020).

A



B



Figura 8. Variedad "Killarney" almacenada a 0°C (A) y 7°C (B).

Los frutos almacenados a 0°C (A) se mantuvo en condiciones aceptables hasta el día 6, a partir del día 7 se observa un color más oscuro. Frambuesa almacenada a 7°C (B) el fruto se mantiene en condiciones aceptables hasta el día 4 posteriormente su coloración es muy oscura (figura 8) (Watkins, 2020).

Olor y sabor

La mayoría de las frutas sintetizan compuestos volátiles a medida en que maduran, tales productos químicos dan al fruto su olor característico y se puede utilizar para determinar si es de buena calidad o si la fruta está madura o no (Barman, 2015). La calidad organoléptica está determinada por un contenido adecuado de azúcares y ácidos que determinan el sabor característico de la especie y compuestos volátiles responsables del aroma característico de la fruta, sin olores extraños (Watkins, 2020).

Textura

La textura o firmeza de cualquier fruto cambia durante la maduración; la pérdida de humedad puede afectar la textura de los frutos, estos cambios de textura son detectados por el cosechador al tocar el fruto, éste es muy perecedero y blando, después de la cosecha, la vida postcosecha es muy corta debido a su alta tasa de respiración y pérdida de firmeza, ésta es asociada con una pérdida de fuerza dirigida por el ablandamiento del fruto que a su vez favorece la aparición de hongos con pérdida del producto (Lo Piccolo et al., 2020).

Las frambuesas son susceptibles a la deshidratación debido a su mayor relación superficie volumen y carencia de cutícula protectora resistente a la pérdida de agua, los síntomas de deshidratación se manifiestan como un arrugamiento de la fruta por pérdida de turgencia y reducción del brillo (Robledo et al., 2017). La pérdida de peso es un parámetro que afecta la comercialización de los frutos, ésta se da debido al incremento de la transpiración y respiración (Giuggioli et al., 2015).

2.3.2 Tecnologías postcosecha

2.3.2.1 Atmósferas modificadas

El envasado en atmósferas modificadas (MAP) es una técnica usada para prolongar la vida de anaquel en fresco o alimentos mínimamente procesados. En esta técnica de preservación, el aire rodea el alimento en el envase. Esta técnica es usada en varios tipos de productos, donde la mezcla de gases en el envase depende del tipo de producto, material de empaque, y temperatura de almacenamiento. Sin embargo, los frutos y vegetales están respirando, donde la interacción del material de empaque con el producto es importante. Si la permeabilidad (de O₂ y CO₂) de la película del empaque es adaptada para la respiración del producto, una atmósfera modificada en equilibrio será estable y la vida de anaquel del producto será incrementado (S. Kumar et al., 2018).

2.3.2.2 Atmósferas controladas.

El uso de atmósferas controladas pueden prolongar la calidad postcosecha, marcando una sustentabilidad para su comercialización global (Lo Piccolo et al., 2020). El almacenamiento en atmósferas controladas de frutos y vegetales se refiere a el almacenamiento en atmósferas con niveles reducidos de oxígeno y /o altas concentraciones de dióxido de carbono respectivamente, a bajas temperaturas y alta humedad relativa. Las atmósferas modificadas son creadas en una cámara hermética y son continuamente monitoreadas y mantenidas a lo largo del periodo de almacenamiento. Las atmósferas controladas reducen la actividad metabólica del producto permitiendo el control de maduración y senescencia, reduce la pérdida de peso, retraso en el ablandamiento del fruto y formación de antocianinas, inhibiendo el oscurecimiento y deterioro, favorece la retención de sabor y clorofila, la concentración de oxígeno es disminuida a niveles deseables en el cuarto de almacenamiento por un primer enjuague con gas nitrógeno o nitrógeno líquido y después una inyección de dióxido de carbono de un generador de gas. En general como resultado disminuye la concentración de oxígeno e incrementa la concentración de dióxido de carbono en la atmósfera alrededor de los productos almacenados (Valdez Fragoso & Mújica-Paz, 2015).

Sin embargo, cuando las condiciones de almacenamiento no son las óptimas pueden ocurrir cambios que afectan la calidad del producto (tabla 3).

Tabla 3. Efecto de las condiciones óptimas y condiciones fuera de rango de los factores que intervienen en las atmósferas controladas.

Fuente: (Valdez Fragoso & Mújica-Paz, 2015).

Factor	Condición óptima	Condiciones fuera de rango
Decremento de la temperatura	Disminución de actividad metabólica. Disminuye la tasa de respiración.	Daño por frío. Daño por congelación. Oscurecimiento. Muerte.
Decremento de oxígeno	Reduce la tasa de respiración aeróbica. Reduce la degradación de color, textura, sabor, y vitaminas. Reduce la tasa de producción y acción del etileno. Disminuye la maduración en frutos climatéricos.	Fermentación. Inhibición de sabor. Sabor alcohólico. Falla de maduración.
Incremento de dióxido de carbono	Minimiza la respiración aerobia. Inhibe el efecto del etileno. Detiene la maduración Reduce decoloración debido a reacciones enzimáticas Disminuye la producción de algunos volátiles orgánicos. Disminuye la tasa de degradación de pectina y clorofila Retarda el crecimiento de hongos en el fruto	Fermentación Oscurecimiento del tejido ablandamiento Detenimiento del sabor Muerte.

Gases implicados en las atmósferas controladas.

El primer resultado de la modificación metabólica es que la mercancía almacenada mantiene las características de calidad (color, firmeza, sólidos solubles, acidez, vitaminas y frescura) por un largo tiempo de almacenamiento. Además, manteniendo niveles apropiados de O₂, se tiene bajo deterioro microbiano e inhibición de oscurecimiento enzimático para algunos

productos como son manzanas, lichis y plátanos. Bajas concentraciones de O₂ cambia la respiración de las manzanas, peras y tomates de aerobio a anaerobio, produciendo una acumulación de alcoholes y aldehídos, que son responsables de sabores indeseables (Valdez Fragoso & Mújica-Paz, 2015).

Se ha demostrado que, cuando las condiciones de almacenamiento de frutas y vegetales cambian de composición normal de aire (78%N₂, 21%O₂ y 0.03%CO₂) a un ambiente con bajas concentraciones de O₂ (1-10%) y altas concentraciones de CO₂ (1-20%) hay una reducción en la tasa de actividad metabólica, respiración (Valdez & Mújica, 2015). Mejores resultados en la retención de compuestos bioactivos en frambuesa han sido relacionados con bajas concentraciones de O₂, las cuales reducen las reacciones oxidativas que típicamente ocurren durante el almacenamiento (Lo Piccolo et al., 2020). En frambuesa, la tasa de respiración medida reveló un incremento en la producción de CO₂ en la transferencia para condiciones de atmósferas controladas (15% CO₂ + 10% O₂); sin embargo, al regresarlos al ambiente de aire provocó una disminución hasta los niveles del control. En el día 14, la tasa de respiración no se vio afectada por los tratamientos de exposición temprana e intermedia comparado con el control (17.5 mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹) mientras que en la exposición continua incremento (35.7 mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹)(González-Orozco et al., 2020a).

Temperatura

El almacenamiento en frío es el método más usado para mantener la calidad de los frutos y vegetales. Las bajas temperaturas conducen a tasas de respiración más lentas y reducen otras reacciones metabólicas o de degradación las temperaturas usualmente usadas para almacenamiento son entre 1 y 3°C, pero la temperatura óptima depende del cultivar, así como de otras características de producción. Algunos frutos especialmente tropicales y subtropicales muestran estrés por frío (daño por frío) cuando son expuestos a bajas temperaturas, pero no a congelación. El daño por frío implica desórdenes fisiológicos y bioquímicos. Provoca ruptura de membrana y la liberación de metabolitos, como aminoácidos, azúcares, sales minerales y enzimas de las células lo que resulta en reacciones

enzimáticas y el desarrollo de microorganismos dañinos (Valdez Fragoso & Mújica-Paz, 2015).

Humedad Relativa

La humedad relativa es un factor esencial en el almacenamiento en atmósferas controladas. La mayoría de los productos deben mantener una alta humedad relativa en el cuarto de atmósfera cerrado al punto de saturación (95%) para retardar la maduración de diferentes materias primas; para mantener la frescura, sabor y peso comercial y para disminuir el desarrollo de daño por frío en frutos tropicales sensibles. Una baja humedad relativa induce la pérdida de humedad de los tejidos vivos (transpiración) que causa pérdida de peso. Estos cambios deterioran la apariencia (color), textura (encogiéndose o arrugándose), jugosidad, sabor y calidad nutricional. Por otro lado la alta humedad relativa (100%) puede ocurrir una condensación de agua, proporcionando un ambiente ideal para el crecimiento de microorganismos (Valdez Fragoso & Mújica-Paz, 2015).

Ozono

El procesado con ozono ha sido usado como un método para la preservación, reducción favorable en los cambios de calidad y contaminación microbiana, comparado con técnicas tradicional. El ozono es un agente con propiedades antibacteriales, la ozonización con concentraciones de 8-10 ppm por 30 minutos, cada 12 h por 3 días reduce el crecimiento de bacterias mesofílicas aerobias y hongos.

Especies reactivas de oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) originado como un producto natural en el metabolismo celular. ROS incluye radicales libres y moléculas no radicales. Anión superóxido (O_2^-), dioxidono (1O_2), radical hidroxilo (OH) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2), son los mayores ROS en plantas. Estos son productos generados como resultado de la transferencia de electrones de reacciones químicas (Singh et al., 2016). Son producto de reacciones de óxido reducción o actividades derivadas del oxígeno, generados en cloroplastos, mitocondria, peroxisomas y glioxisomas, citosol, apoplastos, núcleo y sistemas

endomembranoso. Los ROX son reactivos y tóxicos, causan daño oxidativo (Singh et al., 2016).

Las capacidades de ozonizado y control del fruto de frambuesa para producir superóxido anión radical (O_2^-) y peróxido de hidrogeno, muestran que el ozonizado del fruto genera bajas cantidades de ROS comparado con una muestra control en el periodo de almacenamiento. Después de 72 h la producción de (O_2^-) y H_2O_2 por la muestra control incremento por 2.6 y 2.3 veces comparado con la evaluación inicial, en contraste, el fruto ozonizado únicamente por 0.7 y 1.3 veces. Suponen que la capacidad de producir ROS en la fruta ozonizada está relacionada con el efecto protector del ozono contra el desarrollo de enfermedades de almacenamiento y/o activa un mecanismo protector contra la aparición de estrés oxidativo en frambuesa por ozonización (Piechowiak & Balawejder, 2019).

2.4 Composición de la frambuesa

2.4.1 Composición nutricional de la frambuesa

Los frutos de frambuesa son principalmente agua, cerca del 85%, el contenido de sólidos solubles es del 9%, las pectinas entre 0.1-1.0% de fracción soluble, pero esta cantidad disminuye con la maduración debido al hidrolisis. Los principales azúcares son glucosa, fructosa y pequeñas cantidades de sacarosa. El fruto de frambuesa maduro contiene de 5-6% de azúcares. El ácido cítrico es el segundo componente de la fracción soluble; las frambuesas contienen muy poco ácido málico y trazas de otros ácidos. La cantidad de ácido en el fruto aumenta en el desarrollo y decrece cuando el fruto comienza su maduración. (Graham et al., 2018). La frambuesa es fuente de micro y macro nutrientes, incluyendo fibra, azúcares, vitaminas y minerales, pero en cuanto a su contenido en calorías es bajo. Contienen pequeñas cantidades de grasa, pero alto contenido en fibra dietética (celulosa, hemicelulosa, pectina); ácidos orgánicos, como son cítrico, málico, tartárico, oxálico y fumárico, ciertos minerales (tabla 4).

Tabla 4. Contenido nutricional de frambuesa por cada 100g.

Fuente: (USDA, 2019)

Macronutriente		Minerales		Vitaminas	
Agua	85.75 g	Calcio, Ca	25 mg	Vitamina C, ácido ascórbico	26.2 mg
Energía	52 kJ	Hierro, Fe	0.69 mg	Tiamina	0.032 mg
Energía	220 kJ	Magnesio, Mg	22 mg	Riboflavina	0.038 mg
Proteína	1.2 g	Fósforo	29 mg	Niacina	0.598 mg
Lípido total (grasa)	0.65 g	Potasio, K	151 mg	Ácido pantoténico	0.329 mg
Cenizas	0.45 g	Sodio, Na	1 mg	Vitamina B-6	0.055 mg
Carbohidrato, por diferencia	11.94 g	Zinc, Zn	0.42 mg	Folato, total	21 µg
Azúcares, totales	4.42 g	Cobre, Cu	0.09 mg	Colina, total	12.3 mg
Sacarosa	0.2 g	Manganeso, Mn	0.67 mg	Betaína	0.8 mg
Glucosa (dextrosa)	1.86 g	Selenio, Se	0.2 µg	Vitamina A.RAE	2 µg
Fructosa	2.35 g			Caroteno, beta	12 µg
Fibra dietética total	6.5 g			Caroteno, alfa	16 µg
				Vitamina A, UI	33 IU
				Luteína+zeaxantina	136 µg
				Vitamina E (alfa tocoferol)	0.87 µg
				Tocoferol, beta	0.06 mg
				Tocoferol, gamma	1.42 mg
				Tocoferol, delta	1.04 mg
				Vitamina K (filoquinona)	7.8 µg
				Ácidos grasos, saturados totales	0.019 g
				Ácidos grasos, monoinsaturados total	0.064 g
				Ácidos grasos, poliinsaturados totales	0.375 g

2.4.2 Vitaminas

Las frambuesas son buena fuente de vitamina C: 100g de berries proporciona casi el 50% de la ingesta diaria de vitamina C (Rao & Snyder, 2010). La vitamina C y manganeso son importantes nutrientes antioxidantes que protegen contra estrés oxidativo. Las frambuesas son también reconocidas como una buena fuente de riboflavina, ácido fólico, niacina, magnesio, potasio, cobre y hierro.(Bobinaite et al., 2015). En semillas de frambuesa fue reportado un contenido de 11-23% de aceite en el cual, está presente como ácido linoleico

(18:2) 54-55%, ácido α -linoleico (18:3) 29-31%, ácido oleico (18:1) 10-12% y ácidos grasos saturados 3-4% (Bushman et al., 2004). Otros nutrientes lipofílicos en frambuesa roja y negra son los aceites tocoferoles de las semillas (dominando el gama-tocoferol) y carotenoides perdurando con sol natural factor de protección y capacidades antiinflamatorias. Por lo tanto, las semillas de frambuesa son material crudo prometedor en el crecimiento del mercado de los cosméticos (Bobinaite et al., 2015).

2.4.3 Compuestos fenólicos.

Las frambuesas son fuente rica de componentes químicos bioactivos como son; compuestos fenólicos, elagitaninos, ácido ascórbico, antocianinas, con una alta capacidad antioxidante, útil para la prevención de enfermedades crónicas humanas. Debido a su composición nutricional y nutraceutica contiene efectos positivos para la salud. En particular elagitaninos, como es lambertina C y sanguinina H-6, y flavonoides, principalmente antocianinas (Lo Piccolo et al., 2020).

Los polifenoles son un grupo de compuestos bioactivos ampliamente distribuidos en los alimentos de origen vegetal que forman parte importante de la dieta humana. Se han identificado más de 500 polifenoles diferentes en los alimentos. Los polifenoles se clasifican comúnmente en cuatro grupos principales; flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos y estilbenos (Figura 9). El grupo flavonoide generalmente la clase más abundante de polifenoles en la dieta, se puede dividir en subclases que incluyen antocianinas, flavonoles, flavononas, flavonas, e isoflavonas. Los ácidos fenólicos representan el segundo componente más abundante de los polifenoles en la dieta seguidos de los lignanos y por último los estilbencenos. Los polifenoles son en parte responsables del color y sabor de los alimentos, como las antocianinas son responsables de los tonos rosas, rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas, los flavonoides, proantocianidinas, son responsables del carácter astringente de algunas frutas.

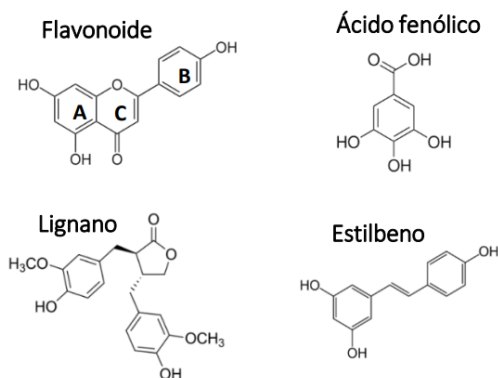


Figura 9. Estructura química de las cuatro clases principales de polifenoles

Fuente: (Castro-Acosta, 2019).

Los polifenoles tienen en común la presencia de uno o más anillos fenólicos en su estructura principal. Los flavonoides comparten una estructura general que consta de dos anillos fenólicos unidos por tres átomos de carbono que forman un heterociclo oxigenado ($C_6C_3C_6$), conocidos como anillos A, B, C, respectivamente. Los ácidos fenólicos comparten la estructura básica de un grupo fenólico y un ácido carboxílico (C_6C_1)⁷. Los principales ácidos fenólicos en los alimentos son derivados de los ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinámico. (Castro-Acosta, 2019).

El contenido total de compuestos fenólicos como también la capacidad antioxidante son relativamente estables a lo largo del almacenamiento por uso de bajas temperaturas (1-5 °C) comúnmente a través de un ligero decremento en el contenido total fenólico (con almacenamiento a temperatura de 1°C).

2.4.4 Elagitaninos

En frambuesa el ácido elágico libre constituye solo una pequeña parte del contenido del total del ácido elágico con sanguina H-6 y lambertianina C siendo los principales componentes elagitaninos (Bobinaite et al, 2012). Los taninos son compuestos fenólicos solubles en agua,

con pesos moleculares entre 300 y 3 000 Da. Taninos hidrolizables y condensados son ampliamente distribuidos en el reino de las plantas se piensa que son biosintetizados y acumulados como componentes de defensa contra microorganismos, herbívoros y estrés oxidativo (Barbehenn et al., 2006). En un estudio realizado en frambuesa roja de la variedad 'Adelita' donde las frambuesas fueron expuestas a atmósferas controladas en exposición temprana, intermedia y continua no se encontraron diferencias en el contenido de elagitaninos con una media de 198.1mg en 100 gramos de peso fresco (González-Orozco et al., 2020a).

2.4.5 Antocianinas

Las antocianinas pertenecen a compuestos fenólicos de la familia de los flavonoides, forman parte del metabolismo secundario, son pigmentos solubles en agua, en las plantas contribuyen a los colores brillantes azul, rojo, y el color malva de las flores, frutos y hojas. (Teng et al., 2017). Estos compuestos son sintetizados en el citoplasma, pero almacenados y concentrados en las vacuolas a nivel subcelular de las 3 o 4 primeras capas del epicarpio (Leguizamón et al., 2005). Son acumuladas en vesículas esféricas conocidas como antocianoplastos o inclusiones vacuolares las cuales se encuentran unidas a las proteínas de membrana (Castañeda, 2010). Las antocianinas están presentes en un amplio rango de tejidos de plantas, principalmente flores y frutos, pero también almacenados en órganos, raíces, tubérculos y tallos; dentro del reino de las plantas están presentes casi universalmente en plantas superiores, con excepción de la producción de betalainas, y están también presentes en plantas como son algas, hepáticas, musgos y helechos. Las antocianinas son metabolitos secundarios vital para los frutos y vegetales, actúan como fitoalexinas, antioxidantes y son importantes en los mecanismos de defensa contra infecciones (Jean-Hugues B, 2009)

2.4.5.1 Estructura química de las antocianinas

La antocianina es una de las subclases de fitoquímicos fenólicos, está en forma de glucósido, mientras que la antocianidina se le conoce como aglicona. Las antocianidinas se agrupan en

3-hidroxiantocianidinas, 3-deoxi antocianidinas y O-metiladas (mientras que las antocianinas están en forma de glucósidos de antocianidinas y antocianinas aciladas. Las antocianinas aciladas son también detectadas junto a las antocianinas típicas en plantas, estas se dividen en antocianinas aciladas, coumaroil antocianinas y malonil (Khoo et al., 2017a).

La estabilidad de las antocianinas es dependiente en el tipo del pigmento de la antocianina, copigmentos, temperatura, pH, iones metálicos, enzimas, oxígeno y antioxidantes. La estabilidad es también influenciada por el anillo B de la estructura de la antocianina (fig. 9) y la presencia de grupos hidroxilo o metoxilo (Khoo et al., 2017a). La naturaleza iónica de las antocianinas habilita cambios de la estructura molecular de acuerdo al pH predominante, resultando en colores y matices diferentes a valores de pH. Esto ocurre principalmente cuando glucósidos de su respectiva aglicona antocianidina generalmente cromóforos atacan a la posición 3 en el anillo C (3 mono glicósidos) o en la posición 5 del anillo A (3,5- di glicósidos) (Prior & Wu, 2007).

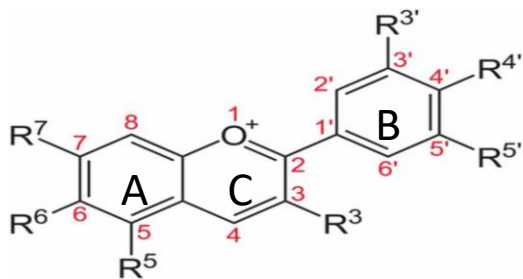
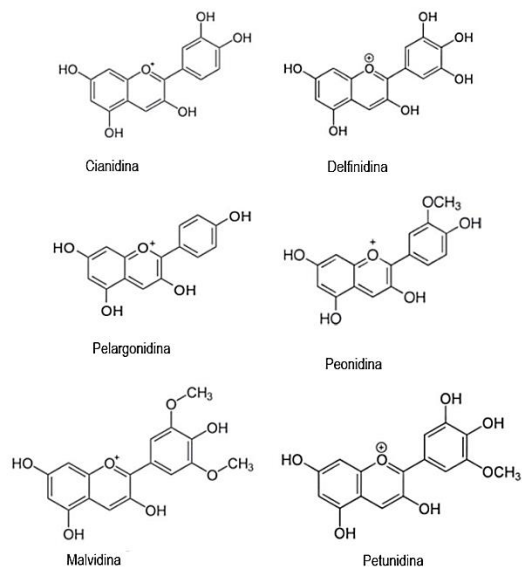


Figura 10. Estructura básica de las antocianinas.

Fuente: (Khoo et al., 2017b).

Las antocianinas son clasificadas de acuerdo al número y posición del grupo hidroxilo en el núcleo flavan los cuales son: cianidina, delphinidina, petunidina, peonidina, malvidina y

pelargonidina como se muestra en la figura 10. Las antocianinas presentes principalmente en frambuesa (>90%) son glucósidos de cianidina (cianidina 3-O-glucosido, cianidina 3-O-rutinosido, cianidina 3-glucosilrutinosido y cianidina 3-soforosido) y glucósidos de pelargonidina (pelargonidina 3-glucosido) (Lo Piccolo et al., 2020).



Antocianidina	R1	R2
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OCH ₃	H
Malvinidina	OCH ₃	OCH ₃
Petunidina	OCH ₃	OH

Figura 11. Antocianinas más comunes en plantas.

Modificado de (Khoo et al., 2017a).

En condiciones ácidas algunas de las antocianinas aparecen rojas (predomina la forma de catión flavilio) son altamente solubles en agua, si disminuye la concentración de agua aumenta la tasa de deprotonación del catión flavilio lo que reduce la estabilidad del color. Cercano a pH neutro las antocianinas tienen un tono púrpura al incrementar el pH los colores pseudobase carbinol y estructuras chalcona son formadas, mientras que al aumentar el pH su coloración cambia a azul (Khoo et al., 2017a).

El azúcar más común de glucósidos de antocianidina es glucosa, sin embargo, rhamnosa, xilosa, galactosa, arabinosa, y rutinosa (6-O-L-rhamnosil-D-glucosa) puede también presentarse (Horbowicz et al., 2008). El azúcar puede ser asilada por ácidos aromáticos, de manera general ácidos hidroxicianimicos (cafeico, ferúlico, p-camarico o ácido sináptico) y

algunos por ácidos alifáticos, es decir succínico, málico, malónico, oxálico, y ácido acético. Los grupos acilo son normalmente vinculadas a los azúcares a C-3 (Teng et al., 2017).

La absorción de la luz de las antocianinas se atribuye a la estructura general del anillo y los dobles enlaces conjugados (Khoo et al., 2017). Cambiando en el ambiente intravacuolar (compuestos incoloros coexistentes (flavonas y flavonoides), iones metálicos, y pH) cambian los colores de las antocianinas. La diversificación de las antocianinas está influenciada principalmente antocianidina y la posición conjugada del azúcar, cantidad, estructura y la presencia de grupos metilo (Liu et al., 2018). Dependiendo en el número de grupos hidroxilo en el anillo B, las antocianidinas muestran diferentes colores *hue*.

2.4.5.2 Factores postcosecha que pueden afectar la síntesis de las antocianinas.

Las antocianinas son responsables de la respuesta a varios estreses bióticos y abiótico como son; sequia, radiación UV y estrés salino (Van den Ende & El-ESawe, 2014) temperaturas extremas, ozono, radiación UV-B, luz intensa. Las antocianinas generalmente se consideran un síntoma de estrés y/o parte de un mecanismo para mitigar los efectos de estrés.

pH

Las antocianinas son estables a bajo pH. En solución las moléculas de antocianinas están presentes en un equilibrio entre la forma catiónica coloreada y el color de la pseudobase. Este equilibrio es directamente influenciado por el pH. Este es muy importante para el color de las antocianinas, algunas de estas son rojas en soluciones acidas, violeta o purpura en soluciones neutras y azul en un pH alcalino (Wahyuningsih et al., 2017). El pKa previsto de un catión flavilio en una solución tamponada es de 1-3, el pKa de la base quinonoide y la *chalcona* es de 4-5 y el pKa de los monoaniones quinonoides y *chalcona* es de 7.5 a 8.0. el catión flavilium y la base quinonoidal aparecen de color rojo, mientras que el monoanion y el dianion quinonoidal puede verse como purpura y azul en solución acuosa en una solución de pH más bajo (pH<3) la cianidina parece ser roja, violeta a pH de 7-8 y de color azul a

pH>11. La peonidina (antocianina 3-O-metilada) tiene un tono rojo cereza a bajo pH, pero cambia a azul profundo a pH 8. Es diferente en la mayoría de las antocianinidinas por que tiene mayor estabilidad a pH alto que la cianidina, delfinidina y pelargonidina.(Khoo et al., 2017a).

Calor

Como un resultado de las altas temperaturas , incrementan los niveles de azúcares, pH, ácido ascórbico, que pueden afectar la tasa de destrucción las antocianinas se vuelven menos estables cuando se exponen al calor, provocando pérdida de color y pardeamiento, como resultado de la alta temperatura y el aumento del nivel de azúcar, (Wahyuningsih et al., 2017). Incrementos en la temperatura resultan en pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura del anillo con la consecuente producción de *chalconas* incoloras (Mejia Abanto, 2016).

Temperatura

Las antocianinas se vuelven menos estables cuando son expuestas al calor, causando una pérdida de color y oscurecimiento. Como un resultado de alta temperatura, incrementan los niveles de azúcares, pH y ácido ascórbico puede afectar la tasa de destrucción (Wahyuningsih et al., 2017). Se ha reportado que el contenido total de antocianinas incrementa durante el almacenamiento, independientemente de las temperaturas, pero también se han encontrado decrementos en el contenido total de antocianinas monoméricas cuando las frambuesas fueron almacenadas a 3°C.(Lo Piccolo et al., 2020).

De Ancos et al., (1999) observó que dos cultivares tempranos de frambuesa roja, Heritage y Atutum Bliss, las cuales tienen bajo contenido en la concentración total de antocianina y cianidina 3- glucósido, no muestra degradación después de la congelación y de hecho una mejor extracción del contenido total de antocianinas debido a la alteración celular causada por el proceso de congelación. Rubi y Zeva, los dos cultivares tardíos de frambuesa con alto contenido en la concentración total de antocianina y cianidina 3 glucósido, muestra una mayor evidente degradación del total de antocianinas causado por el proceso de congelación.

Este efecto degradativo puede ser debido al alto contenido de más reactivo componente antocianina cianidina 3-glucosido, o quizás la alteración celular causada por el proceso de congelación, produciendo una liberación del sistema enzimático oxidoreductasa(PPO) (Sablani, 2015).

Ozono

En la aplicación de ozono en frambuesa, en el último día de almacenamiento, la infestación con *Botritis cinérea* para el control fue del 100%, mientras que para la fruta tratada fue del 12%. La ionización tuvo un impacto positivo en términos de reducción de la pérdida de antioxidantes, incluyendo componentes fenólicos. El fruto ozonizado fue caracterizado por color más intenso que el no ozonizado debido al alto contenido de antocianinas. La aplicación de ozono fue aprobada como potencial efectivo para extender la vida de anaquel de frambuesas a temperatura ambiente (Piechowiak et al., 2019), las frambuesas tratadas incrementaron aproximadamente 49% el nivel de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en almacenamiento durante 24h, comparadas con frutos no tratados (Piechowiak et al., 2019). El proceso de ozonización causa un incremento en la actividad de *PAL* durante las primeras 72h de almacenamiento, y después de este tiempo su actividad disminuye esto puede deberse al daño oxidativo de proteínas enzimáticas como un resultado de la acumulación de ROS (especies reactivas de oxígeno) en las células vegetales y debilitamiento de los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo (Piechowiak & Balawejder, 2019).

Radiación UV-B y UV-C

Los tratamientos con UV-C y UV-B pueden ambos incrementar significativamente el contenido total fenólico en postcosecha en uvas incluyendo flavonoides totales, flavonol total y antocianinas totales por 28 días, sin embargo, algunas dosis (3.6 kJ m^{-2}), con tratamiento UV-C incrementan más que UV-B. UV-B es luz UV que las plantas pueden estar expuestas naturalmente y tienen menos daño que la UV-C por lo que es un método más prometedor para el almacenamiento de frutas y verduras (Sheng et al., 2018).

Los tratamientos mostraron un efecto de UV-B o UV-C en las características de uvas durante el almacenamiento. Los sólidos totales, la acidez titulable total y el pH no fueron afectados. Los cambios en antocianinas incrementaron durante 14 días de almacenamiento. En UV-C los niveles se mantuvieron estables después de 14 días y fueron todavía 0.24g Kg^{-1} más alto que el control a 28 días. Después de 21 días de almacenamiento, en UV-B no hubo diferencia significativa comparada con el control (Sheng et al., 2018).

En arándanos “Dukey” durante el almacenamiento en frío, el total de antocianinas aumento por tratamientos UV-B y UV-C en 3 h, pero disminuyo rápidamente a los 7 días. Después de la disminución rápida se mantuvieron estables. El total de antocianinas en los tratamientos UV-B y C fueron todavía~ 88 mg/100g más altas que el control y el tratamiento con UV-A a 28 días (Nguyen et al., 2014).

CO₂

Elevadas concentraciones de (>5%) puede afectar la estabilidad de las antocianinas y el color de los frutos rojos como son las fresas o puede inhibir la actividad enzimática debido a alta solubilidad de CO₂ en agua y consecuente generación de ácido carbónico y bajar el pH (Valdez Fragoso & Mújica-Paz, 2015).

Foney et al. 2003 comparó el almacenamiento de arándano a 0°C en aire y en atmósferas controladas en condiciones de 1-15% de O₂ combinado con 0-15%CO₂ y encontró un decremento de 5 a 16 % en fenoles totales, de 8 a 18% en antocianinas y de 4 a 14% en la capacidad antioxidante durante un almacenamiento de 9 semanas dependiendo en la atmósfera. Leja y Ben (2003) encontraron un gran incremento de fenoles totales en manzanas Jonagold y Sampion durante 120 días de almacenamiento a 1°C en aire o 2% O₂ + 2% CO₂ seguido por 7 días a 16°C, ellos encontraron un ligero decremento en antocianinas durante el almacenamiento en aire, pero no en atmósferas controladas (Thompson, 2015).

(Li, Zhang, Xu, et al., 2019) Reporto que elevado CO₂ puede inhibir varias enzimas involucradas en la biosíntesis de los fenilpropanoides y flavonoides en poscosecha así mismo retrasa significativamente la acumulación de antocianinas en fresa. La decoloración de la fruta de frambuesa por CO₂ se manifiesta en variedades rojas durante el almacenamiento en atmósferas controladas o atmósferas modificadas con altas concentraciones de CO₂ superiores a 20-25%, se produce una decoloración en los frutos y además puede desarrollarse sabores y aromas extraños junto con texturas blandas y acuosas (Robledo et al., 2017).

Cuando los niveles de oxígeno son bajos y los niveles de CO₂ altos los cultivos pueden ser dañados. Fidler et al. (1973) reporto que los síntomas de daño por CO₂ es en función de concentración, tiempo de exposición y temperatura. Thompson (2015) reportó en uvas, los niveles de antocianinas fueron bajos después de almacenamiento a 0°C pre tratado durante 3 días a 20% O₂ y 20% CO₂ (Romero et al. 2008).

En un estudio realizado donde se aplicó un tratamiento en atmósferas controladas con 10% O₂ y 15% CO₂ en frambuesa Adelita, se observó que la exposición continua (0-14 días) presentó mayor firmeza y menor pérdida de peso, pero tuvo una reducción en los niveles de antocianinas (40%), por lo que la exposición prolongada en atmósferas controladas puede alterar el metabolismo del fruto, generando daño fisiológico y degradación de pigmentos, con alteración de las características sensoriales (González et al., 2020).

Tabla 5. Parámetros de color de frutos de frambuesa roja “Adelita” sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C.

Modificado de (González et al., 2020).

Parámetros	DA	Aire	Temprano (1-3DA)	Intermedio (4-6DA)	Continuo (1-14DA)
<i>hue</i>	0	28.3	26.2	27.4	28.2
	3	27.9	25.3	26.2	28.7
	6	25.9	24.2	25	28.6
	14	24.8	26.6	24.2	29.6
Chroma (c)	0	38.5	33.8	38.2	37.3
	3	38.3	34.1	34.7	35.5

	6	25.9	33.7	35	39.8
	14	31.6	36.2	32.2	39
AMT (mg /100g PF)	0	25.8	25.8	25.8	25.8
	3	16.6	22.9	26.1	17.8
	6	22	21	16.2	13
	14	20.2	25.4	20.7	12.1
Cianidina 3 glu (mg/100 g PF)	0	20.2	20.2	20.2	20.2
	14	42.4	43	50.6	22.9

En la tabla 5 podemos observar que los parámetros de color, como son; *hue* y *croma* no presentaron un cambio significativo en los frutos tratados, sin embargo, el contenido de antocianinas monoméricas totales (AMT) el tratamiento continuo presentó en el día 14 un menor contenido de antocianinas 12.1 mg /100 g de PF en comparación con los demás tratamientos en AC, 25.4 y 20.7 mg /100 g de PF para temprano e intermedio respectivamente y también con respecto al control 20.2 mg /100 g de PF, además para el tratamiento continuo el contenido de AMT es incluso menor que el inicial (25.8 mg /100 g PF). En cuanto al contenido de cianidina 3-glucosido, se puede observar que en el día 14 el tratamiento control, el temprano y el intermedio no presentaron diferencias en su contenido con 42.4, 43.0 y 50.6 mg en 100 g de PF respectivamente, no así los frutos sometidos al tratamiento continuo que presentaron menor contenido de esta antocianina con una media de 22.9 mg/ 100 g de PF (tabla 5) (González et al., 2020).

2.4.5.3 Biosíntesis de antocianinas

La mayoría de las enzimas que sintetizan antocianinas están unidas débilmente al retículo endoplásmico, mientras que sus productos finales como las antocianinas y proantocianindias se acumulan en la vacuola (Winkel- Shirley, 2001).

Las antocianinas son biosintetizadas por la vía *fenilalanina amonio liasa* (*PAL*, la cual elimina el grupo amonio del precursor de fenilalanina) en la ruta general de los fenilpropanoides, el cual comparte la misma regulación upstream con la síntesis de flavonoles

hasta la formación de dihidroflavonoles (DHF). Los pasos iniciales controlados por los genes *cinamato 4 hidroxilasa (C4H)* y *4 comarato CoA ligasa (4CL)* involucradas en el ácido coumarico y formación de coumaroil respectivamente y la *chalcona sintasa (CHS)*, *chalcona isomerasa (CHI)* y *flavonona 3 hidroxilasa (F3H)* catalizando el paso inicial de la producción de antocianinas para general naringenina la cual es sometida a diferentes hidroxilaciones catalizada por *flavonoide 3' -hidroxilasa (F3'H)* y *flavonoide 3'5' hidrolasa (F3'5'H)* para producir dihidroflavonoles. Hacia la síntesis de flavonoles y reducción de dihidroflavonoles a leucoantocianidinas, la reacción es catalizada por *flavonol sintasa (FLS)* y *dihidroflavonol 4- reductasa (DFR)* respectivamente. Por la catálisis de *antocianina sintasa (ANS)* las leucoantocianidinas incoloras son oxidadas a antocianidinas, las cuales son glicosiladas inmediatamente por *UDP-glucosa flavonoide 3-O-glucosiltransferasa (UFGT)* para formar antocianinas. La importación de antocianina vacuolar es facilitada por la *glutación -S-transferasas (GST)* como se muestra en la figura 12 (Carmona et al., 2017).

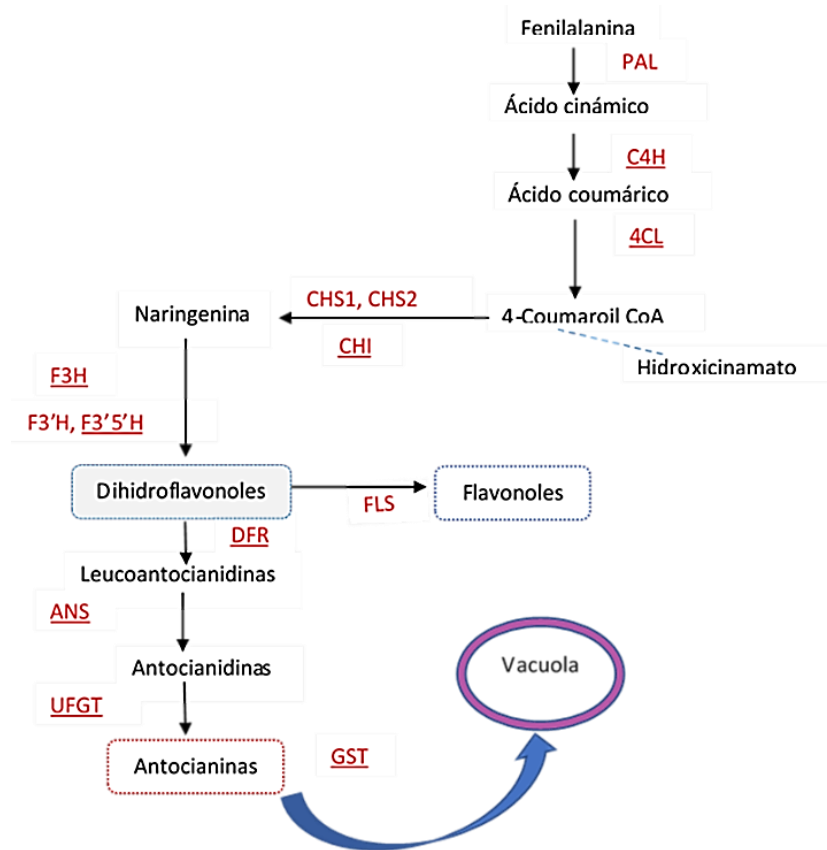


Figura 12. Representación esquemática de la ruta biosintética de flavonoides dirigida para antocianinas.

Fuente: (Carmona et al., 2017).

2.4.5.4 Regulación de biosíntesis de antocianinas.

Los dos grupos de genes en la ruta del metabolismo de antocianinas son; genes estructurales upstream (genes biosintéticos tempranos, EBGs) y genes estructurales downstream (genes biosintéticos tardíos, LBGs). Los EBGs incluyen *CHS*, *CHI* y *F3H*, mientras que *DFR*, *ANS* y *UFGT* pertenecen a LBGs (Petroni & Tonelli, 2011). *R2R3-MYB*, *bHLH* y *WD40* son los factores de transcripción (TFs) más importantes que regulan la síntesis de antocianinas (Xu et al., 2015).

En dicotiledóneas, el paso inicial que conduce a la biosíntesis de proantocinidina es catalizada por una *antocianidina reductasa (DFR)* enzima codificada por el gen *BANYUS (BAN)* y su patrón específico de expresión es principalmente otorgada por TT2, al factor de transcripción *R2R3MYB* que codifica por el gen *TRANSPARENT TESTA 2* (Baudry et al., 2004; Nesi et al. (2000) han caracterizado dos genes adicionales reguladores, *TRANSPARENT TESTA8 (TT8)* y *TRANSPARENT TESTA GLABRA 1 (TTG1)* que participa en el control de la expresión de *BAN*. Igualmente, otro número de *MYB* (producción de pigmento de antocianina 1,2; *PAP 1* y *PAP 2*), y *bHLH (GLABRA 3, GL3* y potenciador de *GLABRA 3, EGL3*) ha sido estudiado en la biosíntesis de antocianina en *A. thaliana* (Baudry et al., 2004; Feller et al., 2011; Petroni and Tonelli, 2011).

Los genes *PAP1 (R2R3 MYB)* son también identificados para regular la biosíntesis de antocianinas por unión directamente a *G* y *ACE-boxes* en la región del promotor de *HY5* (un componente de señalización luz en la ruta). La acción cooperativa *bHLH* de la proteína *R* y *MYB* proteína *C1 (complejo C1/R)* se ha sugerido como factor crítico para la expresión de gen *AI (DFR)* a través del aumento de la acetilación de histona *H3 (K9/K14)* en esta unión del del sitio del promotor (Hernández et al., 2007). Otros estudios de la familia de factores de transcripción *MYB (VvMYBA1 y VvMYBA2)* se ha encontrado que regulan la expresión del gen *UFGT* de la biosíntesis de antocianinas (Cutanda-Pérez et al., 2009; He et al., 2010).

De manera similar dos genes *StMYB44 (R2R3 MYB factores de transcripción)* se ha encontrado que regulan la expresión de antocianinas en *Malus* manzano silvestre.

Fitohormonas reguladoras de enzimas de la ruta de antocianinas

Las fitohormonas regulan varios procesos celulares desarrollados en plantas incluyendo la biosíntesis de antocianinas. Debido a su alta potencia para modular el metabolismo de las plantas dirigidas a estos como elicitores químicos para mejorar la producción de antocianinas in vitro (He et al., 2010).

Se ha encontrado que el ácido abscísico mejora la biosíntesis de antocianinas complementada por una mayor expresión de varios genes estructurales (*CHS*, *CHI*, *DFR* y *UFGT*) (Jeong et al., 2004). El etileno participa en la maduración de la fruta y también aumenta los niveles de antocianinas junto con la regulación positiva de los genes *CHS*, *F3H*, *ANS*, *UFGT* aunque no afecta la expresión de *DFR*.

Otra hormona del estrés, el jasmonato de metilo también estimula la biosíntesis de antocianinas, así como la expresión de *CHS* y *UFGT* en cultivos de uva (Belhadj et al., 2008).

El ácido salicílico induce la expresión de *PAL*, por lo que podrían considerarse como un regulador positivo de la biosíntesis de antocianinas (Wen et al., 2005).

La actividad de *PAL* y *CHS* se encontró que se ven afectadas por la luz lo que da como resultado una modulación en la biosíntesis de antocianinas (Zhang et al., 2002) la luz induce la expresión de niveles de factores regulatorios y genes estructurales relacionados con la biosíntesis de antocianinas (Zhang et al., 2018). En manzanas baja exposición a la luz, baja temperatura (16°C) induce la expresión de *MYB10* y *bHLH3/33* y otros genes estructurales, mientras que la alta exposición de temperatura (32°C) induce la expresión de *MYB16* las cuales muestran un efecto negativo en la síntesis de antocianinas. (Wang et al., 2016).

2.4.5.5 Enzimas de la biosíntesis de antocianinas (PAL, CHS y UFGT)

PAL

La vía general de los fenilpropanoides en las plantas está ligada a la vía del shikimato, que produce aminoácidos aromáticos a partir del metabolismo central del carbono. Los principales fenoles presentes en las frutas pertenecen a los subgrupos de ácidos fenólicos (hidroxibenzoatos e hidroxinamatos) y flavonoides, el precursor de la mayoría de los compuestos fenólicos de la fruta es el aminoácido aromático L-fenilalanina la biosíntesis de fenilalanina ocurre mediante el shikimato. La ruta del shikimato inicia con la condensación

de eritrosa 4-fosfato (un intermediario de las pentosas fosfato) y fosfoenolpiruvato (PEP, un intermediario glicolítico) para producir deoxi-arabino-heptulosa 7-fosfato, el cual después se convierte a ácido shikímico. La fenilalanina es desaminada por la acción de la fenilalanina amonio liasa (PAL) produciendo ácido cinámico. La PAL es una proteína tetramérica *in vivo* de 270-330 kDa, es considerada como una enzima clave reguladora de la ruta de biosíntesis de antocianinas (Lurie, 2008). PAL tiene dos segmentos estructurales; una extensión N-terminal móvil la cual probablemente ancla la enzima e interactúa con otros componentes celulares y un dominio protector específico ubicado sobre el centro activo que probablemente controla la actividad de la enzima, tiene un cofactor 4-metildieno-imidazol-5-ona (MIO) en su sitio activo para la catálisis (Zhang & Liu, 2015). En frambuesa (*Rubus idaeus* L. cv Meeker) (A. Kumar & Ellis, 2001) reportaron 2 isoformas de PAL; el marco abierto de lectura para PAL I codifica un péptido de 710 aminoácidos con una masa molecular de 77.580 D y un punto isoeléctrico de 6.2, para PAL II el marco abierto de lectura codifica un polipéptido de 730 aminoácidos con una masa molecular de 79.356 D y un punto isoeléctrico de 5.9, las secuencias de aminoácidos son 88% similares entre sí. El análisis cuantitativo reveló que el ARNm de RiPAL 1 es más abundante comparado con PAL II en la mayoría de los tejidos raíces (3.3), brotes (11.5), hojas (4.4), flores (2.9) y frutos (4.2).

Phenylalanine ammonia-lyase 1 (PAL 1) Q9M568 es una proteína anotada (UniprotKB reviewed (Swiss-prot)) con una puntuación 3/5. Formada por 710 aminoácidos codificada por el gen PAL 1 en *Rubus idaeus* cuya función es catalizar la reacción en la biosíntesis a partir de L-fenilalanina de una amplia variedad de productos naturales basados en el esqueleto de fenilpropano cuya actividad catalítica es $L\text{-fenilalanina} = \text{trans-Cinamato} + \text{NH}_4^+$, tiene un sitio activo en la posición 102 Tyr. Contiene 5 sitios de unión (254 N, 342 Q, 348 R, 378 N, 481 N, la enzima contiene un cofactor 3,5-dihidro-5-metilideno-4H-imidazol-4-1 (MIO) este único cofactor se forma autocatalíticamente por la ciclación y deshidratación de tres residuos de aminoácidos Ala-Ser-Gly (Wang et al., 2022). Posee un dominio *Lyase-aromatic 1* (57-523) (McIntyre & Birney, 2022)

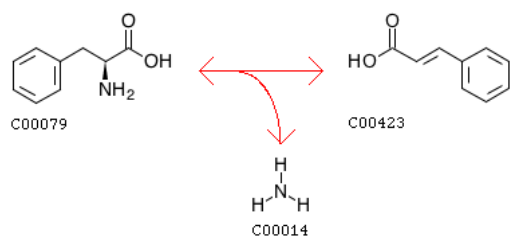


Figura 13. Reacción que cataliza la enzima PAL1



Fuente: (Kanehisa, 2022).

CHS.

La biosíntesis de antocianinas inicia por la condensación de tres moléculas de malonil CoA con *p*-coumaroil CoA para formar tetrahidroxicalconas, mediado por la enzima chalcona sintasa las tetrahidroxicalconas son la estructura base de flavonoides C₆-C₃-C₆, con dos grupos fenil separados por la unión de tres carbonos (Lurie, 2008) como se muestra a continuación en la fig.13.

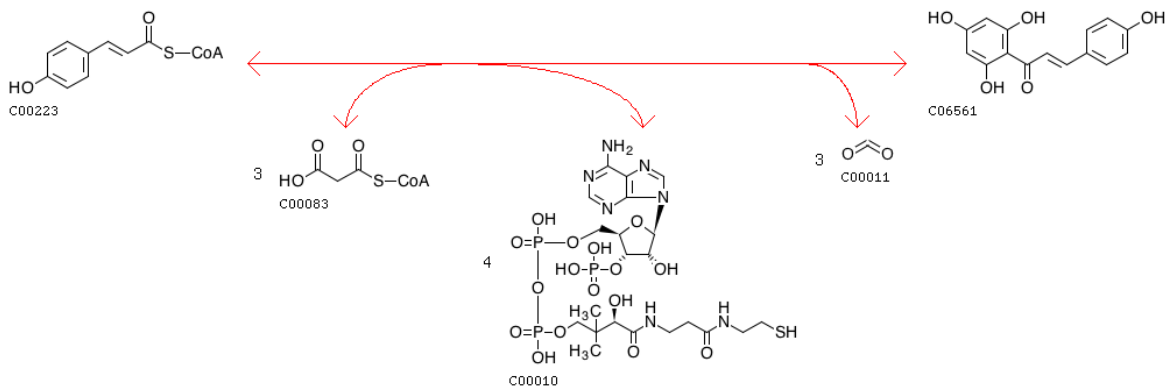
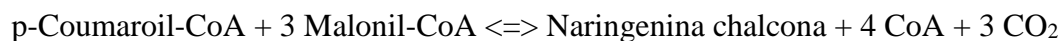


Figura 14. Reacción catalizada por *CHS*



(Kanehisa, 2022).

Chalcona sintasa es una enzima homodimérica con un tamaño de monómero de 42-45 kDa. En frambuesa (Amrita Kumar & Ellis, 2003) reportaron que contienen 11 diferentes genes de Policétidos sintasa (*RiPKS1-RiPKS11*), sin embargo *RiPKS5* mostró altos niveles de transcripción en hojas, flores, raíces, brotes y frutos. Basados en el análisis de reacción de productos, RiPKS5 es una típica chalcona sintasa la cual prefiere p-Coumaril CoA como sustrato (Zheng & Hrazdina, 2008). Policétido sintasa 5 (*PKS5*) es una proteína anotada (UniprotKB reviewed (Swiss-prot)) con una puntuación 3/5. Formada por 391 aminoácidos codificada por el gen *PKS5* en *Rubus idaeus* cuya función es producir naringenina chalcona utilizando como sustrato *p-Coumaroil-CoA* con una actividad catalítica de $4\text{-cumaroil-CoA} + 2\text{H}^+ + 3\text{malonil CoA} = 2',4,4',6'\text{-tetrahidroxichalcona} + 3\text{CO}_2 + 4\text{CoA}$, tiene un sitio activo en la posición 164 Cys (Wang et al., 2022). Posee dos dominios *Chal_sti_synt_C* (238-387) y *Chal_sti_synt_N* (5-228) (McIntyre & Birney, 2022)

UFGT

La glicosilación es una importante modificación para incrementar estabilidad e hidrofiliidad de flavonoides hidrofóbicos. La acumulación de antocianinas se ve disminuida por la deficiencia de la actividad de glucosiltransferasas porque son inestables bajo condiciones fisiológicas. La glicosilación es esencial para la estabilidad del color porque la acilación aromática que es clave en la estabilidad de color está unida a grupos glicosil de antocianinas, el color de anthocianidinas glicosiladas es inestable en solución acuosa a valores de pH en medio ácido a menos que grupos aromáticos acil sean añadidos. La acilación es también una señal para el transporte vacuolar. La familia de glucosiltransferasas usan flavonoides como aceptor de azúcar y UDP- azúcares como donador de azúcar, reconocen los grupos hidroxilo de una amplia variedad de agliconas de flavonoides incluyendo antocianinas (Gould et al., 2009).

3. JUSTIFICACIÓN

La frambuesa es un fruto importante con características nutricionales requeridas por la población, ello ha llevado al aumento de producción para consumo en fresco principalmente. Sin embargo, factores como la luz, la temperatura, el calor, el oxígeno, el dióxido de carbono, el pH y la humedad interfieren positiva o negativamente en la vida de anaquel.

Se han buscado tecnologías que permitan la retención de atributos (color, olor, sabor, textura, apariencia física) y propiedades químicas (Compuestos fenólicos, elagitaninos, antocianinas, vitaminas) del fruto durante el almacenamiento. Una de estas tecnologías es el uso de atmósferas controladas la cual ha permitido a través del control de gases y bajas temperaturas en almacenamiento extender la vida de anaquel.

Sin embargo, al utilizar esta tecnología se ha observado que uno de los parámetros de calidad que se ven afectados es el color, el cual es impartido por la concentración de antocianinas las cuales se han visto inhibidas en frutos almacenados bajo estas condiciones. Se ha propuesto que el aumento en la concentración de CO₂ y disminución de O₂ puede inhibir algunas enzimas de la ruta de síntesis de antocianinas.

Por ello es importante identificar los cambios en el contenido de antocianinas que afectan el color de frambuesa durante el almacenamiento en atmósferas controladas y su posible relación con parámetros fisicoquímicos y la vida de anaquel de los frutos.

OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de atmósferas controladas en los cambios de color y vida de anaquel de frambuesa roja (*Rubus idaeus*).

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar los parámetros de calidad (color, firmeza, pérdida de peso, acidez y sólidos totales) de los frutos de frambuesa almacenados bajo atmósferas controladas durante 3 y 16 días.
2. Cuantificar los cambios en el contenido de compuestos fenólicos (fenoles totales y antocianinas monoméricas) en frutos de frambuesa almacenados en atmósferas controladas.
3. Determinar los cambios en el perfil de antocianinas en frutos de frambuesa almacenados en atmósferas controladas y su relación con el color y vida de anaquel.

5. METODOLOGÍA

5.1 Material biológico

Frutos de frambuesa (*Rubus Idaeus*) ‘Adelita’ fueron cosechados en febrero del 2022 en un campo comercial ubicado en Zamora Michoacán 19°53’22” de latitud norte y 102°13’13” de longitud oeste y una altitud de 1684 msnm a una temperatura de 15°C y 54%HR.

Se utilizó la tecnología de almacenamiento en atmósferas controladas, la cual se llevó a cabo en el equipo *Control-Tec*[®] *Cam Research* de la marca *Técnidex, Fruit Protection, S.A.U.*. Este equipo contó con cabinas estancas, con sistemas de homogenización de la atmósfera en la cabina, en la cual se regularon los parámetros de temperatura, humedad relativa, concentración de gases (aire, N₂ y CO₂), también se hizo un monitoreo de los parámetros antes mencionados en tiempo real y mediante una aplicación informática.

5.2 Estrategia experimental.

Para cumplir con los objetivos planteados, frutos de frambuesa de la variedad ‘Adelita’ fueron transportados en clamshells de 170g (13°C y 79%HR) al laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro donde se almacenaron a 1 °C durante 24 horas para posteriormente realizar la aplicación de tratamientos.

Durante 16 días se evaluaron dos tratamientos de atmósfera y el control al aire, teniendo un total de 3 tratamientos. Los frutos fueron almacenados a una temperatura de 4°C con 15 % de CO₂ y 10 % de O₂ durante 3 y 16 días. La exposición continua en atmósfera controlada (16d), exposición de 3 días en atmósfera controlada y el control en el aire. Se realizaron 4 muestreos correspondientes a los días 0, 3, 7, 14 en donde cada día de muestreo se tomaron 9 frutos de 9 clamshells para la determinación de color, 9 frutos para determinar textura,

grados Brix, pH y acidez y 20 g (aproximadamente 9 frutos) para fenoles totales, antocianinas poliméricas y perfil de antocianinas.

5.3 Parámetros de calidad

5.3.1 Tasa de respiración

La tasa de respiración fue determinada durante el tiempo de almacenamiento. La velocidad de respiración se midió cuantificando el CO₂ utilizando un sistema cerrado (Tezotto-Uliana et al., 2018). Para ello 6 frutos fueron colocados en recipientes herméticos de 200 mL, provistos de septos de silicona, los frascos fueron cerrados durante 60 minutos respectivamente, transcurrido este tiempo se tomaron lecturas del espacio de la cabeza de los recipientes. La cuantificación de CO₂ se realizó mediante un detector instantáneo marca Mocon modelo 0417ED584, los resultados fueron expresados como mL de CO₂ kg⁻¹h⁻¹

5.3.2 Pérdida de peso

La pérdida de peso fue determinada a través de una balanza analítica, los clamshell fueron pesados los días correspondientes a cada muestreo. La diferencia de peso fue dividida entre el peso inicial multiplicado por 100, los resultados fueron expresados como % de pérdida de peso (Krüger et al., 2011).

%

5.3.3 Color

El color fue medido por colorimetría triestímulo y expresado en términos de (CIELAB) espacio de color (1976 L*a*b* espacio de color), este es un estándar internacional para medir color, recomendado por la comisión internacional de iluminación (CIE) en 1976. Dentro de CIELAB L* es un atributo cualitativo de luminosidad relativa y rangos entre negro (L* = 0) y blanco (L*=100). Coordenada a* toma valores positivos para colores rojos y valores negativos para colores verdes y b* valores positivos para amarillo y negativos para azules.

d

e

p

La evaluación del color fue realizada con un colorímetro Minolta Osaka-Light CM-2002 el cual fue previamente calibrado al aire y con un blanco estándar (Mazur et al., 2014) para posteriormente hacer las mediciones correspondientes a las muestras. 9 frutos de cada clamshell fueron evaluados.

5.3.4 Firmeza

La textura fue evaluada a través de un analizador de textura (Brookfield CT3 25K) previamente calibrado usando una sonda de acero inoxidable de 36 mm de diámetro. El fruto se colocó sobre una placa de aluminio, la sonda bajo hasta comprimir un 20 % sobre el vértice del fruto. Los resultados fueron expresados como la fuerza necesaria (expresada en Newtons) para comprimir el fruto. (Giovanelli et al., 2014).

5.3.5 Sólidos solubles pH y acidez titulable

La acidez titulable se determinó mediante el método AOAC (1990) con algunas modificaciones, se pesarán 5 g de fruta y se agregó 5 mL de agua destilada, se homogenizó con un Ultra Turrax (T25), el homogenizado fue centrifugado, posteriormente se filtró. Al filtrado se le determinaron los sólidos solubles con un refractómetro digital. Para la determinación de acidez y pH se tomó una alícuota de 100 μ L, se aforo a 10mL con agua destilada, se midió el pH y a continuación, se tituló con NaOH 0.1N hasta alcanzar un pH de 8.2. Los resultados fueron expresados como % de ácido cítrico por cada 100 g de muestra.

%

a

c

i

d

e

z

=

5.4 Cuantificación de compuestos fenólicos

5.4.1 Extracción de compuestos fenólicos

El contenido de compuestos fenólicos se hizo como lo describe (González-Orozco, 2018). Se pesaron 5 g de polvo de frambuesa, se agregaron 20 mL de metanol acidificado (0.1:80:19.9, ácido fórmico, metanol y agua, V/V/V), se homogenizo por 1 minuto en ultraturrax, se mantuvo en agitación durante 1h a temperatura ambiente, se centrifugo a 13,500 rpm por 10 minutos a 4°C, se filtró el sobrenadante, al precipitado se le realizó una segunda extracción con 20 mL de etanol acidificado, se agitó en vórtex por 1 minuto y centrifugo a las mismas condiciones, se filtró y mezcló con el sobrenadante anterior, se almaceno a -20°C.

5.4.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Compuestos fenólicos totales fueron determinados mediante una modificación del método de Folin-Ciocalteu, método desarrollado por Singleton y Rossi (1965). Se tomaron 200 μ L del extracto, se agregaron 200 μ L de metanol acidificado, se añadió 200 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu más 1 mL de agua destilada, se dejó reposar por 5 minutos, se añadió 2 μ L de carbonato de sodio al 7.5% y 1.4 mL de agua destilada y se dejó reposar durante 1 h en oscuridad. Posteriormente, fue medida la absorbancia a 750 nm. Se realizó una curva de calibración de ácido gálico con diluciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.12, 0.14 y 0.16 mg/mL. los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico por kg de peso de la fruta (mg kg^{-1} FW)

5.4.3 Antocianinas monoméricas totales y poliméricas

Antocianinas monoméricas totales por método de pH diferencial de este método se basó en el hecho de que las antocianinas, pero no otros pigmentos absorben la luz a 510 nm a pH 1.0 pero no a pH 4.5, las muestras de antocianinas fueron diluidas con solución pH 1.0 y 4.5 seguida por determinación de la absorción a 510 nm. El contenido total de antocianinas monoméricas pudo ser calculado de las diferencias de absorbancias entre las dos soluciones usadas.

El total de antocianinas monoméricas fueron determinadas usando el método de pH diferencial referido como un método estándar por AOAC 2005.02 fueron preparados los buffers de pH1 (0.025M cloruro de potasio) y pH 4 (0.4M acetato de sodio) ajustando el pH con HCl. 600 μ L del extracto fueron combinados con 2.4 mL de buffer y mezclar. Después de equilibrar a temperatura ambiente en oscuridad por 15 min, la absorbancia a 510, 520 y 700 nm fue leída en un espectrofotómetro UV-visible. La concentración de antocianinas monoméricas fue calculada usando la siguiente formula:

$$\text{mg cyd-3-glu L}^{-1} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l),$$

donde

$$A = (\text{pH}_1: \text{ABS}_{510\text{nm}} - \text{ABS}_{700\text{nm}}) - (\text{pH}_{4.5}: \text{ABS}_{510\text{nm}} - \text{ABS}_{700\text{nm}})$$

DF = factor de dilución (10X siguiendo el procedimiento dado)

MW = peso molecular (449.38 g mol⁻¹)

ϵ = coeficiente de extinción molar (26,900 M⁻¹ cm⁻¹) para cianidina-3-glucosido

l = longitud de la ruta (1cm)

Antocianinas poliméricas

Los índices para degradación de antocianinas de un extracto acuoso, jugo o vino pueden ser derivado de una lectura de absorbancia de una muestra que ha sido tratada con bisulfito de sodio. Los pigmentos de antocianinas fueron combinados con bisulfito para formar un incoloro ácido sulfónico. El colorido polimerizado del complejo antocianina-tanino fueron resistentes al blanqueamiento con bisulfito, mientras que las antocianinas monoméricas no resistieron a este blanqueamiento. La absorbancia a 420 nm de las muestras tratadas con bisulfito sirvieron como un índice de oscurecimiento. La intensidad de color fue definida como la suma de las absorbancias a $\lambda_{\text{vis-max}}$ y 420 nm.

Se tomó 400 µL del extracto, se agregó 2 400 µL de buffer pH 1 para cada una de las curvas, añadí 200 µL de solución de bisulfato para una y 200 µL de agua destilada para la otra. Se dejó reposar por 15 min. Se midió la absorbancia de ambas muestras a 420, 510 y 700 nm.

Para calcular la densidad de color de la muestra control (tratada con agua) se empleó la siguiente formula.

$$\text{Densidad de color} = [(A_{420\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}}) + (A_{510\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})] \times \text{DF}$$

Para calcular el color polimérico de las muestras blanqueadas se utilizó la siguiente formula.

$$\text{Color polimérico} = [(A_{420\text{ no}} - A_{700\text{ nm}}) + (A_{510\text{ no}} - A_{700\text{ no}})] \times \text{DF}$$

El porcentaje de color polimérico es igual a el color polimérico entre la densidad de color por 100.

5.4.4 Perfil de antocianinas

Se concentró en rota vapor 10 mil del extracto a 40°C durante 20 minutos. Se inyectó 30 µL de muestra a 4 °C en una columna de fase reversa C-18 (Phenomenex C18 250 mm x 4.6 mm, 5 µm) y se midió a una absorbancia de 520 nm. Para este análisis se utilizó un gradiente de concentración utilizando dos fases móviles, el solvente A ácido fórmico 0.1% en agua, el solvente B acetonitrilo (100%) siguiendo el gradiente mostrado a continuación. La velocidad de flujo fue de 0.5 mL/min.

Tabla 6. Gradiente HPLC para la determinación de antocianinas.

Tiempo (min)	Solvente A	Solvente B
0	98	2
40	80	20
45	0	100
55	98	2
60	98	2

5.5 Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño unifactorial completamente aleatorizado, en donde el factor a evaluar fue el tratamiento de AC a tres niveles AC1:10% O₂ y 15%CO₂ (por 3 días), AC2:10% O₂ y 15% CO₂ por todo el almacenamiento y un control negativo (aire). Para determinar si existen diferencias entre los tratamientos, se llevó a cabo un ANOVA y se compararon las medias por la prueba de Tukey-Kramer ($\alpha= 0.05$), usando el paquete estadístico JMP 6.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Cambios de color durante el almacenamiento

El color es el primer parámetro que atrae a un consumidor por un producto. Por eso, frutos que muestran colores *hue* amarillo-naranja-rojo son preferidos por el consumidor. La composición de antocianinas y carotenoides en un fruto determinará las características de calidad de color. Los consumidores también asocian lo profundo del color con el gusto, con que este es influenciado por experiencias prácticas. En general los frutos que son rojo brillante son también dulces (Lurie, 2008).

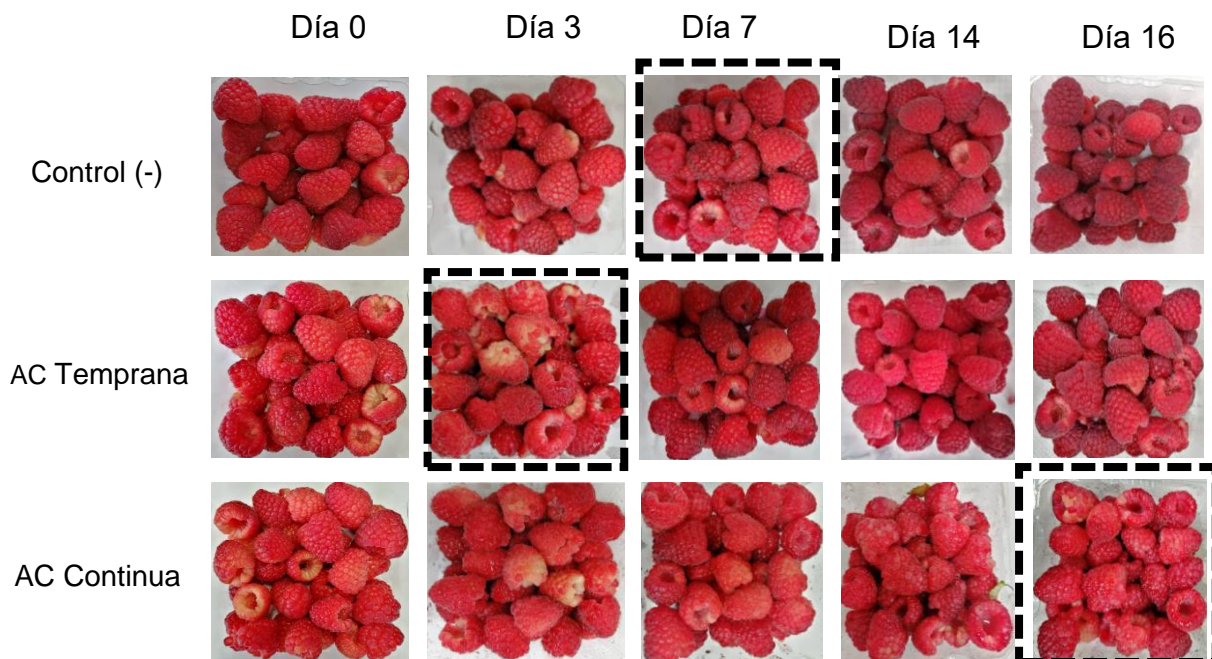


Figura 15 Cambios de color durante el almacenamiento en atmósferas controladas a 4°C.

Las imágenes que se muestran a continuación corresponden al almacenamiento de frutos de frambuesa almacenados a 4°C durante 16 días bajo atmósferas controladas temprana (ACT) y continua (ACC) así como el control al aire (C).

Los frutos control mantuvieron su coloración y calidad aceptables hasta el día 7, posterior a ello su apariencia visual se vio deteriorada, observándose un color rojo oscuro (sobremaduro) y además presento moho. Mientras que las imágenes para la atmósfera temprana y continua se observa un cambio importante el día 3, algunas drupelas se ven decoloradas y otras mantienen el color rojo brillante-naranja, sin embargo, en ACT las drupelas recuperan su color rojo como se observa en la imagen en los días 7,14 y 16. Por el contrario para ACC incrementa el número de drupelas decoloradas hasta el día 16 del tratamiento.

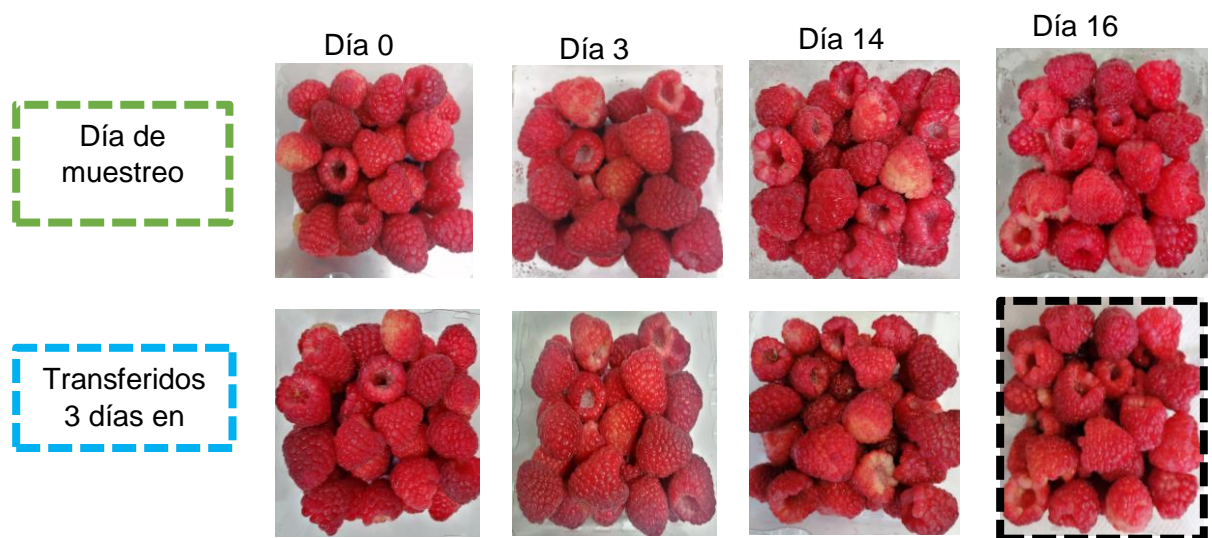


Figura 16 Cambios de color durante el almacenamiento después de 3 días en AC a 4°C y sus transferencias en aire.

En la Figura 22 se muestran los cambios en los frutos de frambuesa almacenados a 4°C durante 16 días bajo atmósfera controlada continua así como 3 días después de que los frutos fueron transferidos al aire.

En las muestras tratadas por 3 días, se observa que después de que los frutos son transferidos al aire nuevamente toman su coloración roja de manera más uniforme pero en los días 14 y 16 del muestreo y su transferencia 3 días después, los frutos no retoman la coloración

uniforme, es decir, se ven drupelas todavía decoloradas en algunos frutos, indicando una posible inhibición de la síntesis de antocianinas.

Tabla 7 Parámetros de color de frutos de frambuesa sometidos a tratamientos de atmósfera controlada (temprana continua) y control negativo (aire) almacenados a 1°C por 14 días

Variable	Periodo de almacenamiento en días				
	0	3	7	14	16
L					
Control (-)	35.64 ± 0.86 ^a	31.53 ± 0.35 ^a	29.59 ± 0.49 ^a	27.32 ± 0.31 ^a	27.44 ± 0.31 ^a
ACT	32.20 ± 1.05 ^a	31.20 ± 0.47 ^a	28.55 ± 1.08 ^a	27.85 ± 0.17 ^a	29.69 ± 0.38 ^a
ACC	35.06 ± 0.79 ^a	31.52 ± 0.98 ^a	33.06 ± 0.82 ^a	30.46 ± 0.38 ^a	29.75 ± 0.98 ^a
Chroma					
Control (-)	23.62 ± 0.88 ^c	27.77 ± 1.22 ^c	22.87 ± 0.77 ^c	25.85 ± 1.77 ^c	22.24 ± 0.71 ^c
ACT	29.29 ± 1.94 ^b	30.41 ± 1.57 ^b	27.23 ± 1.76 ^b	21.69 ± 0.5 ^{b*}	24.53 ± 0.91 ^b
ACC	25.22 ± 1.05 ^a	32.07 ± 1.55 ^a	33.62 ± 0.86 ^a	29.38 ± 1.12 ^a	33.28 ± 0.75 ^a
Hue					
Control (-)	22.97 ± 1.38 ^c	23.26 ± 0.30 ^c	19.49 ± 0.47 ^c	21.37 ± 1.02 ^c	20.94 ± 0.49 ^c
ACT	25.12 ± 1.62 ^b	29.03 ± 1.44 ^b	24.10 ± 0.77 ^b	23.04 ± 0.04 ^b	22.43 ± 1.01 ^b
ACC	21.82 ± 1.30 ^a	30.45 ± 0.78 ^a	29.40 ± 0.45 ^a	26.99 ± 0.45 ^a	28.17 ± 0.24 ^a

Datos expresados como la media ± el error estándar. Valores con * indican la diferencia estadística entre tratamientos ($\alpha = 0.05$) mediante la prueba de Tukey.

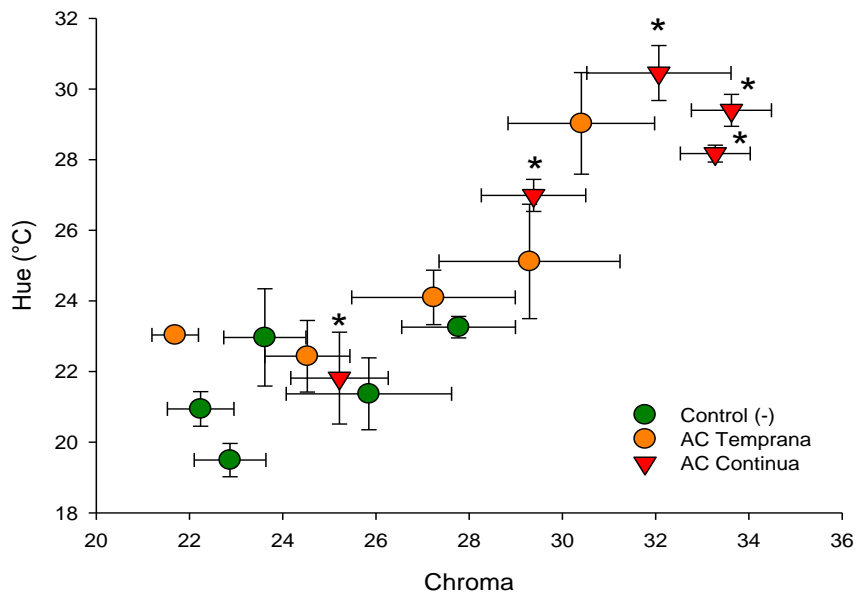


Figura 17 Cambios en los parámetros de *Chroma* y *hue* de frutos de frambuesa almacenados a 4°C. Datos expresados como la media \pm el error estándar. Valores con * indican la diferencia estadística entre tratamientos ($\alpha = 0.05$) mediante la prueba de Tukey.

Los valores de *chroma* y *hue* (Tabla. 17) de los frutos control disminuyeron continuamente durante el periodo de almacenamiento 22 y 19 respectivamente observándose un cambio de rojo intenso a color rojo oscuro con menor intensidad, especialmente después del día 7. Sin embargo, en la atmósfera temprana el *chroma* disminuye a partir del día 14 (21.69) y el *hue* presentó una disminución a partir del día 7 (24.10) que es cuando las drupelas decoloradas retoman el color rojo nuevamente, mientras que en la atmósfera continua estos valores son significativamente más altos que los frutos control a partir del día 3 y se mantienen hasta el día 16 del almacenamiento, su coloración es rojo más intenso (*chroma* 33-29) y los altos valores de *hue* (30-28) muestran colores acercándose a los naranjas (Figura 21). En cuanto a los valores de luminosidad (L^*) no muestran diferencias significativas entre medias de los tratamientos. En frutos de fresa tratados con 20% de CO_2 se retrasó el decremento de valores L^* y *hue* (Li et al., 2018) sin embargo (Haffner et al., 2002) reportó que no tuvo una influencia significativa en los parámetros de color en frambuesa roja almacenada durante 7 días con 10% O_2 y 15% CO_2 . (González Orozco, 2018) reportó un valor de luminosidad para el tratamiento continuo de 35.0 al día 14 del almacenamiento mientras que para *hue* valores de 29.6 así como *chroma* con valor de 39, por lo que los frutos presentaban colores más amarillos y menos rojos y colores más vivos característicos de frutos con menor estado de senescencia.

6.2. Cambio en los parámetros fisicoquímicos

6.2.1 Pérdida de Peso

En cuanto a la pérdida de peso no se encontraron diferencias significativas entre los frutos control y el almacenamiento en AC Temprana. En los frutos control se registró una pérdida de 9.72% al final del almacenamiento, un comportamiento similar fue observado en la atmósfera temprana con una pérdida del 10% , sin embargo, en éste último caso la pérdida

de peso se observó a partir del día 7, tres días después de transferidos los frutos al aire. En cuanto a la atmósfera continua registro una ganancia de peso (12.94%) al finalizar el almacenamiento (tabla 18) lo cual pudo deberse a la condición de humedad relativa constante en la cabina de AC y la condensación en la misma.

Tabla 8 Parámetros de calidad de frambuesa durante el almacenamiento a 4°C

Variable	Periodo de almacenamiento en días				
	0	3	7	14	16
% Pérdida de peso					
Control (-)	0	2.33±0.33 ^a	4.69±0.27 ^a	9.26±0.70 ^a	9.72±0.48 ^a
ACT	0	3.19±0.20 ^a	1.32±0.34 ^a	9.34±0.48 ^a	10.07±0.32 ^a
ACC	0	-7.23±0.61 ^b	-7.52±0.39 ^b	-15.61±0.25 ^b	-12.94±0.36 ^b
Textura (N)					
Control(-)	2.51±0.10 ^b	2.17±0.10 ^b	1.13±0.12 ^b	1.14±0.06 ^b	1.23±0.04 ^b
ACT	2.87±0.25 ^{ab}	2.52±0.06 ^{ab}	1.46±0.09 ^{ab}	1.22±0.03 ^{ab}	1.85±0.13 ^{ab}
ACC	2.37±0.39 ^a	3.06±0.34 ^a	1.77±0.33 ^a	1.74±0.10 ^a	2.17±0.11 ^a
%AT					
Control (-)	2.50±0.10 ^a	1.69±0.09 ^a	1.69±0.06 ^a	1.47±0.07 ^a	1.43±0.04 ^a
ACT	2.33±0.09 ^a	1.62±0.17 ^a	1.77±0.04 ^a	1.47±0.07 ^a	1.43±0.04 ^a
ACC	2.30±0.13 ^a	1.43±0.04 ^a	1.64±0.06 ^a	1.02±0.00 ^a	1.28±0.04 ^a
pH					
Control (-)	2.86±0.03 ^a	2.72±0.05 ^a	2.60±0.01 ^a	2.48±0.04 ^a	2.58±0.04 ^a
ACT	2.85±0.02 ^a	2.66±0.03 ^a	2.54±0.04 ^a	2.43±0.01 ^a	2.56±0.04 ^a
ACC	2.86±0.06 ^a	2.69±0.04 ^a	2.48±0.01 ^a	2.24±0.05 ^a	2.52±0.02 ^a
SST (%Brix)					
Control (-)	8.47±0.54 ^a	9.31±0.45 ^a	8.60±0.01 ^a	8.09±0.32 ^a	8.73±0.18 ^a
ACT	8.20±0.42 ^a	8.93±0.47 ^a	8.98±0.28 ^a	8.98±0.28 ^a	6.91±0.34 ^a
ACC	8.22±0.63 ^b	8.66±0.18 ^b	8.02±0.06 ^b	6.09±0.12 ^b	6.72±0.45 ^b

Datos expresados como la media ± el error estándar. Valores con diferente letra indican la diferencia estadística entre tratamientos ($\alpha = 0.05$) mediante la prueba de Tukey.

6.2.2 Firmeza

Se observaron cambios importantes de la firmeza expresada en (N), todos los tratamientos mostraron una disminución el día 7 del almacenamiento (Fig. 24), este parámetro se vio modificado en los frutos tratados con atmósferas controladas, principalmente en AC continua donde se obtuvo una firmeza al final del almacenamiento de 2.19 N, 73% más que los frutos

control, esto podría deberse al contenido de pectina en la pared celular del fruto y la baja expresión de genes de enzimas que degradan la pectina como son pectin metilesterasa, poligalacturonasa, celulasa y pectatoliasa (Hyang-Lan et al., 2021). En frambuesa almacenada (10% de O₂ + 15% CO₂ Hernández-Cerna (2020) reportó una alta actividad de pectato liasa, así como disminución de poligalacturonasa en los días 3 y 7, éste incremento se correlaciona con el incremento de la firmeza, debido a una disminución de la actividad de pectin metilesterasa responsable de la degradación de la pectina por la acción de atmósferas controladas, lo que favorece la formación de pectatos de calcio.

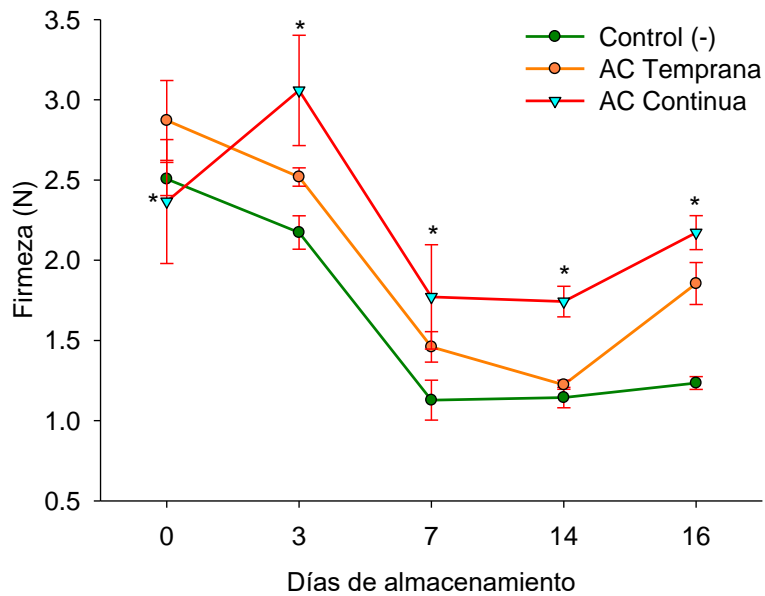


Figura 18 Efecto de las atmósferas controladas en la firmeza de frutos de frambuesa almacenados a 4°C durante 16 días.

Datos expresados como la media \pm el error estándar. Valores con * indican la diferencia estadística entre tratamientos ($\alpha = 0.05$) mediante la prueba de Tukey.

Las frutas pierden su humedad durante el manejo poscosecha debido a la transpiración, en donde se pierde agua a través de la superficie del producto; el agua es responsable de la

apariencia y textura de los productos frescos, si se pierde agua el producto quedará arrugado y de baja calidad (Sañudo-Barajas et al., 2018).

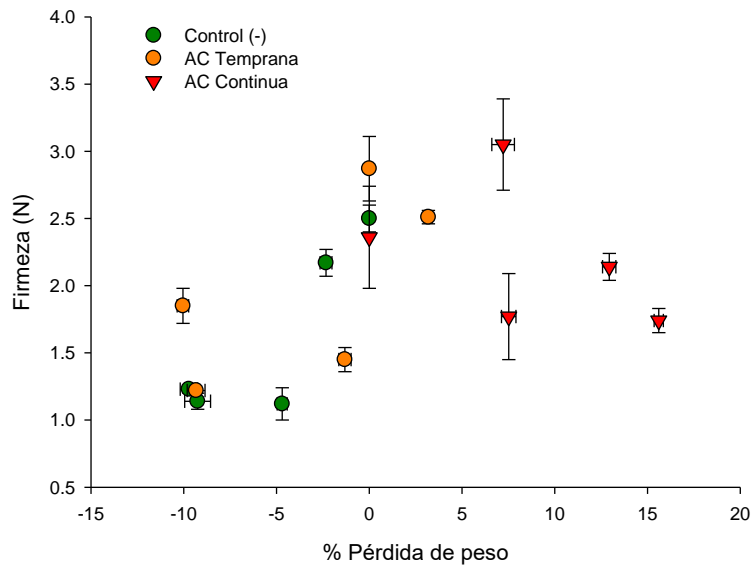


Figura 19. Correlación entre firmeza y pérdida de peso de frutos de frambuesa almacenados a 4°C.

Al evaluar la relación de la firmeza y pérdida de peso en los frutos, se observó que los frutos control al transcurrir el almacenamiento presentaron una mayor pérdida de peso y la textura disminuyó; un comportamiento similar ocurrió en la atmósfera temprana, sin embargo, para la atmósfera continua no se observó este comportamiento, ya que al transcurrir los días de almacenamiento su firmeza se vio disminuida, pero su ganancia en peso aumento (Fig. 25). Esto puede deberse a que la humedad dentro de la cabina de AC llegó a superar el 95 % debido a la condensación. En frutos de arándano tratados por hidrogenfrío obtuvieron una ganancia de peso de 5.5% después de dicho tratamiento (De et al., 2019). Por otro lado, (González-Orozco et al., 2020) reportó en frutos de frambuesa almacenados en atmósfera controlada continua una pérdida de peso del 3%, sin embargo en este trabajo se reportaron humedades relativas por debajo del 90 %.

6.2.3 Sólidos Solubles Totales (% SST)

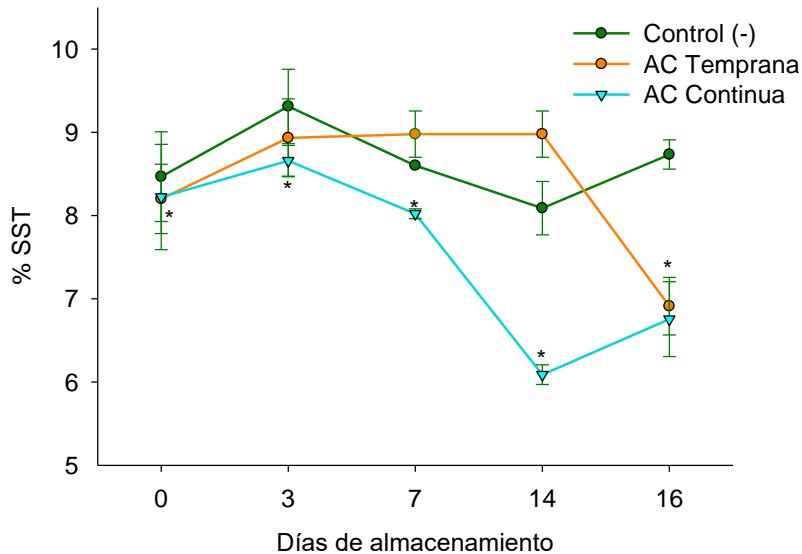


Figura 20 Sólidos solubles totales (%SST) en frutos de frambuesa durante el almacenamiento en atmósferas controladas a 4°C

Datos expresados como la media \pm el error estándar. Valores con * indican la diferencia estadística entre tratamientos ($\alpha = 0.05$) mediante la prueba de Tukey.

Los sólidos solubles totales en el tratamiento de atmósfera controlada temprana no presentaron diferencias significativas con respecto a los frutos control, no obstante, la ACT presentó una reducción de SST de 6.91°Brix en el día 16, menor que en los frutos control (8.73%). En cuanto a los frutos almacenados en AC continua arrojaron una reducción en el contenido de SST siendo más notorio a partir del día 7 comparado con el control 8.66 y 9.31 respectivamente y al finalizar el almacenamiento 8.73 y 6.72 %°Brix. (González Orozco, 2018) reportó con el tratamiento continuo un valor más alto (6.7%) de grados Brix en contraste con lo reportado por (Temocico et al., 2014) donde se almacenaron frutos de frambuesa bajo AC (4% CO₂), donde después de 13 días de almacenamiento los sólidos solubles se redujeron para las variedades ‘Glen Moy (20.09%), Vetem (19.29%) y para Willamette (24.88%) respectivamente, esta reducción podría deberse a la respiración en

donde se descomponen los azúcares en presencia de O_2 en CO_2 y H_2O para producir energía necesaria para realizar los procesos celulares que mantienen vivas las células (Sañudo-Barajas et al., 2018). Para el parámetro de % de acidez titulable y pH no se encontraron diferencias entre tratamientos y los frutos control lo que concuerda con lo reportado con (González Orozco, 2018) quien describió que el almacenamiento en atmósferas controladas ($10\%O_2 + 15\%$ de CO_2) no provocó cambios en estos parámetros. También similares resultados fueron reportados por Bodelón et al., (2010) en frutos de fresa almacenados a $0^\circ C$ bajo AC ($20\% CO_2$), donde no presentaron diferencias significativas comparado con los frutos control. (Harb et al., 2014).

6.3 Fitoquímicos

6.3.1 Fenoles Totales (FT)

La fruta de frambuesa contiene una amplia gama de compuestos polifenólicos que incluyen ácidos fenólicos, flavonoles, antocianinas, proantocianidinas y elagitaninos. El contenido total de polifenoles está relacionado con la capacidad total antioxidante, los niveles varían entre cultivares en un rango de 200-400 mg/100g de peso fresco (Graham & Brennan, 2018).

Para el contenido de fenoles totales no hubo diferencia significativa entre medias de los frutos almacenados en atmósfera normal y atmósfera controlada temprana (234 y 214 mg GAE /100 g PF) respectivamente, sin embargo para la atmósfera continua se encontró una disminución de fenoles totales de un 17% con respecto al control (Fig. 27).

Una reducción en el contenido fenólico en los tratamientos con CO_2 fue observado principalmente al día 3 del almacenamiento donde se tuvo una reducción de 20 y 10% en atmósfera temprana y continua respectivamente comparada con el control de ese mismo día. Para el día 7 en la ACT se observa una recuperación en el contenido de fenoles debido a que el día 3 fue retirado de la atmósfera, sin embargo, para el almacenamiento continuo la reducción incremento a un 25% con respecto al control. Al finalizar el almacenamiento (D16), los fenoles totales en el tratamiento continuo disminuyeron 34% respecto al control.

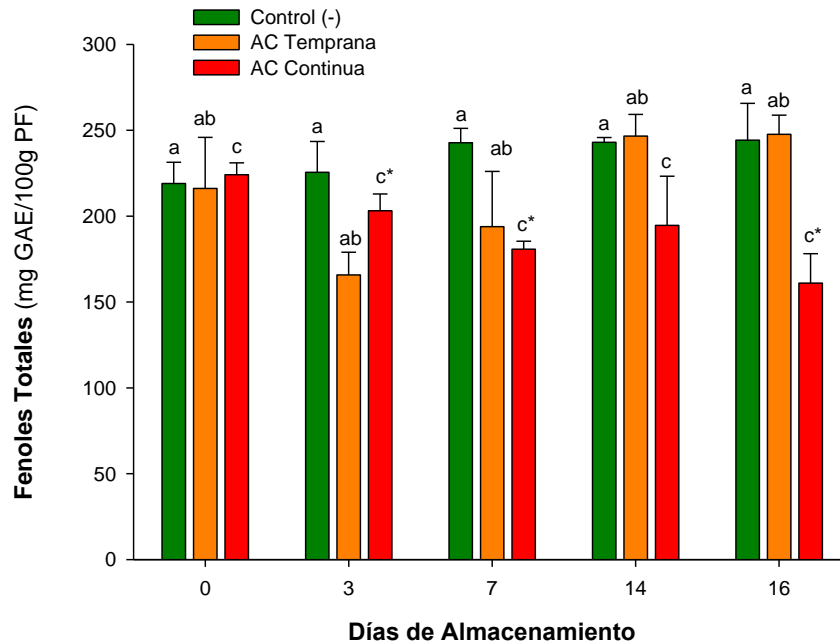


Figura 21. Cambio en el contenido de FT durante los tratamientos en AC

Datos expresados como la media \pm el error estándar. Valores con * indican la diferencia estadística entre tratamientos ($\alpha = 0.05$) mediante la prueba de Tukey.

En frutos de uva de mesa se reportó una reducción de compuestos fenólicos en frutos tratados con CO₂ (20 kPa CO₂ + 20kPa O₂ + 60 kPa N₂) por 3 días a baja temperatura 0°C (Romero et al., 2019). En frutos de litchi almacenados en atmósfera controlada con 5% O₂ +5% CO₂ durante 14 días, (Tian et al., 2005) reportó una disminución en el contenido fenólico de 40%. (Harb et al., 2014) reportó que el almacenamiento de arándanos ‘Duke’ a 18kPa de CO₂ retrasa significativamente la biosíntesis y acumulación de polifenoles de la ruta de flavonoides. Gil, et al., 1997 indica que un incremento en el pH del tejido interno causado por altas concentraciones de CO₂ puede ser causa de la degradación de antocianinas.

6.3.2 Antocianinas Monoméricas Totales (AMT)

El contenido de antocianinas incremento al día 16 en los frutos control y AC Temprana en un 40 y 47% respectivamente con respecto al inicio del almacenamiento, mientras que en el almacenamiento de AC Continua se vio reducido en un 35%. Las antocianinas monoméricas incrementaron gradualmente en los frutos almacenados al aire, mientras que en la AC temprana se mantuvieron hasta el día 14 donde se observó un incremento de 22%. Sin embargo, en la AC continua se redujeron a partir del día 7 del almacenamiento hasta un 31%.

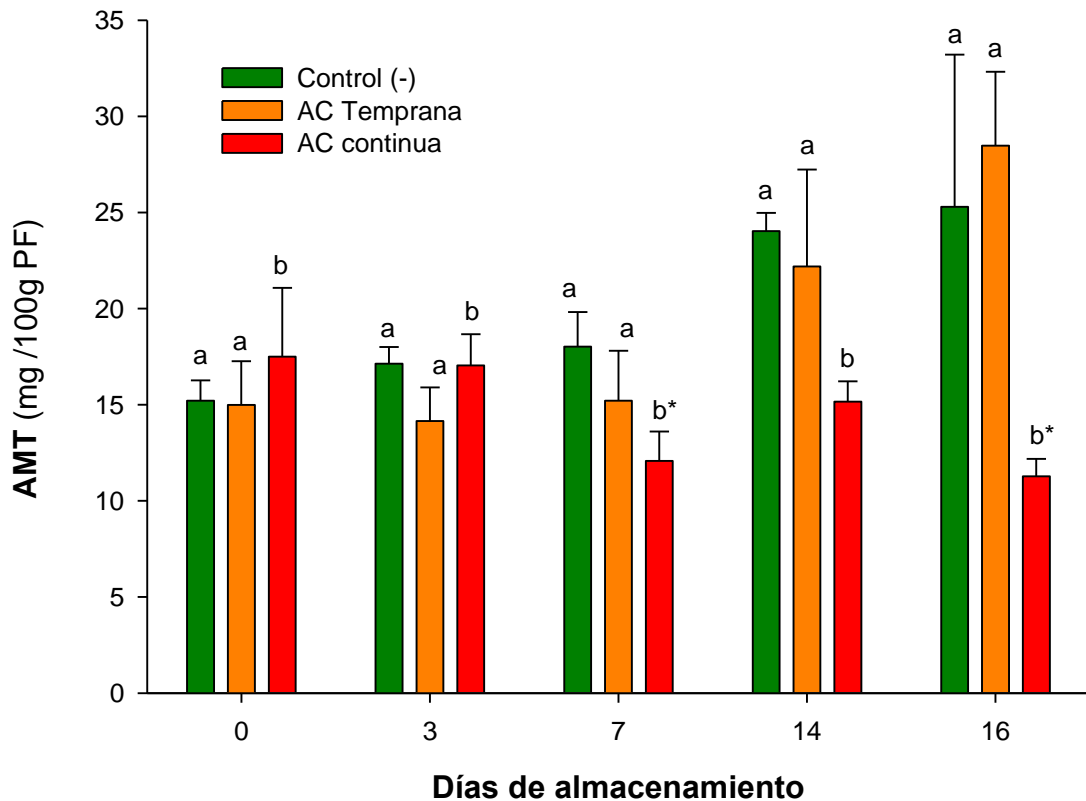


Figura 22 Cambios en el contenido de Antocianinas Monoméricas Totales (AMT) durante el almacenamiento en AC.

Datos expresados como la media \pm el error estándar. Valores con * indican la diferencia estadística entre tratamientos ($\alpha = 0.05$) mediante la prueba de Tukey.

En uvas de mesa tratadas con CO₂ no se observó efecto por el tratamiento (Romero et al., 2019) mientras que se ha observado con alto CO₂ (18kPa) y bajo O₂ el aumento de polifenoles (hexosidos de malvidina, Petunidina, cianidina y delphinidina) en frutos de arándano (Harb et al., 2014). El almacenamiento de frambuesa durante 7 días en AC (10%O₂ +15% de CO₂ y 10%O₂ + 30% de CO₂) redujo la concentración de antocianinas en un 14% y 23.71% respectivamente (Haffner et al., 2002). Similar a lo encontrado con un tratamiento con CO₂ que inhibió la síntesis de antocianinas en fresa, sin embargo, en este caso las antocianinas aumentaron después de transferir las frutas tratadas con CO₂ al aire (Li, Zhang, Li, et al., 2019) La síntesis de antocianinas continúa después de la cosecha, así como durante el almacenamiento en frío a largo plazo y se inhibe en frutos tratados con altas concentraciones de CO₂ (De Pascual-Teresa & Sanchez-Ballesta, 2008), lo cual coincide con nuestros hallazgos.

6.3.3 Perfil de antocianinas

El cromatograma no muestra cambios en el perfil de antocianinas (Fig 27 A) y B)) , se observan los mismos picos durante el almacenamiento tanto para los frutos control, como para los frutos almacenados bajo atmósfera controlada continua. Sin embargo, las concentraciones de cada pico se vieron modificadas durante los días de almacenamiento, en la Tabla 19 se muestran los picos representativos del perfil de antocianinas arrojado por el cromatograma, las concentraciones se reportan como mg de equivalentes de cianidina 3 glucósido, antocianina mayoritaria en frutos de frambuesa.

Para el pico 1y 3 no se identificaron diferencias estadísticas entre tratamientos. Para el pico 2 se muestran diferencias significativas entre los frutos control y frutos almacenados en

atmósfera continua principalmente al día 7, donde se observa una reducción de 168% en los frutos tratados y para el día 16 la reducción fue de 83% comparado con el control. Mientras que para el pico 4 al día 7 y al día 16 se ha observado una reducción de 54.52 y 74% en el tratamiento continuo.

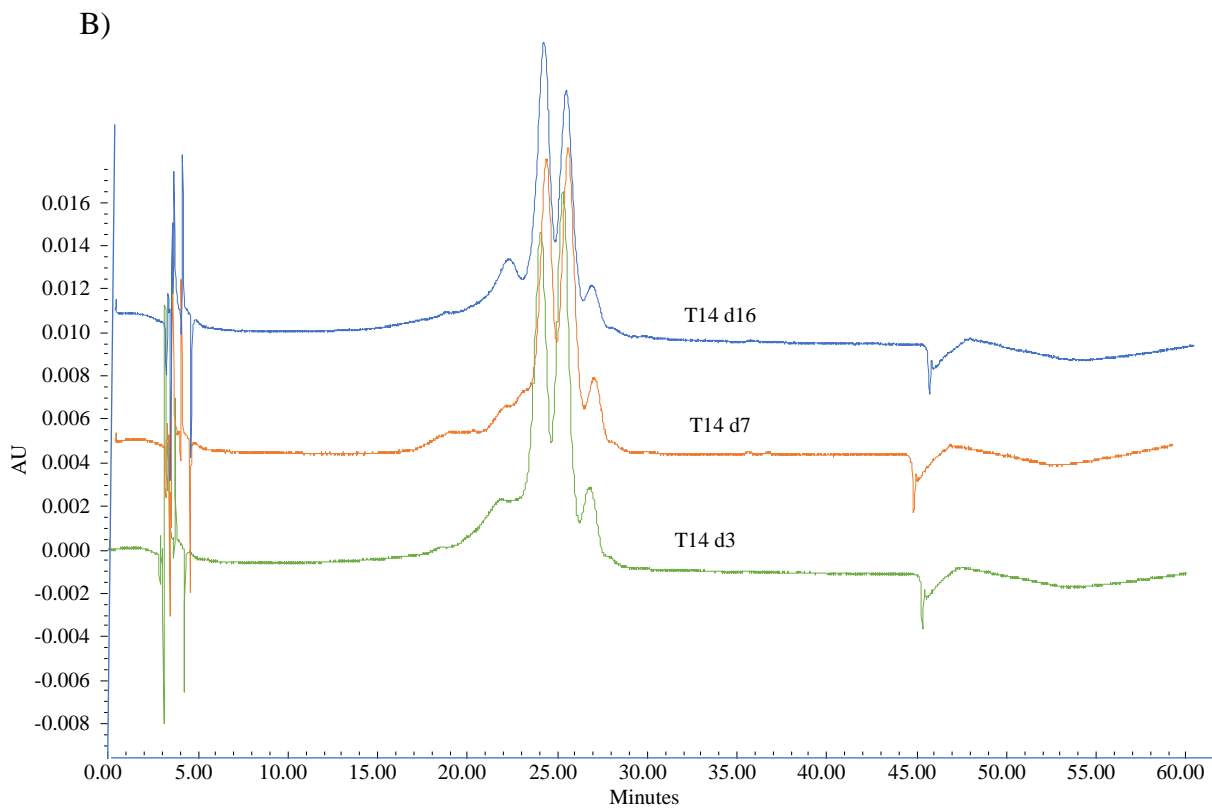
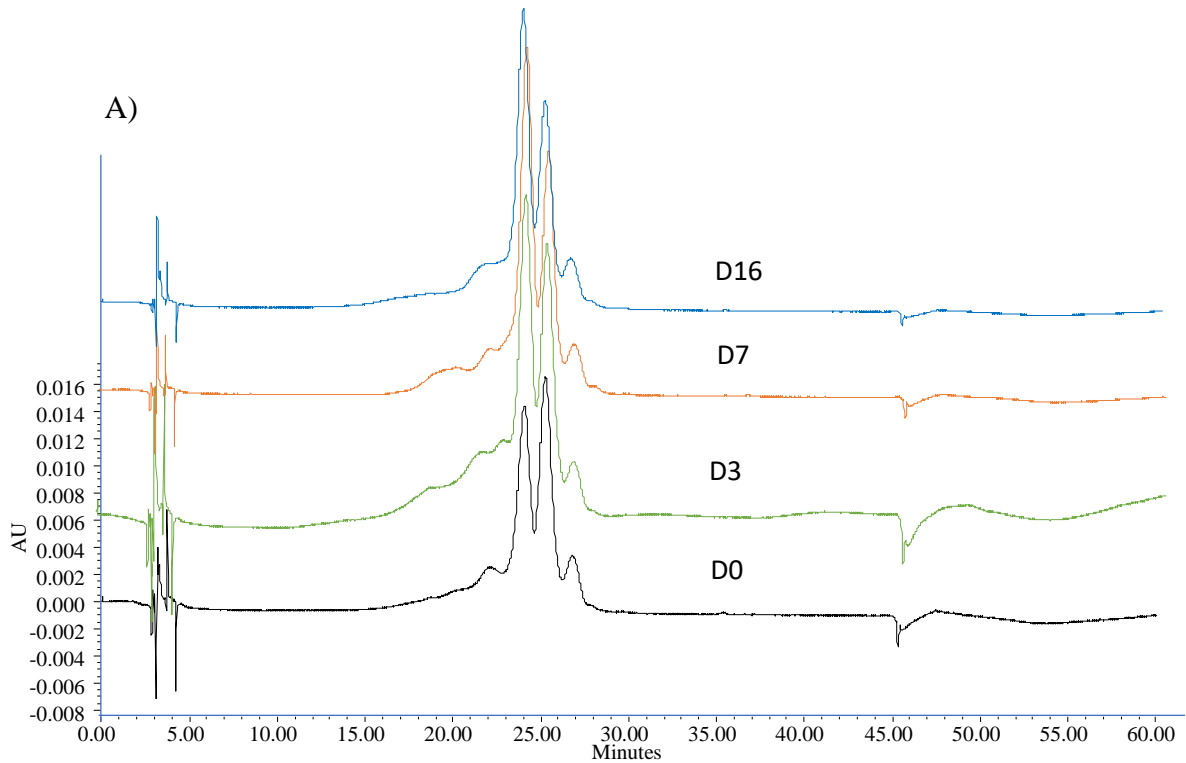


Figura 23 Cromatogramas de frutos de frambuesa almacenados a 4°C, A) Frutos control, B) frutos bajo ACC HPLC.

Tabla 9 Cambios en el contenido de antocianinas en frambuesa durante el almacenamiento a 4°C

No. Pico	Días	Control (-)	Ac temprana	Ac continua
1	0	5.03±3.44 ^a	5.03±3.44 ^a	5.03±3.44 ^a
	3	4.86±0.90 ^a	1.49±0.32 ^a	11.99±9.16 ^a
	7	3.10±0.25 ^a	2.55±0.20 ^a	2.51±1.05 ^a
	14	22.07±4.22 ^a	18.14±1.54 ^a	10.03±0.09 ^a
	16	17.41±6.09 ^a	17.41±5.80 ^a	9.48±0.46 ^a
2	0	73.01±8.45 ^a	73.01±8.45 ^{ab}	73.01±8.45 ^b
	3	59.34±2.86 ^a	33.33±3.07 ^{ab}	47.37±9.31 ^b
	7	122.30±0.00	98.55±9.43 ^{ab}	37.82±1.67 ^b
	14	154.29±32.11 ^a	132.75±2.98 ^{ab}	72.33±0.22 ^b
	16	173.86±8.89 ^a	173.87±12.5 ^{ab}	27.96±15.81 ^b
3	0	95.81±4.84 ^a	95.80±4.84 ^a	95.80±4.84 ^a
	3	47.33±12.12 ^a	48.01±14.62 ^a	68.75±1.07 ^a
	7	117.56±1.85 ^a	76.02±8.87 ^a	39.18±6.47 ^a
	14	68.29±11.34 ^a	47.30±320.04 ^a	50.20±0.07 ^a
	16	105.77±7.89 ^a	105.77±0.73 ^a	33.11±9.19 ^a
4	0	16.09±1.99 ^a	16.09±1.99 ^{ab}	16.09±1.99 ^b
	3	9.29±3.62 ^a	8.13±1.92 ^{ab}	12.39±0.62 ^b
	7	22.30±1.38 ^a	13.71±1.84 ^{ab}	10.14±0.62 ^b
	14	12.28±2.13 ^a	16.20±0.94 ^{ab}	10.92±0.21 ^b
	16	21.70±1.93 ^a	21.70±2.05 ^{ab}	5.45±1.54 ^b

Los cambios en la concentración de antocianinas individuales encontrado en el perfil por HPLC concuerda con la disminución del color en los frutos, así como con el contenido de antocianinas monoméricas totales observado con la atmósfera controlada continua, lo que

sugiere un efecto de inhibición de la síntesis de algunas antocianinas por la exposición prolongada de los frutos a altos niveles de CO₂.

Conclusiones

Las atmósferas controladas (10% O₂ + 15% CO₂) aplicadas de forma continua mejoran la vida de anaquel de las frambuesas, manteniendo mejor los parámetros de calidad de pérdida de peso y firmeza. En la atmósfera continua se obtienen valores más altos de parámetros de color comparado con los frutos control a partir del día 3 y se mantienen hasta el día 16 del almacenamiento su coloración es rojo más puro (*chroma* 33-29) y los altos valores de *hue* (30-28) corresponden a frutos con colores más vivos con menor estado de senescencia.

La ACC presentó una mejor firmeza (73% más que el control) al día 16 del almacenamiento. Parámetros como la acidez y pH no se vieron afectados por el tratamiento.

El perfil fenólico y de antocianinas se vio reducido 34 y 35% sin mostrar cambios en su perfil de antocianinas pero si en la concentración de las mismas al transcurrir el almacenamiento.

Las atmósferas controladas aplicadas de manera continua durante 16 días conservan el color rojo brillante, a pesar de reducir el contenido de antocianinas y fenoles totales posiblemente esta reducción se debe a la inhibición de la ruta de síntesis por efecto de la exposición al CO₂.

7. REFERENCIAS

- Ahmad, M. S., & Siddiqui, M. W. (2015). Postharvest quality assurance of fruits: Practical approaches for developing countries. *Postharvest Quality Assurance of Fruits: Practical Approaches for Developing Countries*, 1–265. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-21197-8>
- Benichou, M., Ayour, J., Sagar, M., Alahyane, A., Elateri, I., & Aitoubahou, A. (2018). Postharvest Technologies for Shelf Life Enhancement of Temperate Fruits. *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits*, 77–100. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76843-4_4
- Bobinaite, R., Viškelis, P., & Venskutonis, P. R. (2015). Chemical Composition of Raspberry (*Rubus* spp.) Cultivars. In *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00029-5>
- Bodelón, O. G., Blanch, M., Sanchez-Ballesta, M. T., Escribano, M. I., & Merodio, C. (2010). The effects of high CO₂ levels on anthocyanin composition, antioxidant activity and soluble sugar content of strawberries stored at low non-freezing temperature. *Food Chemistry*, 122(3), 673–678. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.029>
- Carmona, L., Alquézar, B., Marques, V. V., & Peña, L. (2017). Anthocyanin biosynthesis and accumulation in blood oranges during postharvest storage at different low temperatures. *Food Chemistry*, 237, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.076>
- Castañeda, B. (2010). *Inducción de antocianinas y capacidad antioxidante por oligolacturónidos en uvas de mesa cv. 'Flame Seedless.'* 84.
- Castro-Acosta, M. (2019). Polifenoles: compuestos bioactivos con efectos beneficios en la

prevención de diabetes tipo 2. *REDCieN - Ciencia y Nutrición*, 1(3), 6.

- De Ancos, B., Gonzalez, E., & Cano, M. P. (1999). Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. *Zeitschrift Fur Lebensmittel -Untersuchung Und -Forschung*, 208(1), 33–38. <https://doi.org/10.1007/s002170050371>
- De, J., Sreedharan, A., Li, Y., Gutierrez, A., Brecht, J. K., Sargent, S. A., & Schneider, K. R. (2019). Comparing the efficacy of postharvest cooling methods to enhance fruit quality and reduce Salmonella in artificially inoculated Southern Highbush Blueberry. *HortTechnology*, 29(3), 314–319. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH04238-19>
- De Pascual-Teresa, S., & Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: From plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 281–299. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9074-0>
- García Rubio J. Carlos, Gonzales de Lena, C. A. M. (2014). *El cultivo del frambueso*. <http://www.serida.org/pdfs/6085.pdf>
- Giuggioli, N. R., Briano, R., Girgenti, V., & Peano, C. (2015). Quality effect of ozone treatment for the red raspberries storage. *Chemical Engineering Transactions*, 44, 25–30. <https://doi.org/10.3303/CET1544005>
- González-Orozco. (2018). *Efecto de la aplicación de atmósferas controladas para alargar la vida poscosecha de variedades de frambuesa roja (Rubus idaeus L.) cultivadas en México*. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. , Facultad de Química.Universidad Autónoma de Querétaro.
- González-Orozco, B. D., Mercado-Silva, E. M., Castaño-Tostado, E., Vázquez-Barrios, M. E., & Rivera-Pastrana, D. M. (2020a). Effect of short-term controlled atmospheres on the postharvest quality and sensory shelf life of red raspberry (*Rubus idaeus L.*). *CYTA - Journal of Food*, 18(1), 352–358. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1758216>
- Graham, J., & Brennan, R. (2018). Raspberry. In *Raspberry*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-99031-6>

- Haffner, K., Rosenfeld, H. J., Skrede, G., & Wang, L. (2002). Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 279–289. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00147-8)
- Harb, J., Saleh, O., Kitemann, D., Neuwald, D. A., Hoffmann, T., Reski, R., & Schwab, W. (2014). Changes in polyphenols and expression levels of related genes in “Duke” blueberries stored under high CO₂ levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(30), 7460–7467. <https://doi.org/10.1021/jf5024774>
- Hernández-Cerna. (2020). Cambios bioquímicos y fisiológicos que afectan la firmeza de frambuesa (*Rubus idaeus*) durante el almacenamiento en atmósferas controlada. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. , Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Horbowicz, M., Grzesiuk, A., DEBski, H., & Kosson, R. (2008). Anthocyanins of Fruits and Vegetables - Their Occurrence, Analysis and Role in Human. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 68(April), 5–22. <https://doi.org/10.2478/v10032-008-0001-8>
- Hyang-Lan, E., Seung-Hyun, H., & Eun-Jin, L. (2021). High-CO₂ Treatment Prolongs the Postharvest Shelf Life of Strawberry Fruits by Reducing Decay and Cell Wall Degradation. *Foods*, 10, 1649.
- Hytönen, T., Graham, J., & Harrison, R. (2018). *Compendium of Plant Genomes The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-76020-9>
- Jean-Hugues B, G. K. . (2009). *Anthocyanins. Biosynthesis, Functions and Applications*. (W. C. Gould K, Davies K (ed.); Springer). <https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017a). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61.

<https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>

Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017b). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, *61*(1).

<https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>

Kumar, A., & Ellis, B. E. (2001). The phenylalanine ammonia-lyase gene family in raspberry. Structure, expression, and evolution. *Plant Physiology*, *127*(1), 230–239.

<https://doi.org/10.1104/pp.127.1.230>

Kumar, Amrita, & Ellis, B. E. (2003). A family of polyketide synthase genes expressed in ripening *Rubus* fruits. *Phytochemistry*, *62*(3), 513–526. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00572-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00572-1)

Kumar, S., Baghel, M., Yadav, A., & Dhakar, M. K. (2018). Postharvest biology and technology of berries. *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits*, 349–370. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75163-4_15

Li, D., Li, L., Xiao, G., Limwachiranon, J., Xu, Y., Lu, H., Yang, D., & Luo, Z. (2018). Effects of elevated CO₂ on energy metabolism and γ -aminobutyric acid shunt pathway in postharvest strawberry fruit. *Food Chemistry*, *265*, 281–289.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.106>

Li, D., Zhang, X., Li, L., Aghdam, M. S., Wei, X., Liu, J., Xu, Y., & Luo, Z. (2019). Elevated CO₂ delayed the chlorophyll degradation and anthocyanin accumulation in postharvest strawberry fruit. *Food Chemistry*, *285*(October 2018), 163–170.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.150>

Li, D., Zhang, X., Xu, Y., Li, L., Aghdam, M. S., & Luo, Z. (2019). Effect of exogenous sucrose on anthocyanin synthesis in postharvest strawberry fruit. *Food Chemistry*, *289*(December 2018), 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.042>

Lo Piccolo, E., García, L. M., Landi, M., Guidi, L., Massai, R., & Remorini, D. (2020). Influences of postharvest storage and processing techniques on antioxidant and

- nutraceutical properties of *rubus idaeus* l.: A mini-review. *Horticulturae*, 6(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/horticulturae6040105>
- Lurie, G. P. D. P. M. A. K. H. S. (2008). Postharvest Biology and Technology of Fruits, Vegetables, and Flowers. (Vol. 59).
- Mejia Abanto, D. M. (2016). EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS EN FRAMBUESA (*Rubus idaeus* L.) A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE EXTRACCIÓN. *Universidad Nacional De Cajamarca Facultad*, 58.
- Nguyen, C. T. T., Kim, J., Yoo, K. S., Lim, S., & Lee, E. J. (2014). Effect of prestorage UV-A, -B, and -C radiation on fruit quality and anthocyanin of “Duke” blueberries during cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(50), 12144–12151. <https://doi.org/10.1021/jf504366x>
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- Petroni, K., & Tonelli, C. (2011). Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Science*, 181(3), 219–229. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.05.009>
- Piechowiak, T., & Balawejder, M. (2019). Impact of ozonation process on the level of selected oxidative stress markers in raspberries stored at room temperature. *Food Chemistry*, 298(February), 125093. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125093>
- Robledo, P., Defilippi, B., & Becerra, C. (2017). *Cosecha y postcosecha de frambuesa*. 97–104. <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR39110.pdf>
- Romero, I., Domínguez, I., Doménech-Carbó, A., Gavara, R., Escribano, M. I., Merodio, C., & Sanchez-Ballesta, M. T. (2019). Effect of high levels of CO₂ on the electrochemical behavior and the enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems in black and white table grapes stored at 0 °C. *Journal of the Science of Food and*

Agriculture, 99(15), 6859–6867. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9971>

- Sablani, S. S. (2015). Freezing of Fruits and Impact on Anthocyanins. In *Processing and Impact on Active Components in Food*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00018-4>
- Sañudo-Barajas, A. A., Lipan, L., Cano-Lamadrid, M., Vélez de la Rocha, R., Noguera-Artiaga, L., Sánchez-Rodríguez, L., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Hernández, F. (2018). Texture. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00014-2>
- Sheng, K., Zheng, H., Shui, S. S., Yan, L., Liu, C., & Zheng, L. (2018). Comparison of postharvest UV-B and UV-C treatments on table grape: Changes in phenolic compounds and their transcription of biosynthetic genes during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 138(August 2017), 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.002>
- Singh, R., Singh, S., Parihar, P., Mishra, R. K., Tripathi, D. K., Singh, V. P., Chauhan, D. K., & Prasad, S. M. (2016). Reactive oxygen species (ROS): Beneficial companions of plants' developmental processes. *Frontiers in Plant Science*, 7(September 2016), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01299>
- Temocico, G., Stoian, E., Ion, V., & Tudor, V. (2014). Results regarding behaviour of some small fruits under controlled atmosphere conditions. *Romanian Biotechnological Letters*, 19(2), 9162–9178.
- Teng, H., Fang, T., Lin, Q., Song, H., Liu, B., & Chen, L. (2017). Red raspberry and its anthocyanins: Bioactivity beyond antioxidant capacity. *Trends in Food Science and Technology*, 66, 153–165. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.015>
- Tezotto-Uliana, V., Dallocca, N., Silveira, A., & Kluge, R. (2018). Evaluación del comportamiento poscosecha de Frambuesas en diferentes condiciones de almacenamiento refrigerado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 19(1), 62–73. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81355612005>

- Thompson, A. K. (2015). Fruit and vegetable storage: Hypobaric, hyperbaric and controlled atmosphere. *Fruit and Vegetable Storage: Hypobaric, Hyperbaric and Controlled Atmosphere, Dalrymple 1967*, 1–126. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23591-2>
- Tian, S. P., Li, B. Q., & Xu, Y. (2005). Effects of O₂ and CO₂ concentrations on physiology and quality of litchi fruit in storage. *Food Chemistry*, *91*(4), 659–663. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.038>
- Trujano-Fragoso, D. E., Trinidad-Santos, A., López-Romero, R. M., Velasco-Cruz, C., Becerril-Román, A. E., & Cortés-Penagos, C. de J. (2017). Características pomológicas, capacidad antioxidante y ácido elágico en frambuesa (*Rubus idaeus* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, *40*(3), 261–270. <https://doi.org/10.35196/rfm.2017.3.261-269>
- Valdez Fragoso, A., & Mújica-Paz, H. (2015). Controlled Atmosphere Storage: Effect on Fruit and Vegetables. *Encyclopedia of Food and Health*, 308–311. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00197-5>
- Van den Ende, W., & El-Esawe, S. K. (2014). Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: A dual function in abiotic and biotic stress responses? *Environmental and Experimental Botany*, *108*, 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.09.017>
- Wahyuningsih, S., Wulandari, L., Wartono, M. W., Munawaroh, H., & Ramelan, A. H. (2017). The Effect of pH and Color Stability of Anthocyanin on Food Colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *193*(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/193/1/012047>
- Watkins, C. B. (2020). Color Atlas of Postharvest Quality of Fruits and Vegetables. In *HortScience* (Vol. 44, Issue 6). <https://doi.org/10.21273/hortsci.44.6.1801a>
- Xu, W., Dubos, C., & Lepiniec, L. (2015). Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes. *Trends in Plant Science*, *20*(3), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.12.001>

Zhang, X., & Liu, C. J. (2015). Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Molecular Plant*, 8(1), 17–27.
<https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.001>

Zheng, D., & Hrazdina, G. (2008). Molecular and biochemical characterization of benzalacetone synthase and chalcone synthase genes and their proteins from raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 470(2), 139–145.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2007.11.013>