



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
PROPAC

“Efecto de la aplicación de atmósferas controladas para alargar la vida poscosecha de variedades de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) cultivadas en México”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.Q en A. Brianda Daniela González Orozco

Dirigido por:

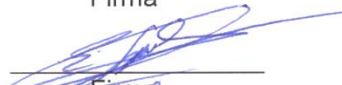
Dra. Dulce María Rivera Pastrana

SINODALES

Dra. Dulce María Rivera Pastrana
Presidente


Firma

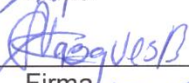
Dr. Edmundo Mercado Silva
Secretario


Firma

Dr. Miguel David Dufoo Hurtado
Vocal



Firma


Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios
Suplente


Firma

Dr. Eduardo Castaño Tostado
Suplente


Firma


Dra. Silvia Lotena Amaya Llano
Nombre y Firma
Director de la Facultad


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Nombre y Firma
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Fecha: Octubre 2018 México



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL
CENTRO DE LA REPÚBLICA (PROPAC)

“Efecto de la aplicación de atmósferas controladas para alargar la vida poscosecha de variedades de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) cultivadas en México”

PROTOCOLO DE TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.Q en A. Brianda Daniela González Orozco

Dirigido por:

Dra. Dulce María Rivera Pastrana



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
PROPAC

“Efecto de la aplicación de atmósferas controladas para alargar la vida poscosecha de variedades de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) cultivadas en México”

PROCOLO DE TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.Q en A. Brianda Daniela González Orozco

Dirigido por:

Dra. Dulce María Rivera Pastrana

SINODALES

Dra. Dulce María Rivera Pastrana
Presidente

Firma

Dr. Edmundo Mercado Silva
Secretario

Firma

Dr. Miguel David Dufoo Hurtado
Vocal

Firma

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios
Suplente

Firma

Dr. Eduardo Castaño Tostado
Suplente

Firma

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Nombre y Firma
Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Nombre y Firma
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Fecha: Octubre 2018 México

RESUMEN

La frambuesa es considerada un cultivo de alto valor comercial derivado de sus características sensoriales y de la presencia de compuestos antioxidantes potencialmente benéficos a la salud. México es el quinto productor mundial de frambuesa roja lo que generó en el año 2016 ganancias por venta al exterior de más de 500 millones de dólares. No obstante, uno de los principales obstáculos para el desarrollo de la industria son las altas pérdidas poscosecha que según la FAO en 2011 ascienden a 40%, debido a la alta perecebilidad de este fruto que se refleja en daño fisiológico y deterioro microbiano lo que le otorga una vida poscosecha de 2 a 3 días a temperatura ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de atmósferas controladas (AC) en diferentes tiempos de exposición, temprano (AC del 1.3 días de almacenamiento (DA)), intermedio (4-6 DA) así como la exposición continua (1-14 DA) en el almacenamiento poscosecha de las variedades de frambuesa roja cultivadas en México. Se evaluaron parámetros fisiológicos y fisicoquímicos, la vida de anaquel sensorial y el perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Se observó un aumento en la firmeza (60%) y una disminución en la pérdida de peso (75%) respecto al control en aire cuando la AC se aplicó de manera continua durante 14 días, no obstante se observó una reducción de hasta el 40% en el contenido de antocianinas monoméricas totales; además de una gran variabilidad en la vida de anaquel sensorial determinada por la aceptación o el rechazo de los consumidores. La exposición temprana a AC extendió la vida de anaquel en 3.4 días sin tanta variabilidad en las respuestas de los consumidores, aumentó la capacidad antioxidante in vitro determinada por los ensayos ABTS y DPPH (10%) y mejoró significativamente los parámetros de color (mayores valores de L*, Hue y C*) respecto al control. En el perfil de compuestos fenólicos se identificaron 3 antocianinas, la más abundante identificada como cianidin 3-glucósido y 3 compuestos derivados de la hidrólisis de elagitaninos, no encontrando cambios significativos en el perfil debido a los tratamientos. Por lo anterior, el mejor tratamiento de AC fue la exposición temprana, reafirmando que las exposiciones prolongadas en AC, como el caso del tratamiento continuo además de presentar desventajas tanto económicas como ambientales por el gasto energético, modifican el metabolismo del fruto generando daño fisiológico y degradación de pigmentos con alteración de las características sensoriales, lo que genera repercusiones a nivel comercial.

Palabras clave: atmósferas controladas dirigidas, vida de anaquel sensorial, frambuesa, elagitaninos.

ABSTRACT

Raspberry is considered a high commercial value crop derived from its sensory characteristics and the presence of antioxidant compounds particularly polyphenols which are renowned for their health benefits. Mexico is the fifth largest producer of red raspberries in the world, which generated revenues of more than 500 million dollars in foreign sales in 2016. . Nevertheless, the high decay rate that results in high postharvest losses (40 %) is one of the main obstacles for the development of this industry according to FAO in 2012. The objective of this work was to evaluate the effect of the application of targeted controlled atmospheres (CA) at early (days 1-3 of storage (DS), intermediate (4-6 DS)) and continuous exposure (1-14 DS) treatment during storage on the postharvest life of red raspberry cultivars grown in Mexico. There was an increase of firmness (60%) and a decrease in weight loss (75%) compared to control in air when CA was applied continuously for 14 days. However, the sensory shelf life (SSL) observed a great variability in the perception of the consumers in this treatment in addition to a reduction near to 40% in the total anthocyanin content. Whereas, the early exposure to CA extended the SSL in 3.4 days without so much variability in the responses of the consumers and significantly improved the color parameters (higher values of L *, h* and C *) and the antioxidant activity measured by DPPH and ABTS assays(10%) compared to control in air. On the HPLC-DAD phenolic analysis 3 anthocyanins and 3 compounds derived from the ellagitannins acid hydrolysis were observed, cyanidin 3- glucoside and ellagic acid were identified (520 and 254 nm respectively) and quantified by means of an external standard, there was not statistical differences between treatments on the ellagic acid content, whereas cyanidin 3-glucoside content was highly affected by CA treatments with a reduction on fruits subjected to the CA continuous treatment. Therefore CA early exposure was identified as the most effective postharvest targeted CA treatment that increased the SSL and improved the quality parameters of red raspberry cv. Adelita during storage.

Keywords: targeted controlled atmosphere, sensory shelf life, raspberry, ellagitannins.

ÍNDICE GENERAL

Contenido

RESUMEN.....	i
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Generalidades de la frambuesa	3
2.1.1 Origen y antecedentes.....	3
2.1.2 Descripción morfológica y anatómica del fruto	3
2.1.3 Taxonomía y variedades cultivadas	4
2.1.4 Hábitos de cultivo	6
2.2 Composición nutricia de la frambuesa	8
2.3 Perfil fenólico de la frambuesa	9
2.3.1 Generalidades de los compuestos fenólicos.....	9
2.3.2 Ácidos fenólicos y derivados	12
2.3.3 Elagitaninos	12
2.3.4 Antocianinas.....	14
2.3.5 Otros compuestos fenólicos.....	17
2.4 Comparación del perfil fenólico de frambuesa con otras frutillas	18
2.5 Importancia de los compuestos fenólicos en plantas y ecosistemas.....	20
2.6 Propiedades funcionales de compuestos fenólicos	22
2.7 Producción y comercialización de frambuesa.....	25
2.7.1 Mundial.....	25
2.7.2 Nacional	26
2.7.3 Importancia económica.....	28
2.8 Manejo y almacenamiento del producto fresco	29
2.8.1 Consideraciones durante la cosecha	29
2.8.2 Manejo poscosecha	30
2.9 Tecnologías poscosecha para extender la vida de anaquel	32
2.9.1 Atmósferas controladas y modificadas	32

2.9.2	Atmósferas controladas (AC) en frambuesa	34
3.	JUSTIFICACIÓN.....	37
	OBJETIVOS	38
3.1	Objetivo general.....	38
3.2	Objetivos específicos	38
4.	METODOLOGÍA	38
4.1	Material biológico y equipo de AC	38
4.2	Estrategia experimental.....	39
4.3	Diseño del experimento y análisis estadístico	40
4.4	Parámetros fisiológicos y fisicoquímicos	42
4.4.1	Tasa de respiración.....	42
4.4.2	Pérdida fisiológica de peso	43
4.4.3	Color	43
4.4.4	Firmeza	43
4.4.5	Sólidos solubles totales y acidez titulable.....	43
4.5	Determinación de la vida de anaquel sensorial	44
4.6	Determinación del perfil de compuestos fenólicos	47
4.6.1	Extracción de compuestos fenólicos	47
4.6.2	Cuantificación de compuestos fenólicos totales.....	48
4.6.3	Cuantificación de antocianinas monoméricas totales.....	48
4.6.4	Análisis del perfil de compuestos fenólicos por HPLC-DAD.....	50
4.6.5	Cuantificación de ácido elágico por HPLC-DAD	50
4.6.6	Cuantificación de capacidad antioxidante	51
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
4.7	Selección de la AC óptima	53
4.7.1	Cambios en los parámetros de color.....	53
4.7.2	Pérdida de peso.....	55
4.7.3	Cambios en la firmeza	56
4.7.4	Análisis de componentes principales	57
4.8	Evaluar el efecto de diferentes tiempos de exposición a AC	59
4.8.1	Análisis fisiológicos y fisicoquímicos	60
4.8.2	Cambios en la tasa de respiración.....	62

4.8.3	Cambios en la pérdida de peso.....	65
4.8.4	Cambios en la firmeza	67
4.8.5	Determinación de la vida de anaquel sensorial.....	69
4.8.6	Análisis fitoquímicos y capacidad antioxidante.....	73
4.8.7	Perfil de compuestos fenólicos.....	77
4.8.8	Análisis de factores múltiples	80
5.	CONCLUSIONES.....	83
6.	REFERENCIAS	84

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación Taxonómica de la frambuesa (Jennings et al., 1991)	5
Cuadro 2. Clasificación Taxonómica de la frambuesa (NCBI, 2017)	5
Cuadro 3. Composición nutricia de la frambuesa roja por porción de 100g de fruta fresca	10
Cuadro 4. Clasificación estructural de compuestos fenólicos	11
Cuadro 5. Grupos sustituyentes de las principales antocianidinas	15
Cuadro 6. Contenido de fenoles en frutos	19
Cuadro 7. Contenido de fenoles totales, antocianinas y ácido elágico en frutillas	20
Cuadro 8. Compuestos fenólicos presentes en frambuesa roja	23
Cuadro 9. Producción nacional de frambuesa en 2016 (SIAP, 2017)	27
Cuadro 10. Factores primera etapa	41
Cuadro 11 Factores segunda etapa	41
Cuadro 12. Variables respuesta segunda etapa	42
Cuadro 13. Gradiente de separación de compuestos fenólicos por HPLC	50
Cuadro 14. Color objetivo (L^* , a^* , h^* , C^*) de frutos de frambuesa roja cv. F16 y F24 sometidos a diferentes condiciones de atmósfera (Control en aire, AC1 (10% O ₂ + 15% CO ₂) y AC2 (10% O ₂ + 10% CO ₂) durante 14 días de almacenamiento a 1°C.	54
Cuadro 15. Color objetivo (L^* , h^* , C^*), SST y AT de frutos de frambuesa roja cv. 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	62
Cuadro 16. Valor p (prueba Wilcoxon / Krustal Wallis) del análisis sensorial al día 14 de frutos frambuesa roja cv. 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	71
Cuadro 17. FT, AMT y cAOX (ABTS y DPPH) de frutos de frambuesa roja cv. 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.	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología del fruto de frambuesa	4
Figura 2. Cañas de frambuesa del primer y segundo año de crecimiento	8
Figura 3. Ejemplos de ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinámicos (b)	12
Figura 4. Estructura de lambertianina A y sanguina H-6	14
Figura 5. Estructura básica de una antocianidina	15
Figura 6. Estructura química de la cianidina3-glucósido	16
Figura 7. Producción mundial de Frambuesa del 2000 al 2014	25
Figura 8. Porcentaje de la producción de frambuesa por región en 2014	26
Figura 9. Principales productores de Frambuesa a nivel mundial en 2014	26
Figura 10. Volumen de la producción nacional de frambuesa de 2007 al 2016	27
Figura 11. Porcentaje del valor de la producción de frambuesa por entidad federativa	28
Figura 12. Evolución del comercio exterior de frambuesa 2007-2016 (millones de dólares)	29
Figura 13. Equipo de AC	39
Figura 14. Formato para la prueba de vida de anaquel sensorial de frambuesa	46
Figura 15. Estructura de DPPH antes y después de la reacción con el compuesto antioxidante	53
Figura 16. Porcentaje de pérdida de peso (%pp) de frutos de frambuesa roja cv. F16 y F24 sometidos a diferentes condiciones de atmósfera (Control en aire, AC1 (10% O ₂ + 15% CO ₂) y AC2 (10% O ₂ + 10% CO ₂) durante 14 días de almacenamiento a 1°C	56
Figura 17. Firmeza (N) de frutos de frambuesa roja cv. F16 y F24 sometidos a diferentes condiciones de atmósfera (Control en aire, AC1 (10% O ₂ + 15% CO ₂) y AC2 (10% O ₂ + 10% CO ₂) durante 14 días de almacenamiento a 1°C	57
Figura 18. Análisis de componentes principales y correlaciones entre variables	58
Figura 19. Tasa de respiración de frambuesa cv. Evita sin AC durante 10 días de almacenamiento a 1°C	60
Figura 20. Tasa de respiración (producción de CO ₂ en mL de CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹) de frutos de frambuesa cv. 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.	64
Figura 21. Porcentaje de pérdida de peso (%pp) de frutos de frambuesa cv. 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	65
Figura 22. Firmeza (N) de frutos de frambuesa roja cv. 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	67
Figura 23. Vida de anaquel sensorial definida por el modelo de Weibull de frutos de frambuesa roja cv. 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	69
Figura 24. Tabla de contingencia de firmeza de la prueba de aceptación hedónica de frutos de frambuesa roja cv. 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	72
Figura 25. Cromatograma HPLC-DAD a 254 nm después de hidrólisis ácida de Frambuesa cv. Adelita tratamiento en Aire (14 DA). Picos: 1 y 3 –desconocidos; 2- ácido elágico	80
Figura 26. Cromatograma HPLC-DAD a 520 nm del extracto fenólico de Frambuesa cv. Adelita tratamiento en Aire (14 DA Picos: 1 y 3-desconocidos; 2- cianidina 3-glucósido	80
Figura 27. Mapa de factores individuales del MFA de tres tipos de variables evaluadas (color, fisiológicas y fitoquímicas) en frutos de frambuesa roja cv. 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	81

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L), ha adquirido en los últimos años gran relevancia comercial derivada de su alto valor económico, de sus características únicas de sabor y olor y de la presencia de compuestos fitoquímicos potencialmente benéficos a la salud humana.

La frambuesa presenta altas tasas de respiración en comparación con otros frutos, lo cual aunado a su alto contenido de azúcares la vuelve una de las frutas más perecederas, con una vida poscosecha muy corta (3-5 días a temperatura ambiente) (Jin et al., 2012).

México es el 5° productor mundial (SIAP, 2016) de frambuesa y su cultivo continua en ascenso, a pesar de sus estrictos requerimientos climáticos, altos costos de producción y alta perecebilidad (Funt & Hall, 2013). No obstante, uno de los obstáculos más importantes que se presenta para el crecimiento de su producción y comercialización son las altas pérdidas poscosecha que se generan debido a deterioro microbiano causado por el patógeno *Botrytis cinerea* y al daño fisiológico del fruto que se traduce en ablandamiento y sangrado del mismo (Krüger et al., 2011).

Entre las tecnologías poscosecha que buscan alargar la vida de anaquel de productos hortofrutícolas, el uso de atmósferas controladas (AC) ha demostrado ser efectiva para retrasar la maduración y senescencia y disminuir el deterioro microbiano (Alamar et al., 2017). No obstante, el almacenamiento prolongado en AC presenta desventajas entre las que sobresalen el alto costo económico y energético de su aplicación aunado a que se ha demostrado que largas exposiciones a las AC generan daño fisiológico en los frutos y estrés oxidativo que desembocan en desarrollo de malos olores y sabores derivados de cambio al metabolismo fermentativo por las bajas concentraciones de O₂ (Forney et al., 2015). Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes tiempos de aplicación y exposición a AC en la fisiología del fruto,

textura, vida de anaquel sensorial así como en el perfil de compuestos fenólicos de frambuesa roja cv. Adelita cultivada en México.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la frambuesa

2.1.1 Origen y antecedentes

La frambuesa pertenece al género *Rubus*, uno de los de mayor diversidad en el reino de las plantas con cerca de 500 especies (Funt & Hall, 2013). Se considera que la frambuesa roja europea (*R. idaeus* L) se originó cerca de las montañas Ida en Asia menor, hoy Turquía y fue descrita por primera vez por los antiguos griegos y romanos, incluyendo Hipócrates, Ovidio, entre otros (Hummer & Janick, 2007; Jennings et al., 1991). Se han descubierto semillas de frambuesa de la época del imperio romano en antiguas edificaciones de Gran Bretaña, probablemente los soldados romanos esparcieron el cultivo durante sus campañas, sin embargo, no fue hasta la edad media que éste se popularizó en Europa. Las primeras frambuesas cultivadas datan de hace aproximadamente 500 años, lo que la convierte en un cultivo relativamente nuevo (Badenes & Byrne, 2012). La frambuesa roja europea así como otras especies asiáticas llegaron a las colonias americanas en el siglo XVIII (Jennings et al., 1991). Durante los siglos XIX y XX se comenzó la cruce de variedades silvestres para generar descendencia con mejores características, mayor tamaño del fruto y mayor resistencia a enfermedades, entre otras (Finn & Hancock, 2008; Funt & Hall, 2013).

2.1.2 Descripción morfológica y anatómica del fruto

Morfológicamente la frambuesa es un agregado de drupas individuales llamadas drupelas, cada drupela es morfológicamente similar a una pequeña cereza con una semilla endocárpica gruesa denominada pireno, rodeada por un mesocarpio carnoso y un exocarpio externo. Las drupelas tienen un arreglo tipo espiral alrededor del receptáculo, el cual es separado de la fruta en el momento de la cosecha (Figura 1) (Funt & Hall, 2013).

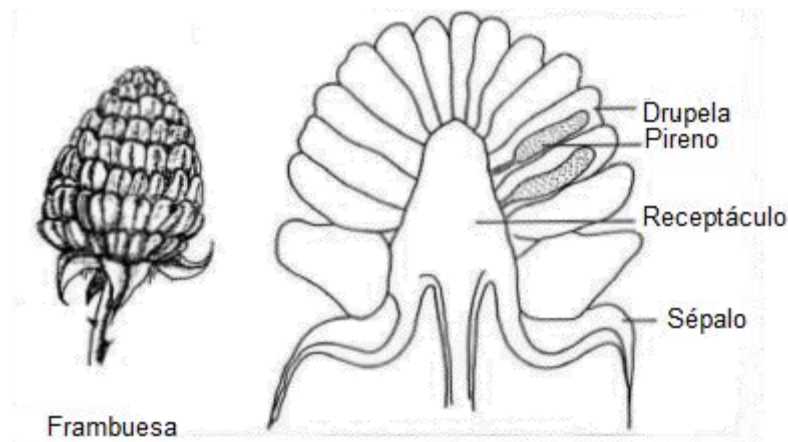


Figura 1. Morfología del fruto de frambuesa (Funt & Hall, 2013)

La cohesión de las drupelas individuales se lleva a cabo por el entrelazamiento de vellos epidérmicos unicelulares abundantes en la base y en los lados de las drupelas y no existe conexión celular entre éstos, además no pueden ser separados sin provocar el desgarre del exocarpio (Robbins et al., 1988). El entrelazamiento de los vellos epidérmicos en la superficie así como el número de drupelas y el área de contacto entre éstas contribuyen al grado de asociación y cohesividad de algunos cultivares (De Michelis, 2003).

2.1.3 Taxonomía y variedades cultivadas

Las frambuesas están incluidas en el género *Rubus* L. de la familia *Rosaceae* (Cuadro 1 y 2) los taxonomistas reconocen 12 subgéneros dentro de *Rubus* pero solamente las frambuesas pertenecientes al subgénero *Idaeobatus* (caracterizado por que los frutos maduros se separan del receptáculo) y la zarzamora (*Eubatus*) han adquirido significado comercial (Finn & Hancock, 2008), no obstante, otros subgéneros han contribuido en el desarrollo de programas de mejoramiento genético como proveedores de material genético (Badenes & Byrne, 2012). Los híbridos entre frambuesa roja y negra son comúnmente llamados frambuesa púrpura (*Rubus neglectus*), sin embargo, la mayoría de los taxonomistas no la reconocen como especie, la frambuesa púrpura es menos tolerante al frío y más tolerante a altas temperaturas en comparación a la frambuesa roja, el cultivar “Royalty” es ampliamente cultivado en China debido a que es altamente productivo.

Cuadro 1. Clasificación Taxonómica de la frambuesa (Jennings et al., 1991)

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Rosidae</i>
Orden	<i>Rosales</i>
Familia	<i>Rosaceae</i>
Genero	<i>Rubus</i>
Especie	<i>R. idaeus</i>

Cuadro 2. Clasificación Taxonómica de la frambuesa (NCBI, 2017)

Superreino	<i>Eukaryota</i>
Reino	<i>Viridiplantae</i>
Filo	<i>Streptophyta</i>
Subfilo	<i>Streptophytina</i>
Subclase	<i>Rosids</i>
Orden	<i>Rosales</i>
Familia	<i>Rosaceae</i>
Subfamilia	<i>Rosoideae</i>
Genero	Rubus
Especie	<i>Rubus. Idaeus</i>

Se han realizado algunos híbridos con zarzamora y algunas variedades son de importancia comercial como Tayberry y Logan-berry. Por su parte, las frambuesas amarillas son resultado de una mutación en un gen específico que inhibe la pigmentación de los frutos; algunas variedades son Goldie, Kiwi Gold, entre otras (Funt & Hall, 2013).

Las frambuesas se cultivan en los 5 continentes, principalmente en el hemisferio norte donde se presentan zonas con climas templados y sub-árticos, algunas especies en los trópicos, otras más en el hemisferio sur, no obstante, el centro de mayor diversidad se encuentra en Asia, principalmente en China donde se extiende a través del Himalaya hasta la India, y del este de Corea hasta Japón (Jennings et al., 1991).

En México las antiguas variedades de frambuesa roja como Summit, Heritage y Autum Bliss de origen estadounidense son aún cultivadas. En los últimos 5 años variedades privadas de origen europeo como la Evita, Lupita, Erika y Adelita están incrementando su superficie de manera importante en los estados de Jalisco y Michoacán. Específicamente Adelita es una variedad desarrollada en España en el 2012 por Plantas de Navarra S.A del grupo Planasa cuyas características distintivas respecto de otras variedades son la poca densidad de espinas de la planta, alta producción de frutos con colores rojos intermedios de forma cónica y de tamaño grande que va de 110 a 125 drupelas, es un variedad firme y con una mayor vida de anaquel aunque no se especifica un valor concreto (Pierron-Darbonne, 2012).

2.1.4 Hábitos de cultivo

La frambuesa es un cultivo que se desarrolla favorablemente en regiones templadas, tropicales y subtropicales con invierno definido, algunas de las características geográficas adecuadas para la producción son: altitud de 2000 a 3000 msnm, lluvia de 700 a 1,200 mm, temperaturas de 5 a 20°C y suelos ricos en materia orgánica con pH entre 4.2 y 5.2 (Funt & Hall, 2013).

Cada flor de frambuesa contiene entre 60 y 160 ovarios, cada uno con dos óvulos, uno de ellos generalmente es abortado después de la diferenciación. Un mes después de la polinización, los ovarios maduran simultáneamente para formar el fruto; los frutos maduran en tres fases: la primera que inicia después de la polinización, esta se caracteriza por una división celular acelerada, en la segunda fase la división celular disminuye mientras que el embrión desarrolla y la testa de la semilla se endurece, finalmente en la tercera fase el crecimiento se acelera como resultado de un rápido incremento del volumen celular; cada fase tiene duración de 10 a 12 días (Kim & Harris, 2003). Los cultivares de frambuesa roja y negra presentan coronas (base de la planta) y raíces perennes, sin embargo, las cañas (ramas) son bianuales y con vida de dos años. El crecimiento de la caña ocurre solamente durante el primer año y no tiene capacidad de floración, se denomina primocaña (Finn & Hancock, 2008). En el segundo año las cañas se denominan floricañas, éstas florecen, dan frutos y finalmente mueren. En cualquier año excepto en el de plantación hay ambos tipos de caña presentes (Figura 2) (Strik et al., 2007).

Las plantas entran en letargo durante el invierno donde una vez satisfechos sus requerimientos de frío, las yemas de la caña crecen (floricañas) (Finn & Hancock, 2008). Los requerimientos de horas frío (temperaturas entre 0 y 7°C) varían entre las especies productoras de verano, en el hemisferio norte van de 800 hasta 1800 horas frío (Strik et al., 2007). En las cañas en letargo, las axilas laterales tienen yemas tanto vegetales como florales, al inicio de la primavera las yemas se rompen y florecen entre 6 y 10 semanas después. Las flores de frambuesa tienen 5 sépalos, 5 pétalos, muchos estambres y pistilos organizados a manera de espiral alrededor del receptáculo (Hummer & Janick, 2007). Alrededor de 35 días son requeridos después de la polinización para que el fruto madure, por lo que la floricaña produce frutos durante el verano para finalmente entrar en senescencia, nuevas primocañas son producidas cada año de manera que la producción pueda continuar (Finn & Hancock, 2008).

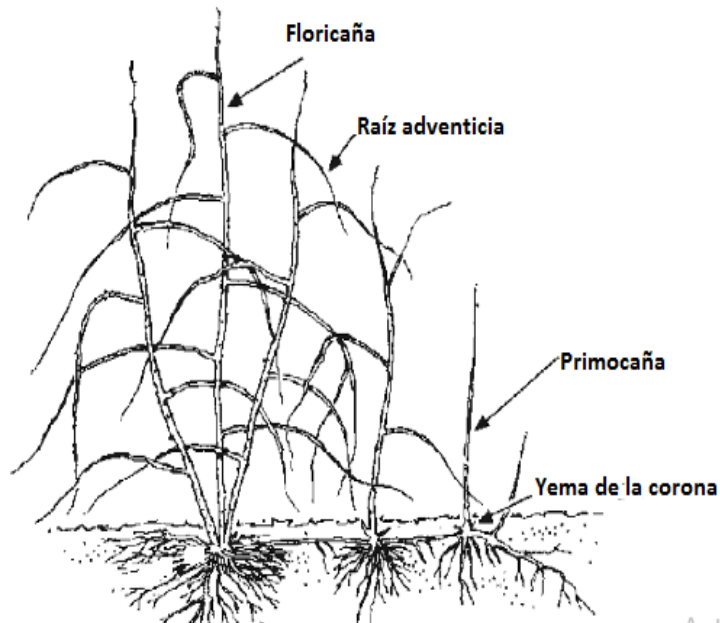


Figura 2. Cañas de frambuesa del primer y segundo año de crecimiento (Funt & Hall, 2013)

En las productoras de otoño el rompimiento de las yemas florales no es dependiente de las horas frío pero si de la edad fisiológica de la caña; las yemas frutales desarrollan en la punta de la caña durante el primer año y el fruto puede ser cosechado durante el otoño. La producción perenne de la frambuesa tiene una vida de entre 10 y 20 años para frambuesa roja y de 5 a 10 para frambuesa negra (Funt & Hall, 2013; Strik et al., 2007).

2.2 Composición nutricia de la frambuesa

De acuerdo a su composición la frambuesa roja es considerada un alimento saludable (Cuadro 3). Es baja en contenido calórico con un aporte de solo 52 kcal por cada 100 g, con 85.75% de agua, 11.94% de carbohidratos, 6.5% de fibra dietaria, 1.20% de proteínas y 0.65% de lípidos totales, de los cuales el 97.8% corresponde a ácidos grasos insaturados (Strik et al., 2007). Además, contiene vitaminas liposolubles y compuestos como carotenoides y tocoferoles que se encuentran presentes en las semillas; altos niveles de vitamina C hidrosoluble se encuentran en la piel de la frutilla (26.2 mg /100 g). Es también una fuente

importante de minerales como potasio, fosforo, calcio y magnesio con 151, 29, 25 y 22 mg en 100 g de peso fresco (Rao & Snyder, 2010).

2.3 Perfil fenólico de la frambuesa

2.3.1 Generalidades de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos forman una de las principales clases de metabolitos secundarios en plantas con una amplia variedad de estructuras y funciones basadas en sus características antioxidantes; estos fitoquímicos son ubicuos en plantas, incluyendo a la de frambuesa y están involucrados en diferentes funciones biológicas; desarrollo de la planta, defensa, pigmentación, protección de la radiación UV, quelación de metales pesados, antioxidantes para los radicales libres generados en la fotosíntesis, entre otras (Rao & Snyder, 2010; Robards et al., 1999).

Su estructura comprende un anillo aromático con uno o más constituyentes hidroxilos y abarcan desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos altamente polimerizados (Bravo, 1998), a pesar de la diversidad estructural, este grupo de compuestos es referido con regularidad como polifenoles. Los compuestos fenólicos se refieren a aquellas sustancias derivadas de la vía del ácido shikímico y del metabolismo de los fenilpropanoides, la diversidad estructural entre los compuestos fenólicos depende de los niveles de oxidación de sus anillos heterocíclicos, los patrones de hidroxilación, su glucosilación por azúcares o acilación por ácidos orgánicos o fenólicos y por su conjugación en polímeros (Rao & Snyder, 2010). Por lo anterior, pueden ser divididos en diferentes clases de acuerdo a su estructura (Cuadro 4) (Balasundram et al., 2006), de los cuales los flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos, y taninos han sido reconocidos como los compuestos fenólicos más importantes en la dieta (Nile & Park, 2013).

Las frutillas son una rica fuente de polifenoles, especialmente flavonoides (antocianinas, flavonoles, flavan3-ols y proantocianidinas) y elagitaninos (Häkkinen et al., 1999; Skrovankova et al., 2015). La clase más abundante de compuestos fenólicos en frambuesa son los taninos hidrolizables (galo y

elagitaninos) y las antocianinas son los segundos más abundantes (Määttä-Riihinen et al., 2004).

Cuadro 3. Composición nutricia de la frambuesa roja por porción de 100g de fruta fresca (Rao & Snyder, 2010)

Tipo	Nutriente	Contenido en100g
Proximales	Calorías (kcal)	52
	Agua (g)	85.75
	Proteína (g)	1.20
	Lípidos totales (g)	0.65
	Carbohidratos totales (g)	11.94
	Fibra dietaria (g)	6.5
	Azúcares (g)	4.42
	Sacarosa (g)	0.2
	Glucosa (g)	1.86
	Fructosa (g)	2.35
Minerales	Calcio (mg)	25
	Hierro (mg)	0.69
	Magnesio (mg)	22
	Fosforo (mg)	29
	Potasio (mg)	151
	Sodio (mg)	1
	Zinc (mg)	0.42
	Cobre (mg)	0.090
	Manganeso (mg)	0.670
Vitaminas	Vitamina C (mg)	26.2
	Tiamina (mg)	0.032
	Riboflavina (mg)	0.038
	Niacina (mg)	0.598
	Ácido pantoténico (mg)	0.329
	Vitamina B6 (mg)	0.055
	Colina (mg)	12.3
	Betaína (mg)	0.8
Vitamina E, α -tocoferol (mg)	0.87	

Cuadro 4. Clasificación estructural de compuestos fenólicos (Balasundram et al., 2006)

Clase	Estructura
Fenoles simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzoicos	C_6-C_1
Acetofenonas ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos Hidroxicinámicos, fenilpropanoides(cumarinas, isocumarinas, cromonas, cromenos)	C_6-C_3
Naftoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos antraquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoides, isoflavonoides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanós, neolignanós	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonoides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_n$

La frambuesa roja dependiendo de la variedad presenta contenidos de antocianinas entre 19 y 89 mg/100 g, niveles mucho menores de los presentes en frambuesa negra donde son el principal componente fenólico (Rao & Snyder, 2010). Los elagitaninos por su parte son los principales compuestos fenólicos de la frambuesa roja con contenido de ácido elágico total (derivado de la hidrólisis de elagitaninos) de entre 38 y 270 mg /100 g, también presenta niveles importantes de procianidinas totales (30 mg/100 g) mientras que los flavonoles son el componente minoritario con valores menores a 19 mg/100 g (Strik et al., 2007).

Mazur et al., (2014) evaluaron la calidad y la composición química de 11 genotipos de frambuesa roja reportando que la media de fenoles totales para todos los genotipos fue de 234 mg/100 g de muestra liofilizada, lo anterior, concuerda con lo reportado en Finlandia por Anttonen & Karjalainen, (2005). Existen numerosos factores que dificultan la cuantificación de compuestos fenólicos, además existe gran variabilidad no solo en los diferentes métodos de extracción y cuantificación, sino también como resultado de las diferencias genéticas entre variedades y por la influencia de factores ambientales (Rao & Snyder, 2010).

2.3.2 Ácidos fenólicos y derivados

Los ácidos fenólicos consisten en dos subgrupos, los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Los ácidos hidroxibenzoicos incluyen al gálico, *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, vainillínico, entre otros. Todos ellos tienen en común la estructura C₆-C₁, por su parte los hidroxicinámicos tienen en común la estructura C₆-C₃, siendo los más comunes el cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y el sinápico (Figura 3) (Bravo, 1998). Los ácidos fenólicos rara vez se encuentran como ácidos libres pero son comúnmente encontrados en formas conjugadas como ésteres y glucósidos, pueden encontrarse en la vacuola en forma soluble o insoluble al estar ligados con polisacáridos de la pared celular (Robards et al., 1999). Los ácidos fenólicos identificados en frambuesa roja incluyen el *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, gálico, 5-caffeoilquinico vainillínico y protocatecuico, algunos de sus derivados incluyen al ácido 5-*p*-cumaroilquinico, ésteres glucosidados de cafeico, *p*-cumárico y ácidos ferúlicos. Además la frambuesa es única en comparación a otras frutillas por sus altos niveles del glucósido del ácido *p*-hidroxibenzoico (Strik et al., 2007).

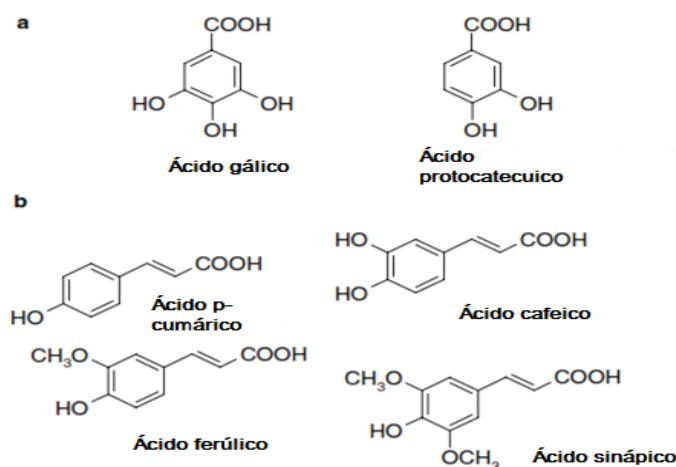


Figura 3. Ejemplos de ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinámicos (b)
(Modificado de Balasundram et al., 2006)

2.3.3 Elagitaninos

Los elagitaninos son taninos hidrolizables que son más estables que los taninos condensados, tienen un amplio rango de estructuras y pueden encontrarse

en sus formas monoméricas, oligoméricas o como polímeros complejos, son definidos como taninos esterificados con una o más unidades de ácido hexahidroxidifénico (HHDP), regularmente la glucosa o el ácido quínico así como grupos galoiil están unidos a la molécula base, no obstante, también se incluyen entre los elagitaninos compuestos derivados de transformaciones oxidativas (Bobinait et al., 2012; Teixeira et al., 2015).

Los oligómeros más comunes en frambuesa roja incluyen a la lambertianina A y la sanguina H-6 (Figura 4) que son trímeros y tetrámeros respectivamente formados por la unión éter de un grupo HDDP y el hidroxilo de un grupo galoiil. Esta unión entre uno de los grupos hidroxilo del galoiil de una molécula y el 4,6 HHDP unido a la posición 4 de la glucosa de otra molécula se conoce como grupo sanguisorboyl (Rao & Snyder, 2010). Cuando los elagitaninos son expuestos a ácidos o bases fuertes sus enlaces éster son hidrolizados y la estructura se rearregla para producir ácido elágico, no obstante, otros compuestos son liberados después de la hidrólisis ácida y el contenido total de elagitaninos se expresa como la suma de estos componentes (Bobinait et al., 2012). Como se mencionó anteriormente muchos estudios sobre contenido de elagitaninos son reportados como ácido elágico hidrolizado, no obstante otros cuantifican a los propios elagitaninos (Koponen et al., 2007).

Mullen et al., 2002 fueron los primeros en caracterizar a los elagitaninos de frambuesa roja en la variedad Glen Ample, reportando el contenido como equivalentes de ácido gálico, obtuvieron 76, 31 y 0.11 mg /100 g de sanguina H-6, lambertianina 6 y ácido elágico respectivamente. El contenido de elagitaninos en frambuesa roja difiere entre variedades. Cuatro cultivares de España mostraron variación en el contenido de ácido elágico desde 20.7 hasta 24.4 mg/100 g (D. Ancos, Gonza, & Cano, 2000), sin embargo, la variación entre 17 cultivares en Finlandia fue mucho mayor, desde 308 hasta 118 mg/100 mg de muestra liofilizada de ácido elágico (Anttonen & Karjalainen, 2005). Lo anterior demuestra que las técnicas de cultivo y la selección del cultivar contribuyen al contenido de elagitaninos, no obstante, el procedimiento de hidrólisis para generar ácido elágico

también juega un papel importante ya que hace al compuesto más susceptible a destrucción por reacciones de óxido-reducción (Rao & Snyder, 2010).

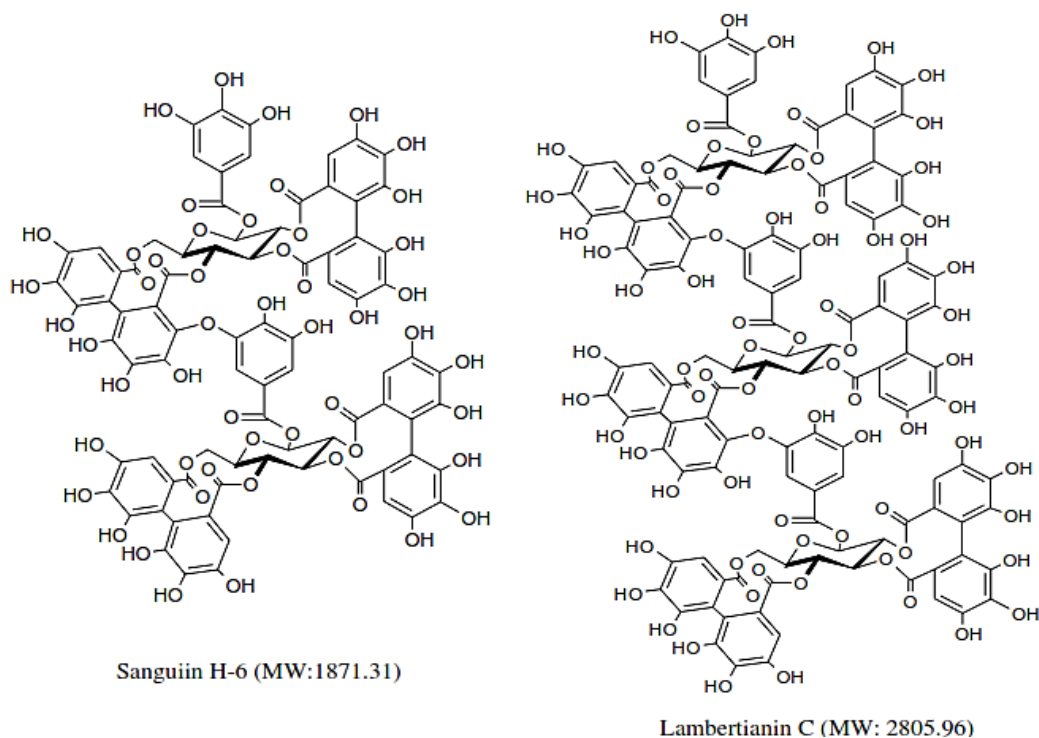


Figura 4. Estructura de lambertianina A y sanguina H-6 (Strik et al., 2007)

2.3.4 Antocianinas

Las antocianinas son algunos de los metabolitos secundarios de las plantas mejor caracterizados en términos de química, mecanismo de coloración, bioquímica, genética y biología molecular. Estructuralmente, las antocianinas son glicósidos o acilglicósidos de antocianidinas. Las agliconas, flavilios o antocianidinas (2-fenil venzo pirilios) difieren en las diferentes substituciones de grupos hidroxilo o metoxilo en sus estructuras básicas. El núcleo de las antocianidinas, el flavilio, tiene el esqueleto típico flavonoide C6-C3-C6 (Figura 5), el cual contiene un anillo heterocíclico benzopirano (anillo C), un anillo aromático condensado (anillo A) y un componente fenilo (anillo B). En la forma de catión, las antocianidinas tienen un doble enlace en el anillo C y por lo tanto tienen carga positiva (Fei et al., 2010; Tanaka et al., 2008).

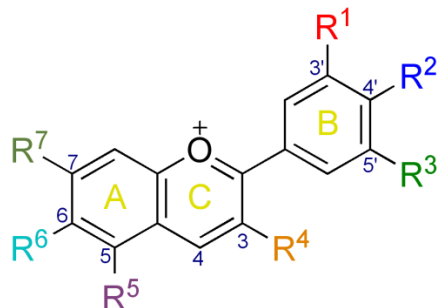


Figura 5. Estructura básica de una antocianidina (Modificado de Jackman & Smith, 1996).

Antocianidina	Estructura Básica	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Color
Apigeninidina		-H	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH	Naranja
Aurantidina		-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	Naranja
Capensinidina		-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	Rojo-Azulado
Cianidina		-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	Magenta
Delfinidina		-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	Morado, azul
Eurofinidina		-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	Rojo-Azulado
Hirsutidina		-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	Rojo-Azulado
Luteolinidina		-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH	Naranja
Pelargonidina		-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	Naranja, salmón
Malvidina		-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	Morado
Peonidina		-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	Magenta
Petunidina		-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	Morado
Pulchelidina		-OH	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	Rojo-Azulado
Rosinidina		-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	Rojo
Triacetidina		-OH	-OH	-OH	-H	-OH	-H	-OH	Rojo

Cuadro 5. Grupos sustituyentes de las principales antocianidinas (Modificado de Jackman & Smith, 1996)

Las antocianidinas son modificadas por fracciones glicosídicas de maneras versátiles, ya sea de forma general dentro de una familia o de forma específica para una especie. En la naturaleza son más frecuentes las antocianinas O-glicosidadas en la posición C3, seguidas de la posición C5; glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa y ramnosa son los azúcares más comunes unidos a las antocianinas, en frutillas incluso se encuentran varios diglucósidos como rutinosa (glucosa y ramnosa), sambubiosa (glucosa y xilosa) y soforosa (glucosa y

glucosa). Además algunas antocianinas están aciladas en los residuos de azúcar con ácidos aromáticos, como ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico y sinápico, o ácidos alifáticos, por ejemplo ácido acético, málico, malónico, oxálico y succínico, en la posición C6 de la fracción de glucosa. La acilación del azúcar en las antocianinas también ayuda a promover la estabilidad química y es responsable del amplio rango de colores presentados en los frutos (Fei et al., 2010; Tanaka et al., 2008). Las seis formas más comunes de antocianidinas son: cianidina, delphinidina, pelargonidina, malvidina, petunidina y peonidina (Cuadro 5), con una distribución en la naturaleza de 50, 12, 12, 12, 7 y 7 % respectivamente, por lo general la cianidina 3-glucósido es el más ubicuo (Figura 6) (Rao & Snyder, 2010).

En 10 genotipos de frambuesa roja evaluadas durante tres temporadas de cosecha las antocianinas más abundantes fueron los glucósidos de cianidina con 96.5% de abundancia y los glucósidos de pelargonidina (3.5%) (Rao & Snyder, 2010); sin embargo, el contenido y perfil de antocianinas presenta variación entre variedades e incluso entre temporadas de cosecha. En cuatro cultivares de frambuesa roja productora de otoño analizados en España las antocianinas totales se encontraron entre 37.04 y 116.27 mg/100g de muestra liofilizada (D. Ancos et al., 2000).

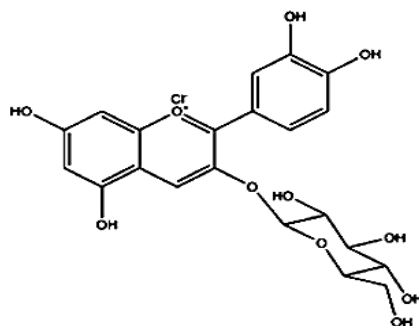


Figura 6. Estructura química de la cianidina3-glucósido (Rao & Snyder, 2010)

En el cultivar Zeva la cianidina 3-soforósido fue la antocianina más abundante (53-58%) mientras que la cianidina 3-rutnosido fue la predominante en el cv. Autumm Bliss (34%), la siguiente en abundancia para todos los cultivares fue la cianidina 3-glucósido (21-36%), otras antocianinas identificadas en el estudio fueron cianidina 3-glucorutinósido, pelargonidina 3-soforósido,

pelargonidina 3-glucorutinósido, malvidina 3- glucósido y delphinina 3–glucósido (Rao & Snyder, 2010). Por otra parte, en el estudio de Mazur et al., (2014) los pigmentos más abundantes para 10 variedades estudiadas fueron la cianidina 3-soforósido, cianidina 3-glucosilrutinosido y cianidina 3-glucósido respectivamente, una composición similar de antocianinas en frambuesa roja fue reportada por otros autores (Borges et al., 2010;Mullen et al., 2003).

2.3.5 Otros compuestos fenólicos

Los flavonoides consisten en el grupo más amplio de compuestos fenólicos en plantas (Harborne & Baxter, 1999). Son compuestos de bajo peso molecular con la estructura típica flavonoide mencionada previamente para las antocianinas (C6-C3-C6), la variación en los patrones de sustitución del anillo C resulta en casi todas las clases de flavonoides: flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, isoflavonas y antocianidinas (Strik et al., 2007).

Los flavonoles tienen un doble enlace entre el C₂ y C₃, un grupo hidroxilo en C₃ y un grupo cetónico en C₄ (posiciones del anillo C del núcleo flavonoide), los flavonoles más comunes presentes en frutillas son la quercetina, miricetina, y kaempferol estos difieren en el número y posición de los grupos hidroxilos del anillo B. Los flavonoles en las plantas se encuentran normalmente como O-glucósidos con azúcares en la posición C₃, glucosa y galactosa son los más comunes pero también pueden encontrarse rutinosa, xilosa, arabinosa, entre otros. Además, al igual que en la antocianinas los azúcares en los flavonoles también pueden estar acilados con ácidos como: acético, glutárico, glucónico, oxálico y cafeico (Strik et al., 2007).

La frambuesa roja presenta además de antocianinas otros flavonoides, el principal flavanol-glucósido es la quercetina-3-glucorónido y kaempferol 3-glucorónido presente en 1.1 mg/100 g y 0.6 mg/100 g de peso fresco respectivamente, mientras que el flavan 3-ol más abundante es la catequina con 2.4 mg/100 mg de peso fresco (Rao & Snyder, 2010).

Por su parte las proantocianidinas al igual que los elagitaninos son taninos poliméricos. A diferencia de estos, están compuestas de unidades de flavan 3-ol y son clasificados como taninos condensados. Stewart et al., (2001) reportaron en la frambuesa roja finlandesa 78.8 mg/100 mg de peso fresco de proantocianidinas en forma de procianidinas y propelargonidinas que consisten en unidades de epicatequina y de epiafzelequina respectivamente, un resumen del contenido de compuestos fenólicos en frambuesa roja es presentado en el Cuadro 8

2.4 Comparación del perfil fenólico de frambuesa con otras frutillas

Los compuestos fenólicos están presentes en prácticamente todos los alimentos de origen vegetal. Por ello, las frutas, algunas hortalizas y algunas de sus bebidas son la fuente principal de estos compuestos en la dieta humana (Balasundram et al., 2006).

Existen grandes diferencias en el contenido de fenoles totales entre diferentes productos e incluso entre el mismo producto. Estas diferencias se pueden deber a la complejidad estructural de estos compuestos y a los diferentes métodos de extracción y de análisis utilizados (Bravo, 1998). No obstante, estas diferencias dependen también de un gran número de factores intrínsecos (genero, especie y variedad) y extrínsecos (agronómicos, ambientales, de manejo y almacenamiento).

En el Cuadro 6 se resumen los datos reportados respecto al contenido de compuestos fenólicos presente en diferentes frutos, no obstante, se trata de lo reportado por un solo autor y pueden existir diferencias significativas en el contenido cuando se consultan otras fuentes, sin embargo, más allá del contenido se busca recalcar que estos resultados sugieren que el contenido de compuestos fenólicos en algunos frutos como plátano, durazno, papaya, piña, entre otros, es significativamente inferior al reportado en las frutillas (zarzamora, arándano azul, arándano rojo, fresa y frambuesa). Las frutillas presentan colores que van del rojo al púrpura y que se deben a su alto contenido de antocianinas, no obstante, también son una fuente rica de otros flavonoides (flavonoles, flavan-3-ols y proantocianidinas) y de elagitaninos. (Strik et al., 2007).




Cuadro 6. Contenido de fenoles en frutos (Balasundram et al., 2006)

Fruto	Contenido de fenoles totales ^a	Referencia
Manzana	296.3 ± 6.4	(Sun et al., 2002)
Plátano	90.4 ± 3.2	(Sun et al., 2002)
Guayaba (blanca)	247.3 ± 4.5	(Luximon-Ramma et al., 2003)
Mango	56 ± 2.1	(Luximon-Ramma et al., 2003)
Durazno	84.6 ± 0.7	(Sun et al., 2002)
Papaya	57.6 ± 4.1	(Luximon-Ramma et al., 2003)
Piña	94.3 ± 1.5	(Sun et al., 2002)
Zarzamora	417-555	(Sellappan et al., 2002)
Arándano azul	270-930	(Sellappan et al., 2002)
Arándano rojo	527.2 ± 21.5	(Sun et al., 2002)
Fresa	161-290	(Sun et al., 2002)
Frambuesa	114.178	(D. Ancos et al., 2000)

^a mg equivalentes de ácido gálico / 100 g de muestra fresca.

En el Cuadro 7 se presentan valores de los contenidos de fenoles totales, antocianinas y ácido elágico reportados por diferentes autores y recopilados por Strik et al. (2007) para arándano azul, zarzamora y frambuesa roja. El mayor contenido de fenoles totales reportado es para zarzamora (1056 mg equivalentes de ácido gálico / 100 g de muestra fresca) (Siriwoharn et al., 2004), no obstante, las variaciones son significativas entre diferentes autores. El arándano azul y la frambuesa presentan rangos similares en el contenido de fenoles totales por lo cual no se podría generalizar sobre cual frutilla presenta mayor contenido de estos compuestos, el contenido de antocianinas por otra parte es claramente mayor en arándano seguido por la zarzamora y por la frambuesa, lo cual concuerda con el color que las frutillas presentan. En cuanto al ácido elágico a diferencia de la frambuesa el arándano no contiene elagitaninos por lo cual el contenido de ácido elágico es menor a 5 mg / 100 g de muestra fresca, la zarzamora por su parte presenta un bajo contenido de estos compuestos.

Cuadro 7. Contenido de fenoles totales, antocianinas y ácido elágico en frutillas (Strik et al., 2007)

Frutilla	Fenoles totales ^a	Antocianinas ^b	Ácido elágico ^c
 Arándano azul	106-585	20-495	<5
 Zarzamora	114-1056	31-326	2-34
 Frambuesa	192-512	19-99	38-270

^a mg equivalentes de ácido gálico / 100 g de muestra fresca.

^b mg equivalentes de cianidina 3-glucósido / 100 g de muestra fresca.

^c mg equivalentes de ácido elágico / 100 g de muestra seca (después de hidrólisis ácida)

2.5 Importancia de los compuestos fenólicos en plantas y ecosistemas

El estrés puede ser definido como cualquier factor (biótico o abiótico) que modifica positiva o negativamente el funcionamiento, crecimiento y reproducción de la planta. Todas las plantas sufren algún tipo de estrés durante las diferentes etapas de su ciclo de vida. Sombra, luz excesiva, alta o baja temperatura, deficiencia de nutrientes, estrés hídrico, estrés por herbívoros y enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus son ejemplos de diferentes tipos de estrés sufrido por plantas (Cheynier et al., 2013). El primer ejemplo de esta adaptación ante un ambiente cambiante se dio hace aproximadamente 400 millones de años

cuando las algas carófitas dieron lugar a las primeras plantas terrestres, lo anterior mediante la generación de compuestos que protegieron a la planta de la radiación UV que en las algas es absorbida por el oxígeno del agua, esto mediante la integración de la vía del ácido shikímico que generó flavonoides como chalconas, auronas, flavonoles y flavonas que absorben luz UV y que actúan como fotoprotectores en Bryophyta (plantas terrestres no vasculares) y en todas las divisiones de plantas terrestres (Boudet, 2007; Pourcel et al., 2007). Además de la radiación UV existen otros fenómenos en el ambiente tales como plagas y patógenos que estresan a las plantas y son nuevamente los polifenoles los que proveen la adaptación a estos desafíos ambientales, como ejemplo, una desviación de la vía biosintética de las antocianinas a las leucoantocianidinas produce catequinas cuya polimerización genera taninos condensados, compuestos de importancia para la planta contra el ataque de virus, bacterias, hongos, insectos y herbívoros (Cheynier et al., 2013).

El crecimiento de las plantas y su productividad son afectados en gran medida por el estrés ambiental, lo que ocasiona que sean desviadas cantidades considerables de sustratos del metabolismo primario al secundario para producir metabolitos de defensa, no obstante, el costo se ve reflejado en la disminución de la tasa de crecimiento y en la capacidad reproductiva de la planta. La activación de las defensas de la planta después de percibir los factores de estrés involucra una compleja red de señales de amplificación y compensación (Herms & Mattson, 1992).

La acumulación de compuestos fenólicos en los tejidos de las plantas es una característica distintiva de estrés (Suzuki et al., 2003). Esta acumulación se debe al incremento en la actividad de las enzimas relacionadas con la producción de fenoles: fenilalanina amonio liasa (PAL), chalcona sintasa (CHS), fosfoenolpiruvato (PEP) carboxilasa, entre otras, lo anterior sugiere un cambio de la producción de sacarosa en favor de procesos de defensa y reparo de daños (Lattanzio et al., 2009). Los compuestos fenólicos aparentemente contribuyen a una reducción de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y por tanto tienen efecto en los procesos

celulares sensibles a las ROS, no obstante, estos compuestos han sido implicados de manera más directa en vías de transducción de señales. Un caso bien documentado es el rol de los flavonoides en la modulación del transporte de la fitohormona auxina (Cheynier et al., 2013), la quercetina, la apigenina y el kaempferol inhiben su transporte través de la membrana plasmática, además es conocida la mediación de los flavonoides en las interacciones entre plantas y organismos en la rizosfera (Beveridge et al., 2007).

Las antocianinas por otro lado son flavonoides que generan los colores, rojo, azul y púrpura abundantes en diversos tejidos de las plantas, estos compuestos son sintetizados como señales visuales para atraer polinizadores y otros animales para llevar a cabo la dispersión de las semillas, así como señales moleculares para protección contra diversos tipos de estrés y son almacenadas en las vacuolas de células especializadas (Mol, Grotewold, & Koes, 1998).

Acerca del rol de los compuestos fenólicos en las vías de transducción de señales entre la percepción de un estímulo ambiental y la respuesta fisiológica de la planta se ha observado la inducción de mRNAs que codifican glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, lo anterior se interpreta como el cambio en el metabolismo de carbohidratos para proveer sustratos a la vía del ácido shikímico (Logemann et al., 2000). Además bajo diversas condiciones de estrés la planta acumula una gran cantidad de prolina libre, su síntesis es simultánea a la oxidación de NADPH. Un incremento en la relación $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ incrementa la actividad de la vía de las pentosas fosfato, lo cual provee precursores para la vía del ácido shikímico y por ende para la síntesis de fenoles (Verslues & Sharma, 2010).

2.6 Propiedades funcionales de compuestos fenólicos

Las frutillas entre las que se incluye a la frambuesa son de gran importancia entre las frutas debido a su alto contenido de compuestos fitoquímicos antioxidantes (Strik et al., 2007). La evidencia sugiere que el estrés oxidativo inducido por especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por la actividad metabólica normal y por ciertos estilos de vida es un factor etiológico de importancia causante de enfermedades crónicas. Los antioxidantes obtenidos de

Cuadro 8. Compuestos fenólicos presentes en frambuesa roja (Rao & Snyder, 2010)

Clase	Grupo	Compuesto	Contenido (mg/100g)	Referencia
Flavonoides	Antocianinas	Cianidina 3-soforósido	25.4	(Kassim et al., 2009)
		Cianidina 3-glucosilrutinosido	7.2	(Kassim et al., 2009)
		Cianidina 3-glucósido	3.9	(Kassim et al., 2009)
		Cianidina-rutinosido	2.3	(Kassim et al., 2009)
		Pelargonidina-3-soforósido	0.06	(Kassim et al., 2009)
		Pelargonidina-3-glucosilrutinosido	0.1	(Kassim et al., 2009)
		Pelargonidina-3-glucósido	0.12	(Kassim et al., 2009)
		Pelargonidina-3-rutinosido	0.005	(Kassim et al., 2009)
	Flavon-3-ol	(+)-catequina	2.4	(Määttä-Riihinen et al., 2004)
	Flavonoles	Kaempferol-3-glucoronido	0.6	(Määttä-Riihinen et al., 2004)
Quercetina-3-glucoronido		1.1	(Määttä-Riihinen et al., 2004)	
Ácidos fenólicos	Ácidos hidroxibenzoicos	Ácido gálico	21.5	Mattila et al., 2006)
		Ác. p-hidroxibenzoico	1.82	(Mattila, Hellström, & Törrönen, 2006)
	Ácidos hidroxicinámicos	Ac. p-cumárico	0.8	(Mattila et al., 2006)
		Ac. cafeico	0.89	(Mattila et al., 2006)
		Ac. ferúlico	0.85	(Mattila et al., 2006)
		Ac. sinapico	0.27	(Mattila et al., 2006)
		Ac. vainillínico	1.04	(Mattila et al., 2006)
Ac. cinámico	0.27	(Mattila et al., 2006)		
Taninos hidrolizables	Elagitaninos	Sanguina H-6	76	(Koponen et al., 2007b)
		Lambertianina C	31	(Koponen et al., 2007b)
		Ácido elágico	0.11	(Koponen et al., 2007b)
Taninos condensados	Proantocianidinas	Procianidina-propelargonidina	30.2-78.8	(Gu et al., 2004)
Lignanós			0.02	(Gu et al., 2004)

la dieta pueden mitigar los efectos dañinos de las ROS en macromoléculas celulares como lípidos, proteínas y DNA y así reducir el riesgo de contraer enfermedades crónicas (Rao & Snyder, 2010).

Se ha reportado que debido a su capacidad antioxidante los compuestos fenólicos son responsables de un gran número de beneficios a la salud, de los cuales disminuir el riesgo de padecer enfermedades crónico degenerativas entre las que se incluyen enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes y otros tipos de enfermedades inflamatorias es el que ha atraído mayor interés (Skrovankova et al., 2015).

Los elagitaninos así como los conjugados de ácido elágico presentes en altos niveles en la frambuesa han demostrado efectos contra enfermedades cardiovasculares y varios tipos de cáncer además de efectos antiinflamatorios y antiangiogénicos (Sangiovanni et al., 2013); por otra parte, Peiffer et al. (2016) en un estudio sobre el efecto del consumo en la dieta de antocianinas provenientes de zarzamora, mencionan que es altamente recomendable consumir frutos con alto contenido de antocianinas debido a su alta capacidad antioxidante, actividad antiviral y antimicrobiana y posibles efectos positivos contra el inicio o desarrollo de un gran número de enfermedades (cardiovasculares, diferentes tipos de cáncer, etc.).

Por otra parte, el interés por los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados ha ido en aumento debido que han sido asociados con la disminución del riesgo de contraer diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas (Rocha et al., 2012).

No obstante, una importante cuestión a considerar es el rol de compuestos fenólicos como “antinutrientes” particularmente por su habilidad de reducir la digestibilidad de proteínas ya sea por precipitación directa o por inhibición de la actividad enzimática (Balasundram et al., 2006). Los taninos por ejemplo forman complejos con las proteínas y los carbohidratos de la dieta así como con enzimas con funciones en el metabolismo primario, además han demostrado reducir la

absorción de minerales como hierro y cobre (Naurato et al., 1999; Samman et al., 2001). Existe controversia sobre el efecto potencialmente adverso por el consumo excesivo de compuestos fenólicos, no obstante, aún existe limitada información al respecto. Algunos estudios sugieren que la ingestión excesiva de compuestos fenólicos puede tener un rol en carcinogenicidad, genotoxicidad, interacción con fármacos, entre otros (Balasundram et al., 2006).

2.7 Producción y comercialización de frambuesa

2.7.1 Mundial

La frambuesa es una frutilla de importancia mundial cuya producción se ha incrementado en los últimos años (Figura 7). La producción mundial en 2014 fue de 612,571 toneladas y la región con mayor producción fue Europa con el 73.3% seguida por América con el 25.1% y Asia con 2.4%, mientras que Oceanía y África juntas solo representan el 0.2% de la producción (Figura 8). Rusia es el principal productor de frambuesa con un total de 144 mil toneladas registradas en 2014 lo que representó el 23.5% del total de la producción mundial. Entre los países con mayor producción se destacan además de Rusia, Polonia, Estados Unidos, Serbia y México en el 5° lugar con el 5.8% de la producción (Figura 9) (FAOSTAT, 2015).

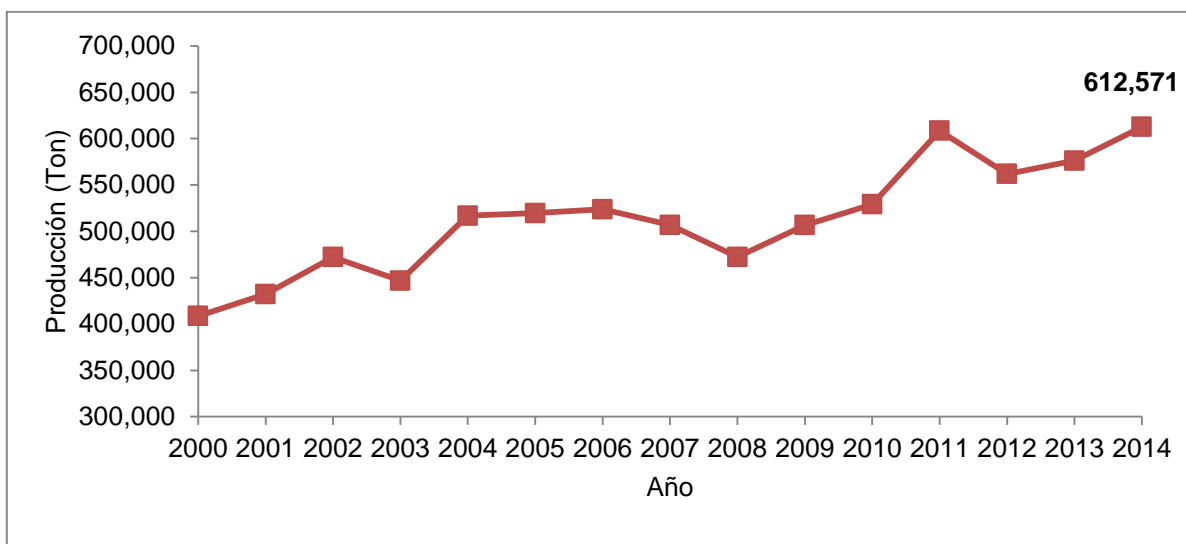


Figura 7. Producción mundial de Frambuesa del 2000 al 2014 (FAOSTAT, 2015)

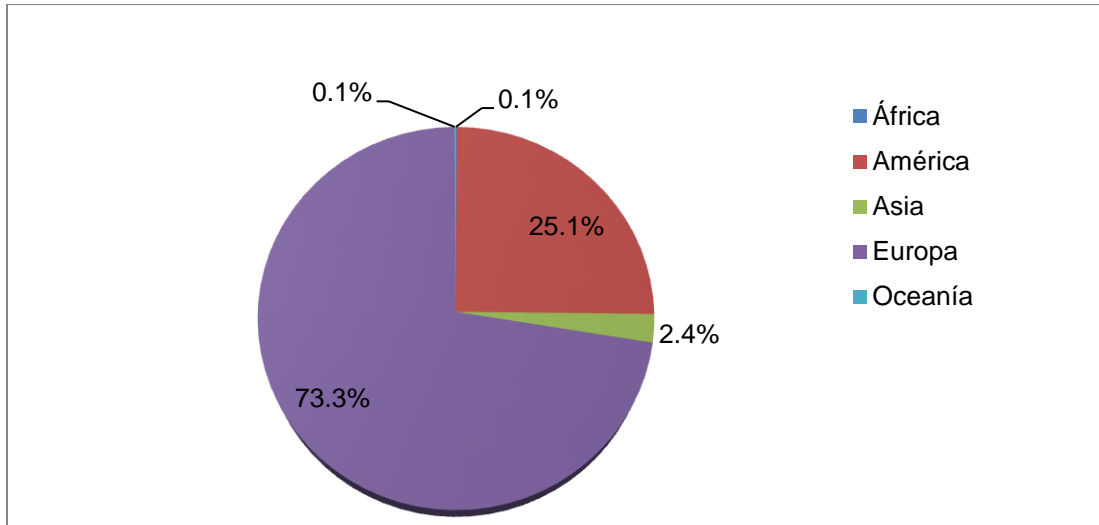


Figura 8. Porcentaje de la producción de frambuesa por región en 2014 (FAOSTAT, 2015)

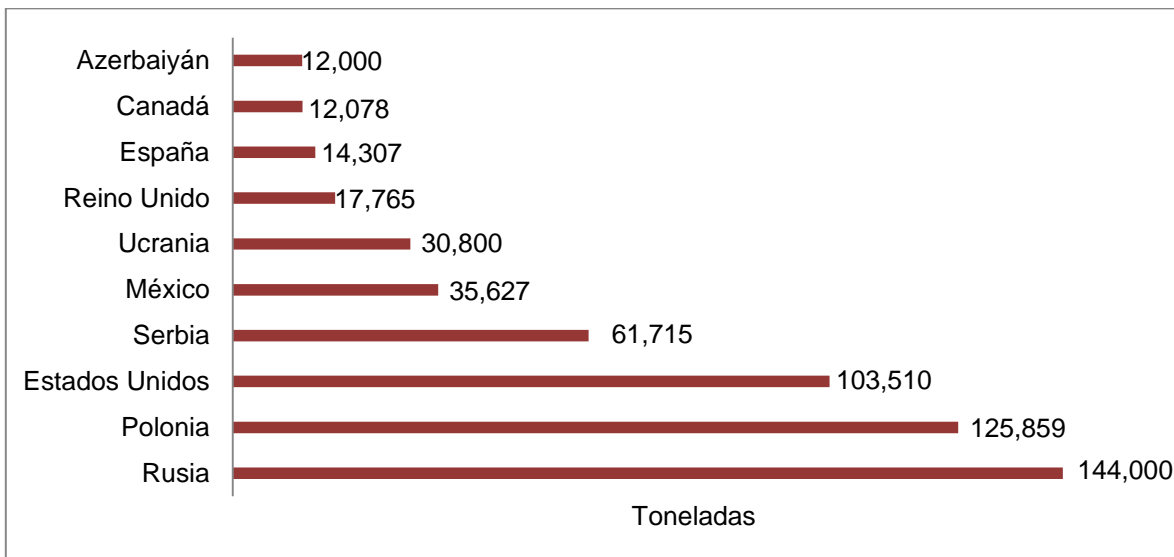


Figura 9. Principales productores de Frambuesa a nivel mundial en 2014 (FAOSTAT, 2015).

2.7.2 Nacional

El cultivo nacional de frambuesa continua en ascenso, con un incremento en 2016 de la superficie de siembra del 69% respecto al 2007 (Figura 10). México es el 5° productor a nivel mundial con un total de 112, 661 toneladas en 2016 (SIAP, 2016). Los estados de la república mexicana con mayor participación en la producción (98.87%) fueron Jalisco, Michoacán y Baja California con 85,960, 16,644 y 9,915 toneladas respectivamente (Cuadro 9) (SIAP, 2017).

Respecto al valor de la producción de la frambuesa el estado de Jalisco es el líder con un 43.6%, Baja California 30.2% y Michoacán 26.1% (Figura 11). El rendimiento promedio obtenido en la cosecha de la frambuesa mexicana es de 35.6 Ton/ Ha y es el segundo mejor del mundo, solo debajo del conseguido por Holanda que no figura entre los principales productores.

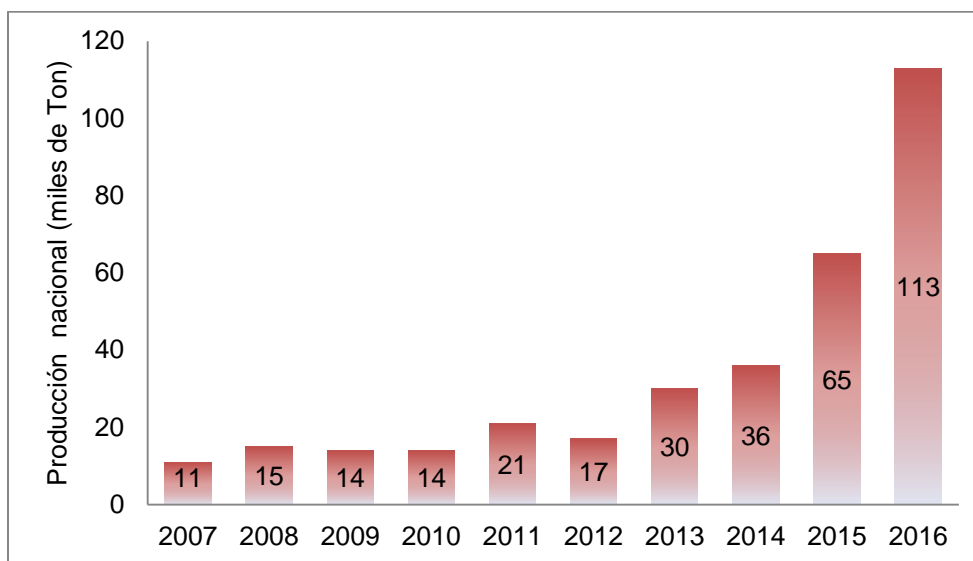


Figura 10. Volumen de la producción nacional de frambuesa de 2007 al 2016 (SIAP, 2017)

Cuadro 9. Producción nacional de frambuesa en 2016 (SIAP, 2017)

Ubicación	Producción (Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)	Rendimiento (Ton/Ha)
Jalisco	85,960.07	1,706,940.75	19.33
Michoacán	16,643.74	1,019,300.00	14.15
Baja California	9,914.70	1,181,513.51	17.64
México	117.10	2,767.38	6.51
Colima	14.00	539.05	14.0
Distrito Federal	8.86	107.50	3.22
Puebla	3.00	63.0	6.0
Total	112,661.47	3,911,231.34	17.8

2.7.3 Importancia económica

El comercio internacional de frutillas continúa creciendo y como resultado de ello México generó un superávit comercial de 531 millones de dólares por la venta de frambuesa al exterior en 2016, lo que representa un incremento de más del 4% respecto al año anterior donde se generaron 508 millones de dólares (Figura 12). México exporta frambuesa a 25 países de los cuales Estados Unidos figura como el principal destino con el 95.8% del volumen total comercializado, sin embargo, México podría intensificar sus exportaciones de frambuesa con los países europeos, principalmente Holanda y Bélgica aunado a que actúa como un proveedor de contra estación (SIAP, 2017).



Figura 11. Porcentaje del valor de la producción de frambuesa por entidad federativa (SIAP, 2017)

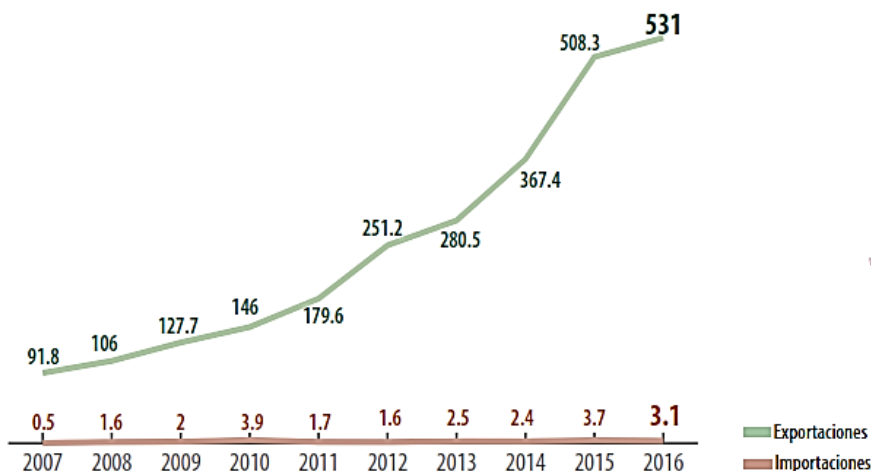


Figura 12. Evolución del comercio exterior de frambuesa 2007-2016 (millones de dólares) (SIAP, 2017).

Desde sus inicios hace aproximadamente 20 años, el cultivo de frutillas en México, incluyendo a la frambuesa, ha sido un ejemplo de beneficio social y desarrollo en las regiones productoras. El alta demanda de mano de obra durante el desarrollo del cultivo y en especial durante la cosecha hace que estos cultivos contribuyan de manera importante en el desarrollo rural de las regiones. Actualmente municipios del estado de Michoacán como Ziracuaretiro, Tacámbaro, Ario de Rosales, Los Reyes, Peribán, Tocumbo, Zamora, Jacona, entre otros, basan buena parte de su economía en torno al cultivo de las frutillas. Más recientemente, varios municipios de Jalisco y Colima han incursionado en estos cultivos (Segura, Rebollar-Alviter, Boyzo-Marín, Hernández-Bello, & López-Medina, 2012).

2.8 Manejo y almacenamiento del producto fresco

2.8.1 Consideraciones durante la cosecha

La frambuesa es un fruto no climatérico y posee una de las más altas tasas de respiración entre los frutos (100 ml de CO₂ / Kg . h a 20°C) (A. A. Kader & Pelayo-Zaldivar, 2007), aunado a su alto contenido de azúcares la vuelve una de las frutas más perecederas, resultando en una vida poscosecha muy corta (3-5 días a temperatura ambiente). La fruta cosechada antes de su madurez óptima tendrá una vida útil más larga que la cosechada en madurez óptima, sin embargo,

presentará menores niveles de azúcares y de antocianinas. El estado óptimo de madurez para la frambuesa se encuentra cuando la frutilla se vuelve completamente roja pero antes de que desarrolle tonalidades más oscuras (Chen et al., 2013). También para su cosecha se toma en cuenta la facilidad para ser desprendida del receptáculo el cual está directamente relacionado al desarrollo del color (Stavang et al., 2015). Las frutillas no deben de ser manipuladas antes de ser cosechadas y solamente las que no presenten daños deben ser colocadas en el empaque, la magnitud del daño causado por el cosechador puede ser tan grande como para enmascarar otras causas de deterioro. La fruta sobremadura o deteriorada debe ser cosechada y descartada debido a que puede ser susceptible al desarrollo de mohos (Kim & Harris, 2003).

Dentro de las enfermedades que pueden presentar los frutos de frambuesa las provocadas por hongos son las más importantes, entre ellos *Botrytis spp.* es el patógeno que más comúnmente afecta a la frambuesa, una vez que éste se desarrolla en fruta sobremadura produce esporas, generando así grandes cantidades de inóculo que pueden infectar a fruta que aún está en maduración (Harshman et al., 2014).

2.8.2 Manejo poscosecha

Debido a su alta perecebilidad el manejo poscosecha de la frambuesa debe ser sumamente cuidadoso para asegurar una óptima calidad de la fruta al momento de su consumo. Los objetivos del manejo poscosecha en frambuesa son disminuir la tasa de respiración y transpiración que resultan en pérdidas por daños y por la aparición de hongos. Entre las condiciones que disminuyen la tasa de respiración se encuentran el almacenamiento a bajas temperaturas y su combinación con atmósferas controladas (altos niveles CO_2 y bajos de O_2) en las cámaras de almacenamiento o por la aplicación de una atmósferas modificadas en empaques con diferente permeabilidad a gases , además la pérdida de peso disminuye por la reducción en los niveles de humedad (Jin et al., 2012).

El rápido traslado al frío de la fruta es esencial durante las primeras horas después de la cosecha, para bajar la tasa de respiración y evitar el deterioro, los

productores deben tener facilidades para realizar un preenfriado para remover el calor de campo y posteriormente trasladar la fruta para el almacenamiento en frío, por cada hora de retraso en el enfriado, la vida útil se reduce en un día. Los productores por lo regular cosechan tan temprano en la mañana como sea posible para reducir el calor de campo. Una vez que las frutillas han sido enfriadas, los empaques son envueltos en plástico para prevenir la pérdida de agua y su condensación cuando son removidas del enfriador, la temperatura de almacenamiento puede ser mantenida hasta a -1°C , las frutillas no se congelaran a esta temperatura debido a que los azúcares presentes disminuyen el punto de congelación (Joles et al., 1994).

Cuando la temperatura disminuye, la cantidad de humedad en el aire también lo hace, para la frambuesa es crítico mantener la humedad relativa (HR) entre 90 y 95% simultáneamente a bajas temperaturas ($-0.5-1^{\circ}\text{C}$) para prevenir la pérdida de agua. A 25°C y 30% de HR la fruta pierde agua 35 veces más rápido que a condiciones de 0°C y 90% de HR (Funt & Hall, 2013). Por otra parte, las AC disminuyen la tasa de respiración y el crecimiento de patógenos (Haffner et al., 2002), no obstante, se pueden generar alcoholes y aldehídos de sabor y olor desagradable los cuales se acumulan en la frambuesa cuando la concentración de O_2 es limitada por un largo periodo de tiempo, además altas tasas de CO_2 pueden causar oscurecimiento en los frutos (Kim & Harris, 2003).

El manejo poscosecha de frutillas es regularmente sub-óptimo, principalmente al final de la cadena de distribución, en medios de transporte, tiendas y en los hogares, en donde el abuso de la temperatura afecta la calidad física y química del fruto, se ha estimado que las pérdidas desde el momento de la cosecha hasta el consumo de la frambuesa son de más del 40%, la mayoría de éstas son el resultado del mal manejo poscosecha (Jin et al., 2012, Krüger et al., 2011).

Se ha reportado que las drupelas de frambuesa se mantienen unidas únicamente por entrelazamiento a través de vellos epidérmicos y que no mantienen conexión celular entre ellas; el entrelazamiento entre estas vellosidades

externas, el número de drupelas y el área de contacto entre éstas contribuye al grado de asociación y cohesividad entre cultivares, otras características morfológicas como la forma de la fruta, la forma de la cavidad del receptáculo y la forma de la drupela pueden contribuir a la fuerza de cohesión y determinar la poca resistencia mecánica de la fruta con tendencia a deformaciones y al drenado del jugo al poco tiempo después de ser cosechadas. (De Michelis, 2003).

2.9 Tecnologías poscosecha para extender la vida de anaquel

2.9.1 Atmósferas controladas y modificadas

En las atmósferas modificadas (AM) y controladas (AC) se eliminan o añaden gases para crear una composición atmosférica alrededor del producto que difiera de aquella del aire (78.08% de N₂, 20.95% de O₂ y 0.03% de CO₂.) Usualmente esto involucra la reducción de oxígeno y/o la elevación de las concentraciones de dióxido de carbono (Kader & Pelayo-Zaldivar, 2007). Las AC y las AM solamente difieren en el grado de control, la AC implica un control constante de la composición de gases mientras que en las AM la concentración de gases depende del intercambio de gases del producto con el ambiente a través de una barrera entre estos. El uso de atmósferas debe considerarse como un complemento al manejo de la temperatura y humedad relativa apropiadas (Yahia, 2009). El potencial beneficio o riesgo de su uso depende del producto, variedad, edad fisiológica, composición atmosférica, así como de la temperatura y duración del almacenamiento (Alamar et al., 2017). Lo anterior ayuda a explicar la amplia variabilidad de los resultados entre los reportes publicados para las AM o AC utilizadas en un producto dado. El desarrollo de la tecnología de atmósferas ha permitido su uso creciente durante el transporte, el almacenamiento temporal o el almacenamiento a largo plazo de los productos hortofrutícolas (Usall, Ippolito, Sisquella, & Neri, 2016).

Si se usan adecuadamente las AC y AM pueden complementar el uso de la temperatura aportando algunos de los siguientes beneficios:

- Retraso en la senescencia junto con los correspondientes cambios bioquímicos y fisiológicos, lo que implica bajar la tasa de respiración y de

producción de etileno, reducir el ablandamiento y otros cambios composicionales (Hwang et al., 2012).

- Reducir la sensibilidad a la acción del etileno a niveles de O₂ por debajo del 8% o CO₂ por arriba de 1%.
- Reducción de fisiopatías como el daño por frío y algunas alteraciones como el escaldado de las manzanas (Siddiqui, 2016).
- Puede reducir la severidad e incidencia de pudriciones, concentraciones elevadas de CO₂ (10-15%) inhiben significativamente el desarrollo de las pudriciones causadas por *Botrytis* (Goulart et al., 1992).

En la mayoría de los casos, la diferencia entre combinaciones benéficas y perjudiciales de atmósfera es relativamente pequeña, las concentraciones pueden no ser toleradas por el producto dando lugar a un deterioro aún más rápido.

- Maduración irregular de los frutos al exponerlos a niveles de O₂ por debajo del 2% y niveles de CO₂ por arriba del 1% (A. A. Kader & Pelayo-Zaldivar, 2007).
- Generación de sabores y olores desagradables a concentraciones muy bajas de oxígeno y muy altas de CO₂ como resultado de la respiración anaeróbica y del metabolismo fermentativo (Siddiqui, 2016).
- Aumento en la susceptibilidad a pudriciones por daño fisiológico del fruto (Forney et al., 2015).

Las frutas y hortalizas frescas varían en gran medida en su tolerancia a los cambios en la composición atmosférica, es decir, a los niveles extremos más allá de los cuales se esperaría daño fisiológico, estos límites cambian con las fluctuaciones de la temperatura óptima ya que las necesidades de oxígeno para la respiración aeróbica del tejido aumentan con temperaturas altas, la producción de CO₂ por su parte incrementa con el aumento de la temperatura pero su solubilidad disminuye (Petracek et al., 2002).

2.9.2 Atmósferas controladas (AC) en frambuesa

En el almacenamiento en AC dentro de una cámara refrigerada la composición de gases se monitorea regularmente y es adaptada para mantener las concentraciones óptimas de gases dentro de los niveles de tolerancia. No obstante, la aplicación al ser costosa de operar es más utilizada en productos que se pueden almacenar a largo plazo como las manzanas, el kiwi y las peras (Siddiqui, 2016) . No obstante, se ha evaluado su aplicación comercial en una gran variedad de productos entre los que se incluye la frambuesa (Forney et al., 2015; Giovanelli et al., 2014; Goulart et al., 1992; Haffner et al., 2002), estos estudios demostraron la efectividad de las AC para extender la vida poscosecha de este fruto con concentraciones de O₂ (3-10%) y de CO₂(5-30%), no obstante también se ha reportado daño fisiológico y decoloración de los frutos en el almacenamiento continuo en AC.

Haffner et al. (2002) evaluaron el potencial de almacenamiento de 5 variedades de frambuesa sometidas a dos condiciones diferentes de atmósfera controlada (10% O₂+15% CO₂, 10% O₂ + 31% CO₂) y a un control en aire (21% O₂ + 0.5% CO₂) donde encontraron que ambas condiciones de AC disminuyeron significativamente la incidencia de pudriciones así como la tasa de respiración siendo más efectiva la reducción con la AC de 31%CO₂, no obstante no se mejoró la firmeza de los frutos comparada con el control y se observó además una disminución en el contenido de antocianinas, lo anterior con repercusiones en el potencial antioxidante de los frutos. Se ha reportado que condiciones de CO₂ entre 15 y 20% retardan la aparición de pudriciones y extienden la vida poscosecha de frambuesa (Goulart et al., 1992), no obstante se observó daño fisiológico en 9 variedades de frambuesa (daño por CO₂), asociado a concentraciones de CO₂ >12.5 kPa con una concentración de oxígeno de 7.5 kPa, este se vio reflejado en decoloración, desarrollo de malos olores y ablandamiento de los frutos (Forney et al., 2015), lo anterior también ha sido observado en arándanos donde con 15 kpa de CO₂ se observó daño fisiológico (Yahia, 2009). Sin embargo, la susceptibilidad al daño fisiológico por elevadas concentraciones de CO₂ puede estar influenciada tanto de factores genéticos como ambientales, Toivonen et al. (1999) reportó que

en frambuesa almacenada a 1°C durante 7 días en empaques con AM a concentraciones aproximadas de 10 kPa de CO₂ y 5 kPa de O₂ se presentó una mayor pérdida de firmeza en las variedades “Chilliwack” y “Qualicum” que en la “Meeker” comparada con los frutos almacenados en aire.

Respecto a la concentración de O₂, cuando los niveles bajan del nivel crítico hay un cambio hacia el metabolismo fermentativo de los frutos lo que genera malos olores por la generación de etanol y acetaldehído (A. A. Kader & Pelayo-Zaldivar, 2007). Burton (1978) reportó que las frambuesas almacenadas en 2 y 3% de O₂ desarrollaron malos olores mientras que Joles et al. (1994) observaron que frambuesas mantenidas a niveles de O₂ superiores a 4 kPa en 0°C, 6kPa a 10°C y 8 Kpa a 20°C evitaron el cambio al metabolismo fermentativo. A pesar de los trabajos previamente descritos, los estudios en frambuesa donde se evalúan diferentes condiciones de AC para diferentes variedades y su efecto a nivel fisiológico en el fruto son escasos y poco conclusivos.

Debido a la creciente necesidad de desarrollar tecnologías sustentables, recientemente se ha evaluado la aplicación de atmósferas controladas en intervalos cortos de tiempo a lo largo del almacenamiento, como una estrategia para reducir los costos energéticos, los costos económicos por la compra de gases y mantenimiento de los equipos y porque se ha observado que intervalos cortos de AC disminuyen significativamente los efectos negativos en los frutos asociados al almacenamiento prolongado en AC (Alamar et al., 2017). La exposición a AC en tiempos cortos durante el almacenamiento, también denominada AC dirigida ha resultado tan efectiva como la AC aplicada de manera continua para extender la vida poscosecha de productos hortofrutícolas Alamar et al. (2017) evaluaron esta estrategia en aguacate donde 5 días de AC al comienzo del almacenamiento extendieron la vida poscosecha en 2 días, además la aplicación de 5 días en aire + 5 días en AC resultó en frutos con menor incidencia de daño por frío. En fresa 3 días de AC al inicio del almacenamiento resultó en frutos más firmes en comparación al control sin AC y con 3 días más de vida poscosecha basado en la incidencia de pudriciones. Por su parte Veazie & Collins

(2002) evaluaron la AC dirigida en zarzamora en donde frutos expuestos a 7 días de AC + 7 días en aire disminuyeron significativamente el porcentaje de pudriciones y el porcentaje de frutos con sangrado respecto a los frutos control almacenados por 14 días en aire , así mismo se incrementó el porcentaje de zarzamora comercializable. No obstante, no fue evaluado si estos beneficios son significativamente diferentes con los obtenidos por 14 días en AC

Esta evidencia demuestra que, es posible reducir el tiempo de aplicación de AC con los beneficios que esto conlleva y al mismo tiempo extender la vida poscosecha de los productos de manera similar a lo obtenido con un almacenamiento continuo en AC, no obstante esta estrategia no ha sido estudiada en frambuesa .

Debido a la importancia económica que tiene el cultivo de la frambuesa en México, y por la problemática que representa para la industria exportadora que su conservación a bajas temperaturas (0-1°C) no logra superar vidas de anaquel mayores a dos semanas aunado a que se han introducido en México diferentes variedades de las cuales no se conoce sus respuestas a diferentes tipos de tecnologías poscosecha, en el presente trabajo se planteó evaluar las aplicación de atmósferas controladas en diferentes tiempos de exposición en la vida de anaquel y en el perfil de compuestos fenólicos de variedades de frambuesa roja cultivadas en México.

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de frambuesa en México ha adquirido en los últimos años gran relevancia comercial derivada de su alto valor económico, a sus características únicas de sabor y olor así como de la presencia de compuestos bioactivos. Sin embargo es un producto altamente perecedero con una de las tasas de respiración más altas entre los frutos lo que le confiere una vida poscosecha no mayor a 14 días (-0.5-1°C / 95%HR), además, el manejo poscosecha es regularmente subóptimo y se ha estimado que para este cultivo las pérdidas asociadas a un mal manejo poscosecha son de mayores al 40% (FAO, 2011).

El almacenamiento en atmósferas controladas como complemento al control de la temperatura, ha resultado una estrategia efectiva para extender la vida poscosecha de productos hortofrutícolas incluyendo a la frambuesa, no obstante, la eficiencia de esta estrategia depende de factores como la variedad, el estado metabólico, las variaciones en la temperatura de almacenamiento y el tiempo de exposición a la AC.

Recientemente se ha demostrado que la aplicación de AC en tiempos cortos de exposición ha resultado ser igual de efectiva que el almacenamiento continuo para extender la vida de anaquel de productos hortofrutícolas, aunado a la disminución de costos, al menor gasto energético y a la disminución de fisiopatías por almacenamiento prolongado en AC que esta estrategia conlleva.

Por ello es necesario evaluar la aplicación de AC en frutos de frambuesa para establecer mejores estrategias de manejo de este fruto dentro del proceso de comercialización, además de investigar los efectos de la aplicación de AC en la fisiología y en los parámetros fisicoquímicos, sensoriales y fitoquímicos de la frambuesa roja.

OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de atmósferas controladas para alargar la vida poscosecha de variedades de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) cultivadas en México.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar la composición de AC que mejor mantenga la calidad poscosecha de diferentes variedades de frambuesa roja
- Evaluar el efecto en frambuesa roja de la exposición temprana (1-3 DA), intermedia (4-6 DA) y continua (1-14 DA) a las condiciones seleccionadas de AC, sobre parámetros fisiológicos, fisicoquímicos, sensoriales y fitoquímicos.

4. METODOLOGÍA

4.1 Material biológico y equipo de AC

El material biológico utilizado fueron frutos de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) de las variedades F16 y F24 proporcionadas por la asociación nacional de exportadores de Berries (Aneberries) y la variedad Adelita desarrollada por la empresa Planasa (Plantas de Navarra S.A.). Las tres variedades cultivadas en Zamora Michoacán. La selección de las variedades utilizadas fue en base a la disponibilidad de producto por parte de los productores

El equipo utilizado para el almacenamiento en atmósferas controladas se presenta en la Figura 13. Se trata de un equipo CONTROL-TEC® CAM RESEARCH de la marca TECNIDEX, Fruit Protection, S.A.U. que cuenta con cabinas estancas, con sistemas de homogeneización de la atmósfera en la cabina, con regulación de la temperatura, humedad relativa, regulación de la concentración de gases (Aire, N₂ y CO₂), y que cuenta con el monitoreo y control de estos parámetros en tiempo real mediante una aplicación informática.



Figura 13. Equipo de AC

4.2 Estrategia experimental

Para cumplir los objetivos planteados, la estrategia experimental se dividió en dos etapas: en la primera se evaluaron dos atmósferas para seleccionar la mejor composición de atmósfera para conservación de las variedades F16 y F24 de frambuesa roja. Los frutos de estas variedades fueron transportados en clamshells de 170 g al laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma de Querétaro donde fueron almacenados a 1°C durante 24 h previo a la aplicación de tratamientos.

Durante 14 días se evaluaron dos composiciones de atmósfera controlada (AC1:10% O₂ + 15%CO₂, AC2:10% O₂ + 10% CO₂,) y un control en aire para cada variedad. Se evaluó un total de 6 tratamientos Se realizaron 3 muestreos correspondientes a los 0, 6, y 14 días de almacenamiento (DA) en donde para cada tratamiento, día de muestreo y réplica se llevaron a cabo las mediciones de las variables de firmeza, pérdida de peso y color.

Para la segunda etapa, una vez definida la mejor composición de atmósfera controlada, clamshells de la variedad Adelita fueron almacenados a 1°C por 14 días y se evaluaron un total de 4 tratamientos, la exposición temprana a AC (1-3 DA), la exposición intermedia (4-6 DA), la exposición continua (1-14 DA) y el control en aire (1-14 DA). Se realizaron muestreos correspondientes a los 0, 3, 6 y 14 días de almacenamiento en donde para cada tratamiento, día de muestreo y

réplica se tomaron 4 frutos (n=4) para llevar a cabo análisis de los parámetros fisiológicos y fisicoquímicos. De manera simultánea se tomaron 4 frutos de cada tratamiento para la determinación del perfil de compuestos fenólicos y para los ensayos de capacidad antioxidante, estos frutos fueron congelados con nitrógeno líquido y se almacenados a -80 °C hasta el momento de los análisis. Clamshells adicionales de cada tratamiento fueron utilizados para llevar a cabo la estimación de la vida de anaquel sensorial, lo anterior con la previa aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

4.3 Diseño del experimento y análisis estadístico

Para el desarrollo de la primera etapa del estudio se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado, en donde los factores a evaluar fueron las condiciones de atmósfera con tres niveles (AC1:10% O₂ + 15%CO₂ y AC2:10% O₂ + 10% CO₂, y control en aire), y la variedad de frambuesa con dos niveles (F16 y F24), el total de tratamientos fue por ende de 6 (Cuadro 10). La unidad experimental consistió de 4 frutos seleccionados de manera aleatoria de un clamshell de 170 g. Cada tratamiento contó con dos replicas, por lo que se evaluó un total de 18 unidades experimentales para los 0, 6 y 14 DA. Las variables respuesta para este objetivo fueron la firmeza, la pérdida de peso y el color objetivo (Cuadro 10).

Para el desarrollo de la segunda etapa se utilizó un diseño factorial donde los factores a evaluar fueron la composición de atmósfera y el periodo de exposición a AC con tres niveles (exposición temprana: los primeros tres DA, exposición intermedia: del 4 al 6 DA y continua, del 1 al 14 DA) adicionalmente se evaluó un tratamiento control donde los frutos estuvieron almacenados a 1°C en flujo de aire, el total de tratamientos fue por ende de 4 (Cuadro 11). Los muestreos se realizaron a los 0, 3, 6 y 14 DA. La unidad experimental consistió de 4 frutos de frambuesa cv. Adelita seleccionados de manera aleatoria de un clamshell de 170 g. Cada tratamiento contó con dos replicas, por lo que se evaluaron un total de 12 unidades experimentales. Las variables respuesta evaluadas en esta etapa se presentan en el Cuadro 12.

A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza para comparar los efectos de cada tratamiento sobre las variables respuesta con una comparación de medias para identificar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos utilizando la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$) Se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA) para explorar las relaciones potenciales entre variedades y las variables evaluadas en la etapa 1; además un análisis de factores múltiples (MFA) para explorar relaciones potenciales entre variables de distinta naturaleza en la etapa 2 del estudio, lo anterior mediante los paquetes estadísticos JMP 10 y R.

Cuadro 10. Factores primera etapa

Atmósfera controlada (AC)	Tiempo de exposición	Variedad	Tratamiento	Variabes evaluadas
AC1 10% O2 15% CO2	Continuo: 1-14 DA	F16	1	Firmeza (N)
		F24	2	
AC2 10% O2 10%CO2	Continuo: 1-14 DA	F16	3	Pérdida de peso (%)
		F24	4	
Control en aire	Continuo: 1-14 DA	F16	5	Color CIE L^*a^*b
		F24	6	

Cuadro 11 Factores segunda etapa

Atmósfera	Tiempo de exposición	Tratamiento
AC1 10% O2 15% CO2	Temprano: 1-3 DA	1
	Intermedio: 4-6 DA	2
	Continuo: 1-14 DA	3
Aire	Continuo: 1-14 DA	4

4.4 Parámetros fisiológicos y fisicoquímicos

4.4.1 Tasa de respiración

La tasa de respiración fue determinada a lo largo del tiempo de almacenamiento. La velocidad de respiración de los frutos se llevó a cabo mediante la cuantificación de CO₂ utilizando un sistema cerrado (Kays, 1991). Para esto clamshells de frambuesa (170 g) se colocaron en frascos de 500 mL cerrados herméticamente con una tapa acondicionada con una septa de hule látex, se mantuvieron en incubación durante 3 horas en sus respectivas condiciones de almacenamiento y transcurrido el tiempo de incubación se tomó 1 mL de gas del espacio de cabeza y se inyectó a un cromatógrafo de gases de la marca Agilent Technologies modelo 7890B acoplado a un detector de conductividad térmica a 250°C. La columna utilizada fue una HP-PLOT Q con un flujo de 8.6 ml/min y una rampa de temperatura para el horno de 60°C por 2 min y 240°C por 7min , la temperatura del inyector se mantuvo a 60°C con un Split de 18:1.

Cuadro 12. Variables respuesta segunda etapa

Parámetros fisiológicos y fisicoquímicos	Perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante
Tasa de respiración	Cuantificación de compuestos fenólicos totales
Pérdida de peso (%)	Cuantificación de antocianinas monoméricas totales
Color	Análisis del perfil de compuestos fenólicos por HPLC-DAD
Firmeza	Análisis de antocianinas por HPLC-DAD
Sólidos solubles totales (SST)	Cuantificación de ácido elágico por HPLC-DAD
Acidez titulable (AT)	Capacidad antioxidante

La cuantificación de CO₂ se realizó mediante el método de estándar externo usando un estándar certificado. Simultáneamente se evaluó la producción de CO₂ mediante un detector instantáneo marca Mocon modelo 0417ED584, los resultados fueron expresados como ml de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

4.4.2 Pérdida fisiológica de peso

La pérdida de peso debida a la respiración y a la transpiración de los frutos fue monitoreada durante el tiempo de almacenamiento. La pérdida de peso se calculó como la diferencial del peso inicial menos el peso final dividido por el peso inicial por 100 (Krüger et al., 2011).

4.4.3 Color

El sistema CIE L^*a^*b desarrollado en 1976 fue utilizado para la evaluación del color, el parámetro L^* define la luminosidad, por lo cual valores bajos indican colores más oscuros (0=negro) y altos valores indican colores más claros (100=blanco). Valores negativos de a^* indican verde y valores positivos color rojo, mientras que valores negativos de b^* implican azul y valores positivos amarillo. El ángulo hue (h^*) o de matiz (color verdadero) es definido por el arco tangente de b/a , y el valor croma (C^*) (saturación del color) es definido por $\sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$, es cero en el centro y aumenta con la distancia respecto al centro- Altos valores del ángulo hue indican colores rojos-anaranjados y bajos valores rojos-ligeramente azulados. El instrumento Minolta Osaka-Light CM-2002, se utilizó con un iluminante D65 y fue calibrado previo a su uso por un blanco estándar (Mazur et al., 2014).

4.4.4 Firmeza

La firmeza de la frutilla se analizó por compresión mediante un analizador de textura (Brookfield CT3 25K) utilizando una sonda de acero inoxidable (36F) la cual comprime a una velocidad de carga de 2 mm s^{-1} . El fruto se colocó sobre una placa de aluminio de tal manera que el centro de la sonda tuviera su primer contacto con la muestra en el vértice del fruto. Los resultados fueron expresados como la fuerza necesaria para comprimir 20% de la altura inicial del fruto expresado en Newtons (N) (Giovanelli et al., 2014).

4.4.5 Sólidos solubles totales y acidez titulable

Para la medición de acidez titulable se empleó el método 935.57 de la AOAC (1990) con algunas modificaciones, 5 g de frambuesa fueron homogenizados en 5 ml de agua destilada utilizando un Ultra Turrax (T 25). A

dicha dilución se le midieron los sólidos solubles totales (°Brix) utilizando un refractómetro digital (A. Krüss Optronic GmbH) y el resultado fue expresado como porcentaje (%). Para la acidez titulable una alícuota de 1mL de la primera dilución se disolvió en 9 mL de agua destilada, la dilución se tituló con NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.2 ± 0.2 . La acidez titulable fue expresada como porcentaje de ácido cítrico en 100 g de muestra utilizando la siguiente expresión:

$$\% \text{ acidez} = \frac{\text{Titulo}(ml) * N (\text{NaOH}) * \text{Vol. aforado}(ml) * \text{eq ácido cítrico} * 100}{\text{Vol. muestra} (ml) * \text{Peso de la muestra} (g) * 1000}$$

4.5 Determinación de la vida de anaquel sensorial

El modelaje de la vida de anaquel sensorial se llevó a cabo mediante un análisis sensorial en donde los diferentes atributos de calidad del fruto fueron evaluados durante los 0, 6 y 14 DA y la vida de anaquel determinada por el porcentaje de rechazo de la muestra por medio de un panel sensorial no entrenado (Hough, 2010). Lo anterior, con la previa aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. Treinta y cinco panelistas no entrenados fueron seleccionados de entre el personal y alumnos de la Facultad de Química de esta Universidad, en los criterios de inclusión se eligieron personas sanas adultas entre 18-50 años con preferencia al consumo de frambuesa, de sexo indistinto y con aptitud para comunicar y describir las sensaciones percibidas. Para los criterios de exclusión se omitieron personas con reacciones alérgicas a la frambuesa o desagrado a la misma, así como aquellas que presentaban alguna enfermedad o condición que limitaba su apreciación sensorial.

Previo al análisis, a las personas interesadas en participar se les dio una plática informativa sobre los propósitos del proyecto, el protocolo a seguir y los riesgos asociados a su participación. Todos los participantes recibieron al finalizar la plática informativa una carta de consentimiento informado que contenía toda la información referente a la investigación y en la cual quedó asentado que aceptaban de manera voluntaria participar en la evaluación. La confidencialidad de los participantes fue garantizada, durante los días de evaluación se les invitó a un

coffee break como agradecimiento a su participación y no recibieron remuneración alguna. El análisis se llevó a cabo en el laboratorio de evaluación sensorial de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, la cual cuenta con la infraestructura requerida y en donde se tomaron las medidas de buenas prácticas de higiene necesarias para llevar a cabo este tipo de análisis.

El protocolo a seguir para el desarrollo del análisis de vida de anaquel sensorial fue el siguiente: los panelistas recibieron 1 fruto de cada uno de los 4 tratamientos codificados con números aleatorios de tres dígitos, se les pidió que de acuerdo a los atributos sensoriales del producto (color, aroma, sabor y firmeza al tacto) contestaran la pregunta “¿Consumiría regularmente este producto?” con un sí o con un no, adicionalmente se les aplicó una prueba hedónica de 10 puntos para evaluar la aceptabilidad del producto. El análisis se llevó a cabo bajo luz blanca y se utilizó agua purificada como limpiador de paladar, a los panelistas se les pidió que después de cada muestra se enjuagaran con un sorbo y esperaran aproximadamente 30 segundos antes de continuar con la siguiente muestra. El formato de evaluación sensorial utilizado se presenta en la Figura 15.

Referente a los riesgos, esta investigación se consideró sin riesgo debido a que para prevenir los riesgos microbiológicos las muestras fueron sometidas a análisis previos que garantizaron la seguridad de los participantes, además a las muestras se les aplicó un tratamiento de desinfección con cloro (150 ppm) previo a la evaluación.

Definiendo la variable aleatoria T como el tiempo de almacenamiento en el cual el consumidor rechazará la muestra, la función de sobrevivencia $S(t)$ es definida como la probabilidad de que un consumidor acepte la muestra después del tiempo t , $S(t)=P(T > t)$, alternativamente la función de distribución $F(t)$ es definida como la probabilidad de que un consumidor rechace la muestra antes del tiempo t , $F(t)=P(T \leq t)$; debido a que los consumidores evalúan un número limitado de muestras a diferentes tiempos de almacenamiento, el tiempo exacto en el que el consumidor rechazará el producto puede no ser determinado con exactitud, resultando en datos censurados. Tres tipos de datos censurados pueden ser

donde:

R = conjunto de observaciones censuradas a la derecha

L = observaciones censuradas a la izquierda

I = observaciones censuradas en intervalos

En el presente trabajo el modelo paramétrico de distribución de Weibull fue utilizado para obtener estimaciones precisas de la función de probabilidad (1), donde la función está dada por:

$$F(t) = 1 - \exp \left[-\exp \left(\frac{\ln(t) - \mu}{\sigma} \right) \right] \quad (2)$$

donde:

μ y σ = parámetros del modelo

La función de verosimilitud (1) se maximiza y de esta manera se obtuvieron estimaciones de los parámetros μ y σ con los datos experimentales, lo anterior mediante el paquete estadístico R. Una vez estimados los parámetros del modelo se estimó la probabilidad de rechazo del producto en función del tiempo de vida de anaquel. Finalmente para estimar la vida de anaquel, la probabilidad de que un consumidor rechace el producto $F(t)$ fue definida considerando el 25% de rechazo ($F(t)=25\%$) (Giménez et al., 2007; Hough, 2010).

4.6 Determinación del perfil de compuestos fenólicos

4.6.1 Extracción de compuestos fenólicos

La extracción de los compuestos fenólicos de frambuesa se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Kim et al., (2015) con modificaciones: 5 g de polvo de frambuesa congelado se diluyeron con 20 mL de metanol acidificado (ácido fórmico: metanol: agua desionizada, 0.1:80:19.9, v/v/v), la muestra se homogenizó por 1 min en un Ultra Turrax (T-25) y se colocó en agitación por 1 hora a temperatura ambiente en una placa agitadora (Thermo Scientific), posteriormente el extracto se centrifugó en un equipo marca Hermle (Z326K) con las siguientes condiciones: 13,500 rpm / 10 min / 4°C. El sobrenadante se filtró y al precipitado se le realizó una segunda extracción con 20 mL de metanol acidificado, una agitación posterior en vórtex (Daigger Genie 2) por 1 min y una

centrifugación a las mismas condiciones mencionadas anteriormente, el sobrenadante se filtró y se combinó con el de la primera extracción para ser llevado a concentración hasta 3 mL en un rotavapor (Buchi R-205) a 40°C de temperatura. El extracto se almacenó a -20°C hasta el momento de los análisis.

4.6.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Para la determinación de fenoles totales se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu basado en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu con coloración amarilla contiene molibdato y tungsteno sódico, que al reaccionar con cualquier tipo de fenol forman complejos fosfomolibdicos-fosfotúngsticos, la transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}) cuyo color es proporcional al número de grupos hidroxilo de la molécula. La intensidad de color se mide espectrofotométricamente a 765 nm (Dewanto et al., 2002).

Para la determinación se siguió el método descrito por Mazur et al. (2014) en donde a 50 μ L de extracto fenólico se le adicionaron 25 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v), la muestra se incubó durante 5 minutos y transcurrido este tiempo se agregaron 125 μ L de una solución saturada de carbonato de sodio al 7.5%. La solución se dejó reposar durante 60 min a temperatura ambiente y en la oscuridad y la absorbancia se determinó en un lector de microplacas (Bio-Rad iMark) a 750 nm.

Los resultados se determinaron utilizando una curva estándar realizada con 8 diferentes concentraciones de ácido gálico desde 0-500 mg/L de ácido gálico y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso fresco (PF) (mg EAG/100 g de PF.).

4.6.3 Cuantificación de antocianinas monoméricas totales

El contenido de antocianinas monoméricas totales (TMA) fue determinado por el método de pH diferencial. Las antocianinas pueden estar presentes en diferentes estructuras reversibles y tener cambios en sus espectros de absorción cambiando el pH de la solución, la forma colorida oxonio predomina a pH 1.0,

mientras que la forma incolora hemiacetal lo hace a pH 4.5. El método de pH diferencial se basa en dicha reacción y permite una medición rápida y precisa de las antocianinas totales aún en presencia del pigmento degradado polimerizado o en presencia de cualquier otro compuesto interferente (Giusti, M. Wrolstad, 2005).

A 1 ml del extracto fenólico se le añadieron 5 ml de buffer de cloruro de potasio 0.025 M a pH 1 ajustado con ácido clorhídrico (HCl). De igual forma a 1 ml del extracto se le adicionó 5 ml de buffer de acetato de sodio 0.4 M a pH 4.5 ajustado con HCl. Las muestras diluidas fueron equilibradas en la oscuridad y a temperatura ambiente por 15 min. Mediante un espectrofotómetro Lambda 40 UV-visible (Perkin Elmer Instruments) se determinó la absorbancia de las muestras a 520 nm (absorbancia máxima) y a 700 nm (lectura del grado de degradación del compuesto y lectura de corrección debido a las sustancias interferentes), se utilizó agua destilada como blanco. Los resultados fueron expresados como equivalentes de cianidina-3-glucósido por 100 g de peso fresco usando el coeficiente de extinción molar, $\epsilon = 29,600 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ unidades moleculares de cianidina 3-glucósido (PM= 445.2 g/mol), de acuerdo a la siguiente ecuación (De Souza et al., 2014):

$$\left[\frac{Abs \times PM \times 1000 \times Ve \times FD}{\epsilon \times L \times M} \right] = mg \text{ eq cianidina} - 3 - glu / 100 g \text{ de pf.} = TMA$$

Donde:

$$Abs = (A_{510} - A_{700})_{pH 1} - (A_{510} - A_{700})_{pH 4.5}$$

PM = Peso molecular de cianidin-3-glucósido (g mol^{-1})

FD = Factor de dilución

$$\epsilon = 29,600 \text{ (L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}\text{)}$$

L = Ancho de la celda (1 cm)

Ve= volumen del extracto

M=masa del extracto de frambuesa

4.6.4 Análisis del perfil de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

El análisis del perfil de compuestos fenólicos se realizó según lo reportado por Mazur et al., (2014) y con el método desarrollado en nuestro laboratorio. Los compuestos se separaron utilizando un sistema HPLC (Water Alliance 2695 con detector de arreglo de diodos Water 2998). Para la integración de picos se recurrió al software Empower 3 de la marca Waters. Se utilizó una columna Simmetry C18 fase reversa (100 x 4.6mm) con una fase móvil compuesta por: solvente A (agua HPLC acidificada con ácido fórmico al 0.1%) y solvente B (acetonitrilo grado HPLC). La elución se llevó a cabo con las condiciones descritas en el Cuadro 13. El flujo se mantuvo a 0.5 mL/min y se inyectaron 30 µl del extracto fenólico concentrado previamente filtrado con un filtro de jeringa de 0.4 µm de diámetro de poro. La temperatura de la columna se mantuvo a 35 °C y la muestra a 8°C durante todo el análisis. Las antocianinas se detectaron a 520 y fueron identificadas mediante la comparación del tiempo de retención y los datos espectrales UV-Vis obtenidos por la inyección previa del estándar certificado de la antocianina cianidina-3 glucósido de la marca SIGMA, el contenido es expresado como mg equivalentes de cianidina 3-glucósido sobre 100 gramos de peso fresco (mg eq cianidina3-glu/ 100 g de PF), la curva estándar se construyó a partir de una solución stock (1mg/mL) en metanol (Koponen et al., 2007; Salinas-Moreno et al., 2009).

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	98	2
40	80	20
50	0	100
55	98	2
60	98	2

Cuadro 13. Gradiente de separación de compuestos fenólicos por HPLC

4.6.5 Cuantificación de ácido elágico por HPLC-DAD

El contenido de elagitaninos fue determinado como equivalentes de ácido elágico después de hidrólisis ácida mediante un método modificado por Koponen

et al., (2007). Para la hidrólisis se requiere de la preparación de un extracto independiente que se llevó a cabo de acuerdo con la siguiente metodología: 5 g de muestra fresca fueron diluidos con 50 mL de metanol acidificado (HCl 4M) y la solución se llevó a reflujo por 6 h a 90°C, posterior a la hidrólisis la muestra fue enfriada a temperatura ambiente y llevada a un volumen de 100 mL con metanol. El análisis por HPLC se llevó a cabo con las mismas condiciones descritas para la determinación de compuestos fenólicos; el ácido elágico y sus derivados fueron detectados a 254 nm y cuantificados como equivalentes de ácido elágico mediante un estándar certificado del mismo por medio de su tiempo de retención y su espectro UV- Vis. La solución stock del estándar de ácido elágico (1mg/mL) se preparó disolviendo el estándar en una parte de dimetil sulfóxido seguido por cuatro partes de metanol, de la solución stock se realizaron diluciones para la curva de calibración de 0 a 0.5 mg /mL, todas las soluciones fueron preparadas en el momento del análisis.

4.6.6 Cuantificación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante (cAOX) fue estimada por dos procedimientos estándares: el ensayo ABTS y DPPH. Los extractos utilizados para los ensayos fueron los extractos fenólicos previamente descritos, todos los ensayos se llevaron a cabo utilizando un lector de microplacas (Bio-Rad iMark).

4.6.6.1 ABTS

El ensayo ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico) está basado en la inhibición del radical catión $ABTS^{\bullet+}$ por medio de antioxidantes presentes en la muestra y fue descrito primeramente por Re et al., (1999). La técnica para la generación del radical catión $ABTS^{\bullet+}$ implica la producción directa del cromóforo verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). Este cromóforo presenta tres máximos de absorción, 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS. De esta manera, el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical $ABTS^{\bullet+}$ está determinado en función de la concentración y el tiempo,

así como del valor correspondiente usando el reactivo Trolox como estándar de referencia antioxidante bajo las mismas condiciones (Zulueta et al.,2009).

El radical catión $ABTS^{\bullet+}$ fue generado por la reacción de 5 mL de la solución acuosa de ABTS 7mM con 80 μ L de persulfato de potasio 140 mM (la concentración final de 2.45 mM), la dilución se mantuvo en la oscuridad durante 16 hrs antes del análisis para después ser diluida en metanol y obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.05 a 750 nm. La reacción se llevó a cabo al mezclar 230 μ L de la solución verde-azul del radical generado en la oscuridad con 20 μ L del extracto fenólico o del estándar de referencia (Trolox). El decremento en la absorbancia fue medido después de 6 min a 750 nm. Soluciones metanólicas de concentración conocida del estándar de referencia en un rango de 25-200 μ M fueron utilizadas para la curva de calibración. Los resultados fueron expresados como micromoles equivalentes de Trolox (TEs) por 100 g de peso fresco (μ moles TEs/ 100 g de PF) (De Souza et al., 2014).

4.6.6.2 DPPH

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado en su estructura, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol alrededor de los 517 nm. Cuando la solución de $DPPH^{\bullet}$ reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, se da lugar a la forma reducida del radical con la pérdida subsecuente del color violeta característico (Figura 15) (Alam et al., 2013).

La metodología empleada fue la descrita por De Souza et al., (2014), la solución de $DPPH^{\bullet}$ (600 mM) será diluida en metanol para obtener una absorbancia de 0.1 ± 0.02 a 520 nm, 200 μ L de la solución del radical $DPPH^{\bullet}$ se hicieron reaccionar con 20 μ L del extracto fenólico, después de 30 min de incubación en la oscuridad y a temperatura ambiente la absorbancia fue medida a 520 nm. Soluciones metanólicas de concentración conocida del estándar de

referencia Trolox en un rango de 25-150 μM fueron utilizadas para la curva de calibración (De Souza et al., 2014).

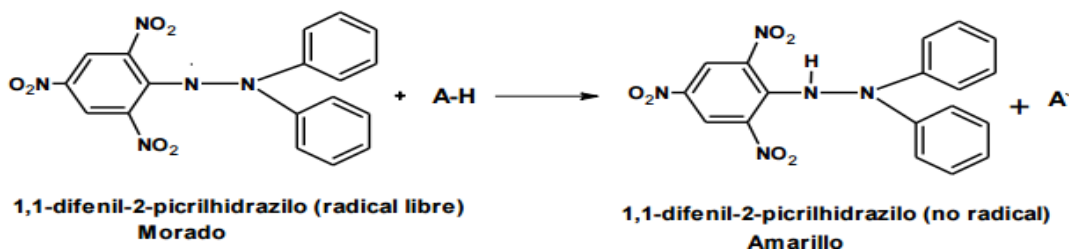


Figura 15. Estructura de DPPH antes y después de la reacción con el compuesto antioxidante (Alam et al., 2013).

Los resultados fueron expresados como μM equivalentes de Trolox / 100 g de peso fresco. Este valor se calculó graficando el porcentaje de la actividad inhibitoria del radical contra la concentración del extracto. La actividad inhibitoria del radical DPPH (RAS por sus siglas en inglés) se obtuvo comparando la absorbancia de las muestras con la del control de acuerdo a la siguiente formula (Memarpoor-Yazdi, Asoodeh, & Chamani, 2012):

$$\%RSA = \left[\frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} \right] \times 100$$

Este valor se comparó con el obtenido mediante la curva de calibración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.7 Selección de la AC óptima

4.7.1 Cambios en los parámetros de color

Los resultados de los parámetros de color de la primera etapa del estudio se presentan en el Cuadro 14 para los tres tratamientos evaluados en las variedades F16 y F24 durante los días 0,6 y 14 de almacenamiento. La luminosidad (L^*) de los frutos para la variedad F24 al final del almacenamiento no mostró diferencias significativas entre las dos atmósferas evaluadas y el control en aire. No obstante, la variedad F16 si mostró diferencias significativas con respecto al control, 34.6, 34.2 para AC1 y AC2 respectivamente y 29.0 para el control. Para el valor a^* la

variedad F24 no mostro diferencia significativa entre las dos atmósferas estudiadas y el control en aire mientras que en la variedad F16 si se encontraron diferencias entre ambas atmosferas y el control. Respecto al ángulo hue o matiz de color, en ambas variedades para el día 14 no se observaron diferencias entre la AC1 y la AC2 pero si con respecto al control en aire, los valores obtenidos fueron 27.1 para F16, 25.6 para F24 en AC1, 26.6 para F16, 26.0 para F24 en AC2 y 21.0 para F16, 21.2 para F24 en aire respectivamente.

Cuadro 14. Cambios en el color objetivo (L*,a*,h*,C*) de frutos de frambuesa roja cv. F16 y F24 sometidos a diferentes condiciones de AC (Control en aire, AC1 (10% O₂ + 15% CO₂) y AC2 (10% O₂ + 10% CO₂) durante 14 días de almacenamiento a 1°C.

Color	Variedad	Días	Aire	AC1 (10% O ₂ + 15% CO ₂)	AC2 (10% O ₂ + 10% CO ₂)
L*	F16	0	37.9 ± 0.9aA	35.4 ± 3.7aA	37.8 ± 0.6aA
		6	32.5 ± 1.1cdA	32.98 ± 1.0aA	31.0 ± 2.6abA
		14	29.0 ± 0.2dC	34.6 ± 0.7aA	34.2 ± 0.6bA
	F24	0	37.1 ± 2.4abA	34.9 ± 3.3aA	37.7 ± 0.4aA
		6	33.7 ± 2.0bcA	32.3 ± 1.8aA	32.2 ± 2.4bA
		14	29.1 ± 0.6dA	32.4 ± 0.9aA	32.5 ± 2.5bA
a*	F16	0	37.3 ± 1.2aA	37.2 ± 3.2abA	38.4 ± 1.9aA
		6	36.9 ± 2.5aA	38.2 ± 1.4aA	36.0 ± 2.5aA
		14	29.9 ± 0.6bcB	37.7 ± 0.1aA	38.2 ± 1.1aA
	F24	0	37.1 ± 0.9aA	36.1 ± 2.0abA	37.7 ± 0.5aA
		6	33.7 ± 2.0abA	32.3 ± 1.8bA	32.2 ± 2.4aA
		14	29.1 ± 0.6cA	32.4 ± 0.9bA	32.5 ± 2.5aA
Hue (h*)	F16	0	29.6 ± 0.2aA	28.3 ± 1.5aA	30.8 ± 1.1aA
		6	25.5 ± 1.3bA	26.8 ± 0.9aA	27.0 ± 1.9abcA
		14	21.0 ± 0.6cC	27.1 ± 0.6aA	26.6 ± 0.7abcA
	F24	0	30.2 ± 0.8aA	28.3 ± 2.0aA	30.7 ± 1.1abA
		6	27.0 ± 1.5bA	26.9 ± 2.8aA	25.8 ± 2.2cA
		14	21.2 ± 0.3cB	25.6 ± 1.2aA	26.0 ± 2.6bcA
Chroma (C*)	F16	0	42.9 ± 1.3aA	42.3 ± 4.2aA	44.7 ± 2.1aA
		6	40.84 ± 3.3aA	42.9 ± 1.8aA	40.4 ± 3.4aA
		14	32.0 ± 0.8bC	42.2 ± 0.2aA	42.7 ± 1.5aA
	F24	0	42.9 ± 1.5aA	41.0 ± 3.0aA	43.9 ± 0.7aA
		6	43.40 ± 3.1aA	40.0 ± 2.8aA	40.5 ± 4.4aA
		14	31.8 ± 2.0bB	39.8 ± 1.5aA	40.0 ± 4.9aA

Medias ± DE (n=3). Valores en la misma columna seguidos por letras minúsculas diferentes y en la misma fila con letras mayúsculas diferentes presentan diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (α=0.05).

Valores más altos del ángulo hue indican colores más cercanos al amarillo y más alejados del rojo, lo que sugiere frutos con menor avance en la senescencia. En cuanto a chroma (C^*) que es un indicador de la saturación del color, ambas variedades en el día 14 de almacenamiento no mostraron diferencias entre las dos atmósferas pero si con respecto al control en aire, se obtuvieron valores de 42.2 para F16, 39.8 para F24 en AC1, 42.7 para F16, 40.0 para F24 en AC2 y 32.0 para F16, 31.8 para F24 en el control en aire. Los valores más altos de L^* , hue y chroma en ambas condiciones de atmósfera indican colores más vivos y más cercanos al matiz. De acuerdo con estos resultados de color, fue posible observar que ambas AC aplicadas mantuvieron un mejor color respecto de la condición de aire, aunque no se encontraron diferencias entre las dos condiciones de AC estudiadas. No obstante, es evidente que ambas AC presentaron mejores resultados durante el almacenamiento con respecto al control en aire, con frutos menos rojos lo que indica menor senescencia y con colores más vivos y luminosos.

4.7.2 Pérdida de peso

Después de 14 días de almacenamiento existió un un claro efecto positivo de las atmósferas controladas para el control de la pérdida de peso. Los frutos almacenados en aire mostraron mayores pérdidas de peso respecto a las dos atmosferas estudiadas (Figura 16). Al final del almacenamiento en aire la variedad F16 mostró una menor pérdida de peso respecto a la variedad F24 (12.6 y 14.3% respectivamente). Se observó efecto de la variedad en ambas atmosferas, la variedad F16 presento las menores pérdidas de peso (1.63 en AC1 y 4.36% en AC2 respectivamente).mientras que la variedad F24 metro mayor pérdidas de peso (3.48 para AC1 y 7.08% en AC2 respectivamente). Estos resultados claramente muestran que la atmósfera controlada que mejor controlo la pérdida de peso fue la AC1 ($10\% O_2 + 15\% CO_2$) en ambas variedades, a pesar que la variedad F24 tiende a tener mayores pérdidas de peso. Es importante mencionar que una menor pérdida de peso en los frutos es deseable puesto que es un indicativo de mayor turgencia de los frutos y posiblemente una mejor calidad comercial de los mismos.

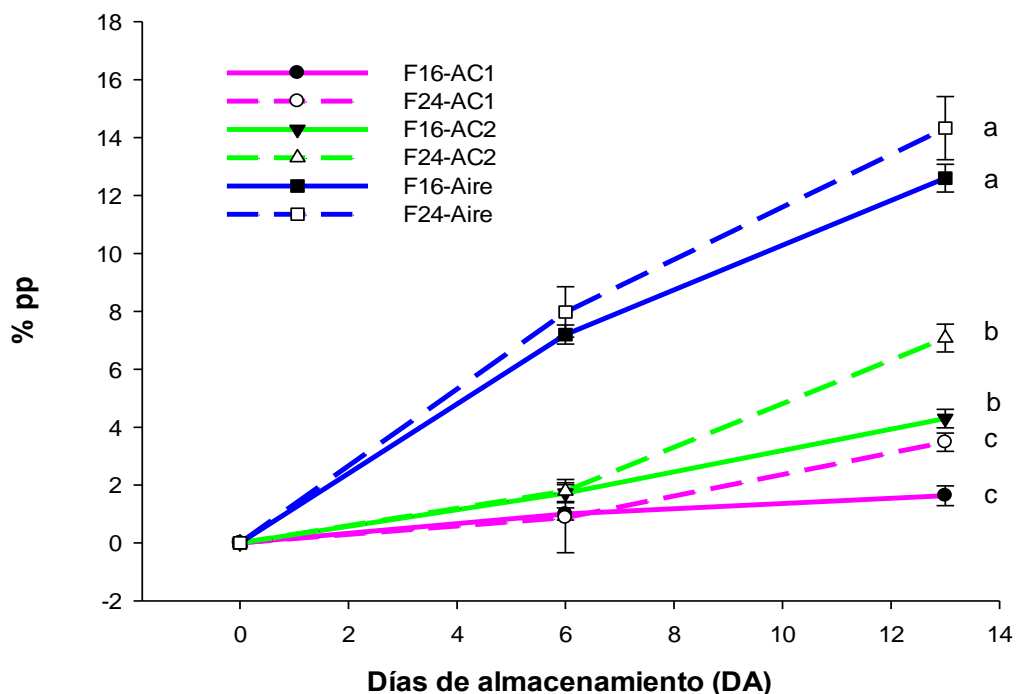


Figura 16. Porcentaje de pérdida de peso (%pp) de frutos de frambuesa roja cv. F16 y F24 almacenados en diferentes condiciones de atmósfera (Control en aire, AC1 (10% O₂ + 15% CO₂) y AC2 (10% O₂ + 10% CO₂) durante 14 días de almacenamiento a 1°C.

4.7.3 Cambios en la firmeza

Los resultados de la evaluación de firmeza se presentan en la Figura 17, la variedad F16 se presenta con líneas sólidas y la F24 con líneas punteadas, al final del almacenamiento (día 14) la mayor pérdida de firmeza la presentaron los frutos almacenados en aire donde la variedad F16 presentó una mayor firmeza (1.85 N) que la variedad F24 (1.76 N). A pesar de no encontrarse diferencias significativas entre las dos condiciones de AC, la media de firmeza en el día 14 para AC1 es mayor en ambas variedades respecto a AC2: 3.85, 3.58 N y 3.41, 2.84 N, respectivamente. El mantener la firmeza en los frutos es deseable debido a que este factor es uno de los parámetros de calidad más importantes asociados con el potencial de almacenamiento y la vida de anaquel de los frutos. A pesar que en el mantenimiento de la firmeza no fue posible diferenciar de manera clara cuál de las dos condiciones de atmósfera controlada fue más favorable para los frutos de

frambuesa de ambas variedades, ambas condiciones de AC mantienen la firmeza de los frutos con respecto al control en aire.

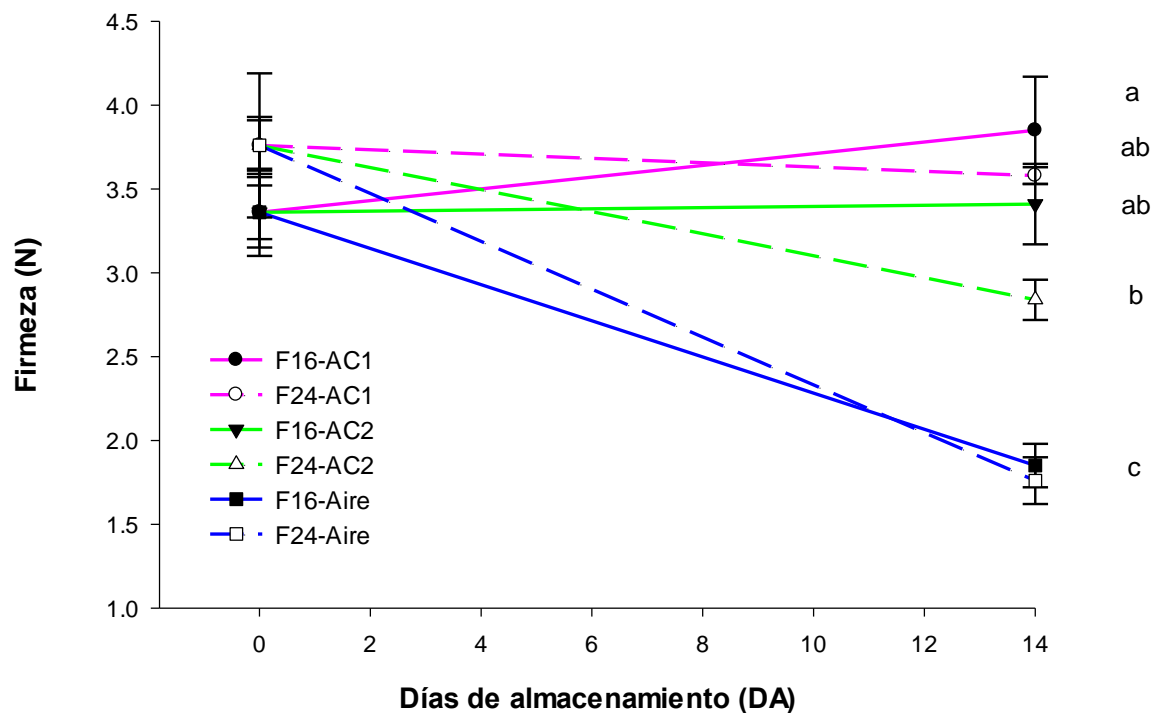
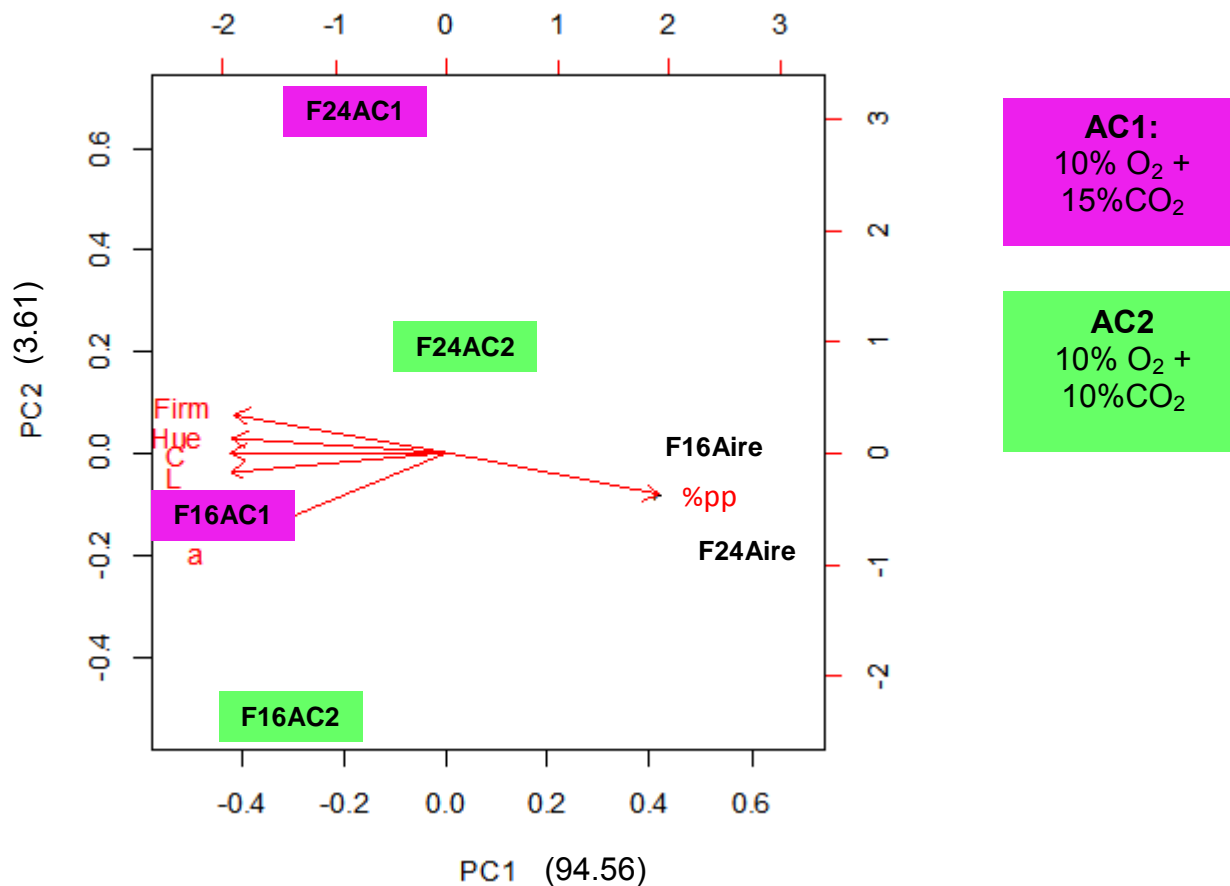


Figura 17. Firmeza (N) de frutos de frambuesa roja cv. F16 y F24 sometidos a diferentes condiciones de atmósfera (Control en aire, AC1 (10% O₂ + 15% CO₂) y AC2 (10% O₂ + 10% CO₂) durante 14 días de almacenamiento a 1°C.

4.7.4 Análisis de componentes principales

Con el objetivo de explorar las relaciones potenciales entre las variedades evaluadas y las variables que determinan el potencial de almacenamiento y la vida de anaquel del fruto y como herramienta de apoyo para seleccionar la mejor condición de AC en frambuesa de ambas variedades, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (Figura18). El análisis se redujo a dos dimensiones en donde los dos primeros componentes acumulan el 98% de la varianza, por lo anterior se logró una reducción de las variables con interpretabilidad. En el primer componente se concentraron la mayoría de los datos con un 94-56% de la variabilidad, por lo cual la ubicación de los tratamientos en este componente resulta de mayor relevancia, en el mismo se observó una correlación negativa de la pérdida de peso (pp) con la firmeza (firm) (-0.86) lo que implica que a mayor

pérdida de peso de los frutos, menor firmeza. De la misma forma se observó que la pérdida de peso se correlacionó de manera negativa con parámetros del color objetivo como hue (-0.77) y L* (-0.68), lo anterior indica que entre mayor sea la pérdida de peso, la luminosidad de los frutos disminuye y los colores de estos se vuelven más rojos (estado de senescencia más avanzado).



	L*	a*	%pp	Firmeza	HUE	C*
L*	1.0000	0.7912	-0.6847	0.7362	0.9466	0.9229
a*	0.7912	1.0000	-0.5201	0.5701	0.7663	0.8277
%pp	-0.6847	-0.5201	1.0000	-0.8637	-0.7715	-0.5543
Firmeza	0.7362	0.5701	-0.8637	1.0000	0.8170	0.6445
HUE	0.9466	0.7663	-0.7715	0.8170	1.0000	0.9031
C*	0.9229	0.8277	-0.5543	0.6445	0.9031	1.0000

Figura 18. Análisis de componentes principales y correlaciones entre variables

Los tratamientos para cada variedad formaron 3 grupos en donde el tratamiento control en aire para ambas variedades al encontrarse más hacia la derecha en el componente 1 presentó valores mayores de pérdida de peso y menores de firmeza, de L*, hue y C* lo que indica frutos más opacos, menos luminosos y más rojos. El siguiente grupo lo formó la variedad F16 donde la AC1 (en rosa) presentó al encontrarse más hacia la izquierda del primer componente valores menores de pérdida de peso y mayores de firmeza, L*, hue y C* respecto a la AC2 (en verde) lo que indica frutos más firmes, con menor pérdida de peso y con colores más vivos, luminosos y menos rojos. La misma tendencia favorable hacia AC1 de la variedad F16 se observó para el tercer grupo que lo conformó la variedad F24, cabe destacar que la variedad F16 presentó valores más altos de firmeza y frutos con colores más vivos en comparación a F24, lo anterior se aprecia en el tratamiento control en aire. Por lo anterior, y de acuerdo con lo reportado por Haffner et al. (2002) en donde esta concentración de atmósfera controlada aplicada en 5 variedades de frambuesa roja disminuyó la incidencia de pudriciones, se sugiere que independientemente de la variedad, la AC1 (15% CO₂ + 10% O₂) mantiene mejor las características de calidad de las frambuesa roja y por ello es la atmósfera que se seleccionó para evaluar la siguiente etapa.

4.8 Evaluar el efecto de diferentes tiempos de exposición a AC

La propuesta de los tiempos cortos de exposición en AC a evaluar para la frambuesa se llevó a cabo mediante el análisis de la tasa de respiración de frutos de frambuesa variedad Evita a 1°C durante 10 días de almacenamiento (Figura 19). Se definió un primer tiempo de exposición durante los primeros 3 días de almacenamiento, al que se denominó temprano, lo anterior debido a que es el momento en que el fruto comienza su adaptación a las condiciones de almacenamiento. Un tiempo de exposición del día 4 al 6 de almacenamiento al que se denominó intermedio debido a que en este punto como se puede apreciar en la Figura 19 comienza a incrementar la tasa de respiración del fruto, esto como un indicativo de que las reacciones relacionadas con la senescencia del fruto han incrementado, por lo que la aplicación de AC en este punto podría retrasar la senescencia del fruto y alargar su vida útil.

Una vez definidos los momentos de exposición a evaluar con la condición de AC seleccionada en la primera etapa (10%O₂ + 15% CO₂) se evaluaron los tiempos cortos de exposición (temprano e intermedio) en los parámetros fisiológicos (color objetivo, pérdida de peso, firmeza, tasa de respiración), fisicoquímicos (sólidos solubles totales y acidez titulable), en la vida de anaquel sensorial y en los parámetros fitoquímicos (fenoles totales, antocianinas monoméricas totales, capacidad antioxidante y perfil de compuestos fenólicos).

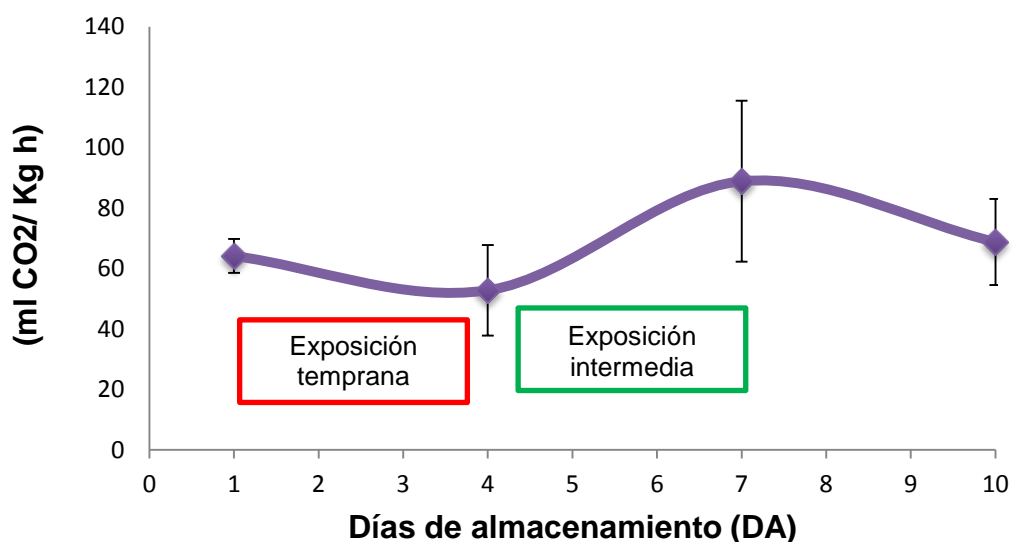


Figura 19. Tasa de respiración de frambuesa cv. Evita sin AC durante 10 días de almacenamiento a 1°C

4.8.1 Análisis fisiológicos y fisicoquímicos

En el Cuadro 15 se muestran los resultados del color objetivo, de sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT) de frutos de frambuesa de la variedad Adelita sometidos a los diferentes tratamientos de AC durante los 14 días de almacenamiento, cabe destacar que este es el primer análisis que se lleva a cabo en esta variedad por lo cual se realizarán comparaciones con trabajos en otras variedades que no se cultivan en México.

Para el parámetro de luminosidad (L*) en el día 14 el control en aire y el tratamiento intermedio no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí presentando los valores más bajos de luminosidad seguido de los tratamientos

temprano (32.8) y continuo con el valor más alto de luminosidad (35.0). Para hue el tratamiento temprano e intermedio no presentaron diferencia comparados con el control, mientras que el tratamiento continuo presentó el valor más alto (29.6). Se ha descrito que valores altos del parámetro hue son indicativo de frutos con colores más amarillos y menos rojos lo que podría interpretarse como frutos con un estado de senescencia retardado. Para chroma el tratamiento temprano es igual al almacenamiento continuo con valores más altos, 36.2 y 39.0, respectivamente lo que implica colores más cercanos al color puro o frutos con colores más vivos. Por lo anterior, de acuerdo a los parámetros de color los mejores resultados se obtuvieron con la exposición temprana a AC. Cabe destacar que el almacenamiento en AC continua mantuvo los parámetros sin cambio a lo largo del almacenamiento. Lo anterior ya ha sido reportado en frambuesa por Haffner et al. (2002) para 5 variedades de frambuesa roja almacenadas en AC (10%O₂ + 15% CO₂) por 7 días en donde observaron que el parámetro de luminosidad (L*) fue mayor después del almacenamiento en la AC con respecto al control y los valores fueron estadísticamente similares a los que presentaron los frutos al inicio del almacenamiento. En cuanto al valor hue no se presentó diferencia significativa del tratamiento de AC con respecto al control en aire, no obstante, para chroma se observó diferencia significativa presentando el tratamiento con AC un valor más alto respecto al control, 24.8 y 22.0, respectivamente. Lo anterior indica que los frutos en AC presentaron colores más vivos y luminosos al igual que en nuestro estudio.

En cuanto a los sólidos solubles totales (SST) el tratamiento de AC continuo presentó diferencias respecto al tratamiento temprano, este último fue el que presentó el valor más alto (6.7%), lo que implica frutos con un estado de senescencia más avanzado. Para el parámetro de acidez titulable (AT) no se observaron diferencias entre los tratamientos y el control, lo que concuerda con lo reportado por Haffner et al. (2002) quienes reportan que el almacenamiento en AC (10%O₂ + 15%CO₂) no provocó cambios en la AT de los frutos a lo largo del almacenamiento.

Cuadro 15. Color objetivo (L*, h*, C*), SST y AT de frutos de frambuesa roja cv. 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

	Días	Aire	Temprano (10%O ₂ +15%CO ₂)	Intermedio (10%O ₂ +15%CO ₂)	Continuo (10%O ₂ +15%CO ₂)
L*	0	33.5 ± 2.6aA	30.7 ± 2.3aA	33.2 ± 0.8aA	34.0 ± 3.5aA
	3	33.7 ± 2.1aA	30.3 ± 2.6aA	31.0 ± 0.4bA	33.0 ± 6.2aA
	6	31.7 ± 1.8aA	30.2 ± 1.5aA	30.3 ± 0.6bA	34.5 ± 2.8aA
	14	29.7 ± 0.4aC	32.8 ± 0aB	29.6 ± 0.9bC	35.0 ± 1.0aA
Hue (h*)	0	28.3 ± 1.3aA	26.2 ± 2.5aA	27.4 ± 0.5aA	28.2 ± 3.4aA
	3	27.9 ± 0.8aA	25.3 ± 2.2aA	26.2 ± 0.5abA	28.7 ± 5.0aA
	6	25.9 ± 2.1aAB	24.2 ± 0.3aB	25.0 ± 0.9abAB	28.6 ± 1.7aA
	14	24.8 ± 0.9aB	26.6 ± 0.8aB	24.2 ± 1.4bB	29.6 ± 0.9aA
Chroma (C*)	0	38.5 ± 2.1aA	33.8 ± 1.9aA	38.2 ± 0.7aA	37.3 ± 2.8aA
	3	38.3 ± 2.3aA	34.1 ± 2.2aA	34.7 ± 1.6bA	35.5 ± 2.5aA
	6	35.9 ± 3.6aAB	33.7 ± 1.2aB	35.0 ± 0.8abAB	39.8 ± 1.7aA
	14	31.6 ± 2.2aC	36.2 ± 0.7aAB	32.2 ± 1.7bBC	39.0 ± 0.9aA
SST (°Brix)	0	5.2 ± 0.1aA	5.3 ± 0.1bA	5.1 ± 0.2aA	5.3 ± 0.2aA
	3	5.0 ± 0.1aA	5.0 ± 0.1bA	5.3 ± 0.6aA	5.1 ± 0.6aA
	6	6.0 ± 1.0aA	5.1 ± 0.2bA	5.1 ± 0.1aA	5.1 ± 0.3aA
	14	6.1 ± 0.1aAB	6.7 ± 0.6aA	5.8 ± 0.5aAB	5.0 ± 0.2aB
AT (% ácido cítrico)	0	1.8 ± 0.1aB	1.8 ± 0.1bB	2.1 ± 0.1aA	1.7 ± 0.1aB
	3	2.0 ± 0.0aA	1.9 ± 0.2bA	1.8 ± 0.2aA	2.2 ± 0.3aA
	6	2.1 ± 0.1aA	2.1 ± 0.2abA	1.8 ± 0.1aA	2.0 ± 0.4aA
	14	2.1 ± 0.3aAB	2.6 ± 0.0aA	2.0 ± 0.1aB	2.2 ± 0.2aAB

Medias ± DE (n=3). Valores en la misma columna seguidos por letras minúsculas diferentes y en la misma fila con letras mayúsculas diferentes presentan diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.8.2 Cambios en la tasa de respiración

En la Figura 20 se puede observar la tasa de respiración de los frutos de cada tratamiento durante el tiempo de almacenamiento. En el día 3 los tratamientos temprano y continuo presentaron una mayor tasa de respiración, 26 y 24.5 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ respecto al tratamiento intermedio y control, 7.8 y 6.8 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente. Lo anterior se confirma en el día 6 en donde el tratamiento intermedio presentó una tasa de respiración de 28.8 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ mientras que el temprano que ya no se encontraba almacenado en AC se

estabilizó con una tasa de respiración de 9.8 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, presentando un valor mas cercano al del control con 12.2 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

Al final del almacenamiento (día 14) no se presentaron diferencias entre el tratamiento temprano y el intermedio, no obstante, ambos son diferentes al tratamiento control presentando una menor tasa de respiración 14.8 y 15.5 respecto al control con 17.5 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, la tasa de respiración más alta al final del almacenamiento la presentó el tratamiento continuo con 35.7 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Lo anterior concuerda a lo reportado por Alamar et al. (2017) quienes evaluaron fresa expuesta a AC en tiempos de exposición de temprano e intermedio, los autores reportaron incrementos transitorios en la tasa de respiración de los frutos mantenidos a AC para después de la transferencia a una atmósfera de aire decrecer a niveles similares al control. No obstante, estos autores si reportaron diferencias entre los tiempos de exposición a AC en donde el tratamiento intermedio presentó una menor tasa de respiración al final del almacenamiento.

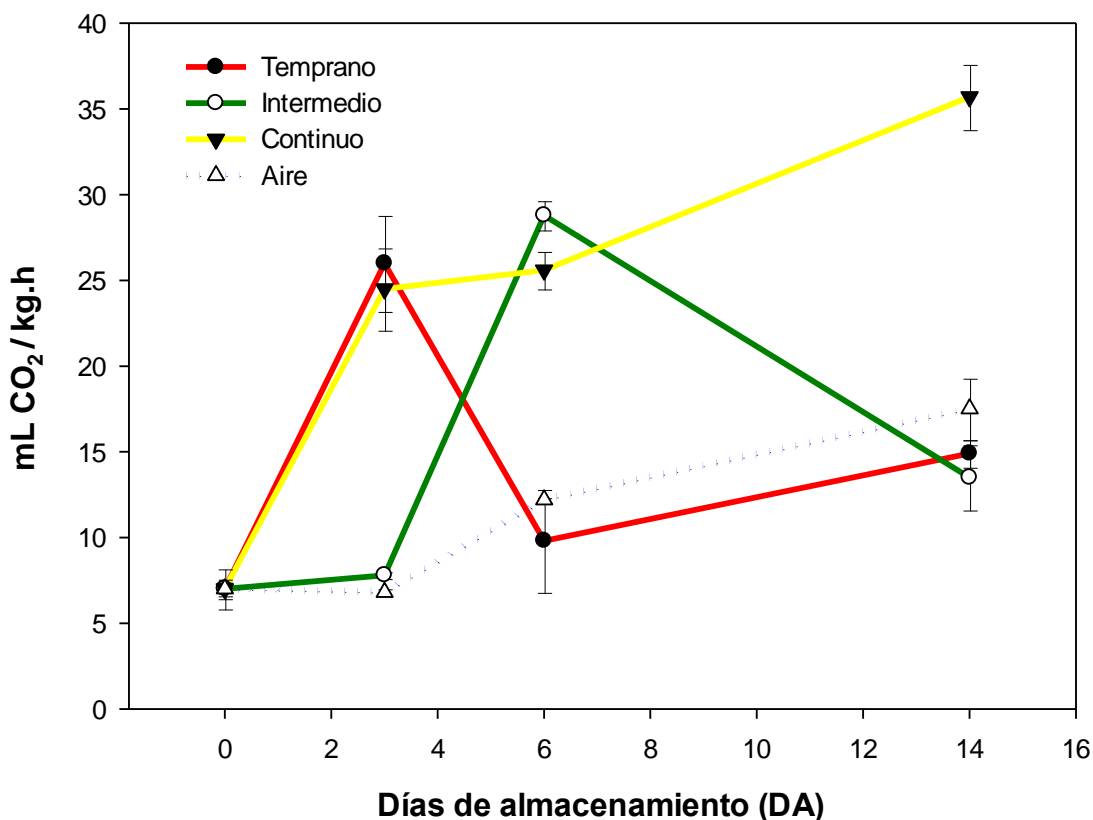


Figura 20. Tasa de respiración (producción de CO₂ en mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) de frutos de frambuesa cv. Adelita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C.

Los autores sugieren que estos incrementos en la tasa de respiración de los frutos que salen de las condiciones de AC se deben al estrés fisiológico al que están sometidos los frutos en este ambiente. No obstante, se ha sugerido que en realidad lo que puede estar sucediendo es que los gases que de acuerdo a la ley de Henry difunden mejor al ser más solubles en los líquidos a bajas temperaturas (Mohebbi et al., 2012) y al encontrarse una mayor concentración de CO₂ en las cabinas de AC (15%) en relación a la encontrada en el aire (0.003%), además de que la frambuesa contiene alrededor del 85% de agua y al estar almacenada a condiciones de baja temperatura (0-2°C), es esperarse que el CO₂ migre hacia el interior de las células vegetales de manera más eficiente y que en el momento en que se incuban los frutos en condiciones ambientales para la medición de la tasa de respiración, el CO₂ acumulado en el fruto difunda al exterior por diferencia de concentración y ésta sea la razón de que en el espacio de cabeza se acumule mayor concentración de CO₂ en los tratamientos en AC en comparación al tratamiento control en aire donde la concentración de CO₂ en el espacio de cabeza es propiamente la del aire que ingresó al recipiente y la generada por la respiración del fruto.

Haffner et al. (2002) después de mantener frutos de frambuesa roja por 7 días en AC (10%O₂ + 15%CO₂) observaron una menor tasa de respiración respecto al control, esta discrepancia con los resultados del presente trabajo se debe posiblemente a que estos investigadores midieron la tasa de respiración después de 1 hora de incubación a condiciones ambientales, mientras que en el presente estudio la tasa de respiración se midió después de 3 horas de incubación en frío (2°C), esta diferencia de tiempo y temperatura entre ambos estudios es la que pudo ocasionar que en el estudio de Haffner et al. (2002) se presentará una menor acumulación de CO₂ en el espacio de cabeza y por ende una menor tasa de respiración en frutos almacenados en AC con respecto al control, lo anterior por

una menor difusión de CO₂ del fruto al ambiente debido a que a mayor temperatura los gases difunden a menor velocidad (Li et al., 2018).

4.8.3 Cambios en la pérdida de peso

Para la pérdida de peso de los frutos a lo largo del almacenamiento no se encontraron diferencias significativas entre el control en aire, la exposición temprana y la intermedia con porcentajes de pérdida de peso en el día 14 de 12.6, 12.1 y 9.5% respectivamente, no obstante, los frutos sometidos al tratamiento continuo presentaron en el día 14 una pérdida de peso de solo el 3% respecto al peso inicial (Figura 21).

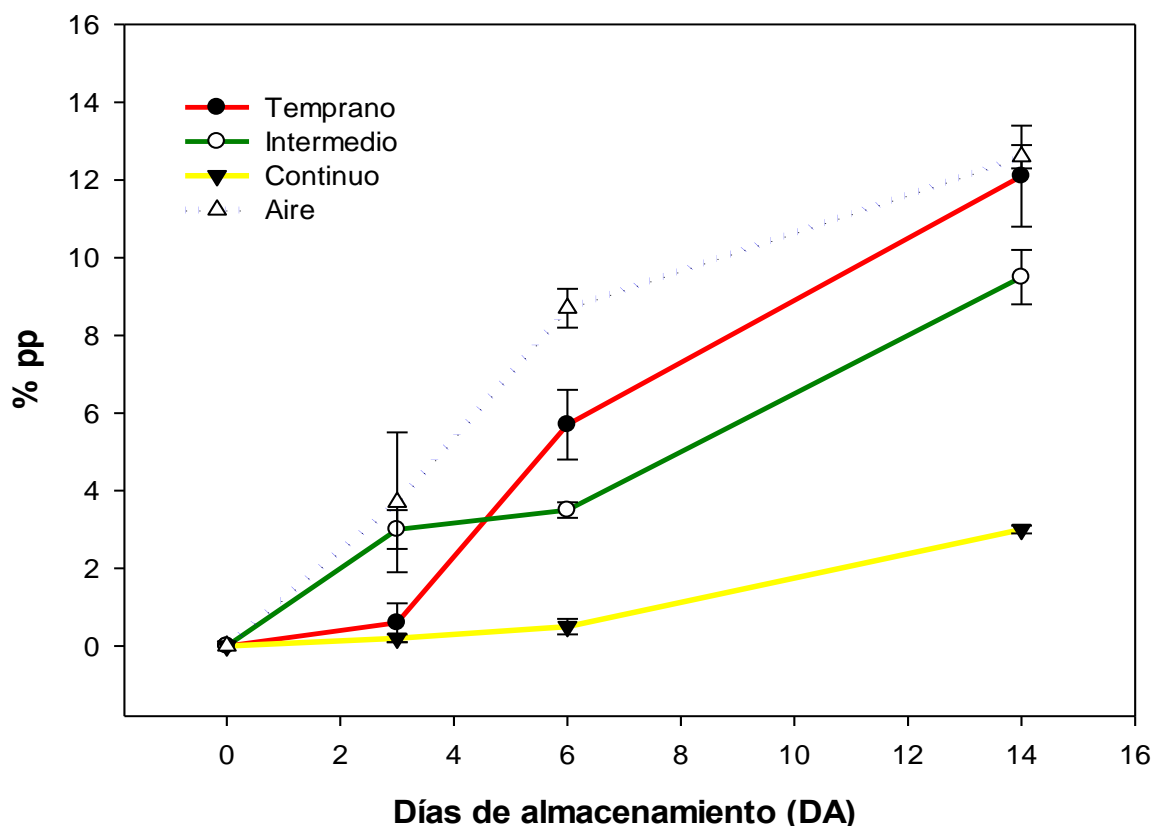


Figura 21. Porcentaje de pérdida de peso (%pp) de frutos de frambuesa cv. Adelita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C

Lo reportado en la literatura comprende pérdidas de peso sin cambios respecto al control en aire en frutos de frambuesa mantenidos por 7 días e condiciones de AC (Haffner et al., 2002), cabe destacar que la pérdida de peso en

ese estudio es de alrededor del 1% mientras que el presente trabajo los frutos control control perdieron 8.7% del peso inicial a los 6 días de almacenamiento, esta mayor pérdida de peso puede relacionarse con una mayor condensación en las cámaras de AC debido a las condiciones variables en la humedad relativa que se tuvieron durante el estudio. Giovanelli et al., (2014) reportaron que para la variedad Erika almacenada por 7 días a 4°C en aire la pérdida de peso fue de 4.6%, mientras que para frutos almacenados en un empaque de PVC con atmósfera modificada fue de cerca del 2%. Por su parte Krüger et al., (2011) indicaron pérdidas de 7-9% en frutos almacenados con temperatura de 2-4°C a HR de 95% más 1 día a 20°C; esta gran variación en resultados se debe a diferencias en las variedades de frambuesa evaluadas, al estado de madurez de los frutos en el momento del estudio, así como a las condiciones cambiantes de temperatura y HR durante el almacenamiento. En el presente estudio las condiciones promedio del ambiente en las cámaras de AC fueron de 1.89°C y 74.9% de HR, sin mencionar que la variedad evaluada y la región de cosecha de las frambuesas no han sido reportadas previamente.

4.8.4 Cambios en la firmeza

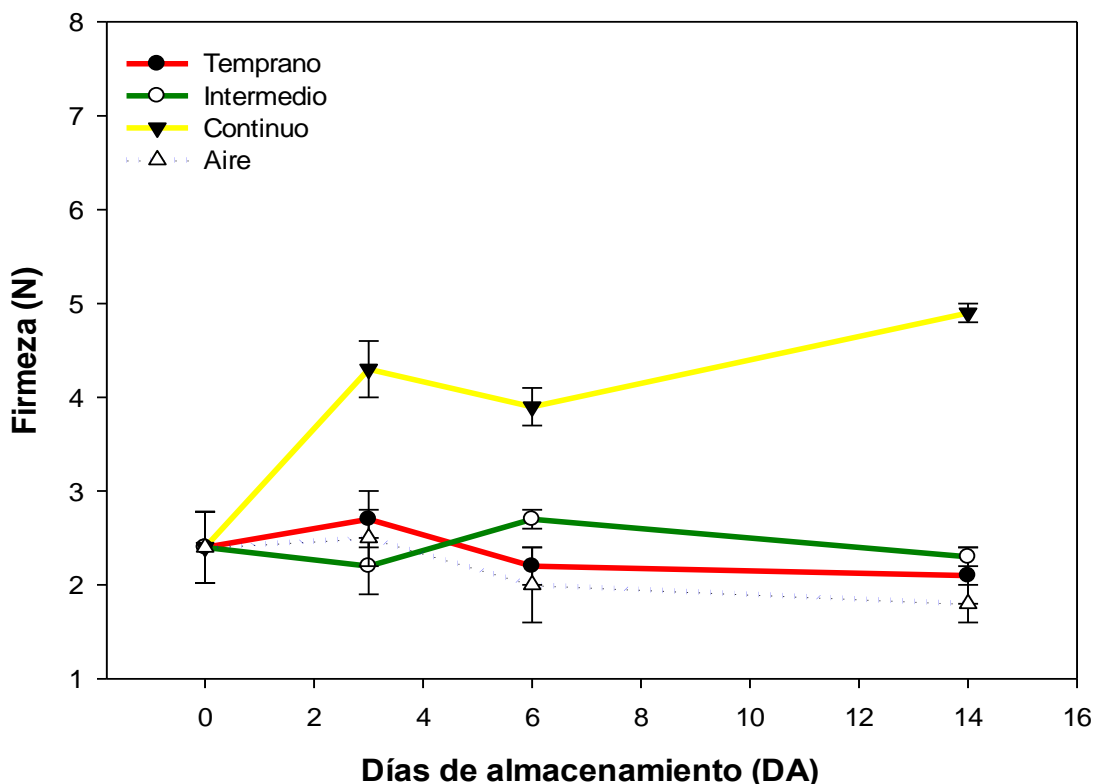


Figura 22. Firmeza (N) de frutos de frambuesa roja cv. Adelita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C.

Los resultados de firmeza se presentan en la Figura 22, el tratamiento temprano e intermedio no resultaron diferentes al control en aire, presentando en los tres casos pérdida de firmeza durante el almacenamiento con respecto al día 0. No obstante, el tratamiento continuo presentó los valores de firmeza más altos incluso observándose un incremento en la firmeza en el día 14 (4.9 N) con respecto al día 0 (2.4 N) Lo anterior, difiere de lo previamente reportado por Forney et al. (2015) para frambuesa de 9 variedades cultivadas en Canadá entre las que se incluían Encore y Glen Ample almacenadas en AC continua (12.5 CO₂ + 7.5 O₂) en donde se observó una disminución en la firmeza respecto al control, y con lo observado por Haffner et al. (2002) en donde el almacenamiento por 7 días en una AC con la misma concentración de gases que la utilizada en el presente trabajo, la firmeza no presentó cambios respecto al control. Terry et al. (2009)

reportaron que frutos de arándano almacenados a concentraciones de CO₂ de 15% o mayores presentaron daño fisiológico que se tradujo en pérdida de firmeza de los frutos. Recientemente Anese et al., (2016) determinaron que con una pérdida de peso inducida mediante una reducción en la HR (90%) en la cámara de almacenamiento, frutos de manzana expuestos a AC por intervalos largos de tiempo presentaron mayor firmeza y menor incidencia de desórdenes fisiológicos, lo anterior sugieren debido a una mayor difusión de gases (salida de CO₂ y entrada de O₂) a través del espacio celular liberado por el agua lo que ocasiona que el CO₂ no se acumule excesivamente en el fruto debido a que se ha reportado que altas concentraciones de CO₂ pueden ocasionar estrés oxidativo con respectivos incrementos en los niveles de peróxido de hidrógeno, lo que ocasiona daño en las membranas celulares (Castro et al., 2008; Herremans et al., 2013). En el presente estudio, si bien no fue inducido a consciencia se presentaron altas pérdidas de peso por la baja HR que se mantuvo en las cámaras a lo largo del experimento (74.9%), por lo anterior, el incremento en la firmeza en el tratamiento continuo y el mantenimiento de ésta en los demás tratamientos podría deberse a un incremento en la difusión de gases lo que evitaría la acumulación de CO₂ y daños en las membranas celulares. No obstante, se ha reportado en fresa sometida a cortos tiempos de exposición a AC un incremento en la firmeza respecto a la inicial y se ha sugerido que este incremento en frutos expuestos a altas concentraciones de CO₂ se debe a cambios en el pH del apoplasto lo que induciría la adhesión célula- célula por un incremento en la retención del calcio celular favoreciendo la formación de pectatos de calcio en la pared (Hwang et al., 2012).

4.8.5 Determinación de la vida de anaquel sensorial

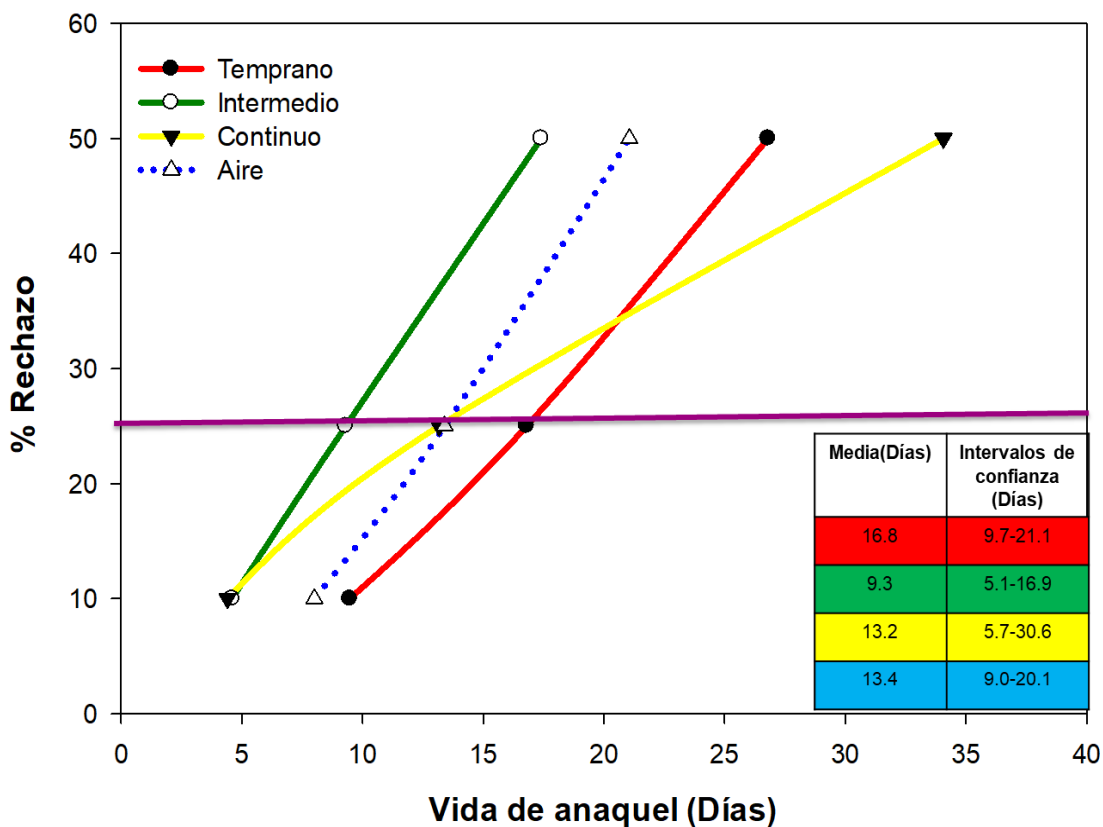


Figura 23. Vida de anaquel sensorial definida por el modelo de Weibull de frutos de frambuesa roja cv. Adelita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C

La vida de anaquel sensorial de los frutos de frambuesa sometidos a diferentes condiciones de atmósfera controlada fue evaluada mediante un diseño básico y estimada por el método estadístico paramétrico de Weibull, en donde la estimación de la función de rechazo se llevó a cabo en base al porcentaje de rechazo de parte de los consumidores en los diferentes días de análisis, para este estudio la vida de anaquel se determinó cuando el 25% de los panelistas rechazaron el producto. En la Figura 23 se observa el gráfico de la función en donde en el eje de las abscisas se encuentra la vida de anaquel en días y en el eje de las ordenadas el porcentaje de rechazo, la línea de la función de los distintos tratamientos se observa en colores distintivos y la vida de anaquel media se definió en el 25% de rechazo de los panelistas que muestra con una línea morada. También en la Figura 23 se puede observar en la tabla de la parte inferior derecha,

la media de vida de anaquel, así como el intervalo de confianza de cada uno de los tratamientos. La vida de anaquel media estimada para los frutos sometidos al tratamiento temprano fue de 16.8 días siendo este el tratamiento con el valor más alto, para los frutos sometidos al tratamiento intermedio de 9.3 días siendo el más corto, por su parte el tratamiento continuo 13.2 días y el control en aire 13.4 días. No obstante, es de mayor importancia interpretar los intervalos de confianza, se puede apreciar que existió gran variabilidad en las respuestas de los consumidores al tener intervalos muy amplios. El tratamiento continuo presentó el intervalo más grande que va desde los 5.7 hasta los 30.6 días de vida de anaquel, esta variabilidad pudo deberse a un bajo número de panelistas (35), además para el caso concreto del tratamiento continuo se pudo deber a que el panelista no percibió sensorialmente este tratamiento de manera homogénea, lo anterior posiblemente porque en el formato de evaluación al consumidor se le pidió determinar si consumiría el producto en base a los atributos de firmeza al tacto, color, sabor y olor del fruto y este tratamiento en concreto presentó los frutos más firmes y menos rojos, no obstante el consumidor promedio está acostumbrado a consumir las frambuesas en un estado de senescencia más avanzado (frutos menos firmes, más rojos y más dulces), por lo cual esto podría haber influido en la respuesta diferencial hacia este tratamiento al encontrar los frutos con un color más agradable, pero demasiado firmes y no tan dulces. Por otra parte, el tratamiento temprano además de presentar la media más alta en vida de anaquel con 16.8 días también presentó el intervalo de confianza más compacto, de 9.7 a 21.1 días, por lo anterior en base a los consumidores el tratamiento temprano resultó ser el que presentó una mayor vida de anaquel y un intervalo de confianza más compacto, 11.4 días de diferencia en comparación al tratamiento continuo con una diferencia de 24.9 días.

Adicionalmente a la determinación de la vida de anaquel sensorial se llevó a cabo de manera paralela una prueba hedónica de aceptabilidad de 10 puntos con la finalidad de determinar cuál de los parámetros sensoriales del fruto tuvo mayor influencia en la respuesta del consumidor. En el Cuadro 16 se pueden observar los resultados del análisis de la prueba hedónica en el día 14 de almacenamiento,

para cada atributo mediante la prueba estadística de Wilcoxon / Kruskal-Wallis se obtuvieron los valores p de cada atributo, se puede observar que de acuerdo con este análisis, el único atributo que resultó ser estadísticamente significativo en la decisión de los panelistas fue la firmeza con un valor p de 0.0048. En la Figura 24 por su parte se presenta la tabla de contingencia del atributo de firmeza en donde se muestra en las ordenadas el porcentaje de aceptabilidad contra cada tratamiento a partir de una calificación de 6 en la prueba hedónica, es decir a partir de “me gusta”. Se puede apreciar que los frutos sometidos al tratamiento continuo presentaron las mejores calificaciones con el 33.33% de los panelistas otorgándoles una calificación de 9 (“me gusta mucho”) y 27.27% una calificación de 10 (“me gusta muchísimo”) seguido de los frutos sometidos al tratamiento temprano con 15.15% de panelistas otorgándoles una calificación de 9 y 21.21% una de 10, lo anterior, concuerda con el análisis instrumental de firmeza en donde este tratamiento registro los valores más altos de firmeza. No obstante, el tratamiento continuo no registró el 100% de los panelistas con calificación aprobatoria (≥ 6) a diferencia del tratamiento temprano con el 100% de los panelistas calificando al tratamiento con calificaciones aprobatorias. Por otra parte, el tratamiento control en aire resultó tener las peores calificaciones para este atributo con el 75% de los panelistas otorgando calificaciones ≥ 6 , y de estos solamente el 9% con calificación de 10.

Cuadro 16. Valor p (prueba Wilcoxon / Kruskal Wallis) del análisis sensorial al día 14 de frutos frambuesa roja cv. 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

Atributo	Wilcoxon / Kruskal-Wallis (Prob>ChiSq)
Sabor	0.3116
Color	0.8150
Aroma	0.6977
Firmeza	0.0048*

La prueba hedónica permitió corroborar que los panelistas observaron de manera satisfactoria la firmeza de los frutos del tratamiento continuo, no obstante no fue capaz de dilucidar en que otro atributo los panelistas percibieron negativamente este tratamiento y así explicar de alguna manera la variabilidad de este tratamiento en los resultados de vida de anaquel, lo anterior es porque la firmeza fue el único atributo donde los panelistas percibieron claras diferencias entre los tratamientos.

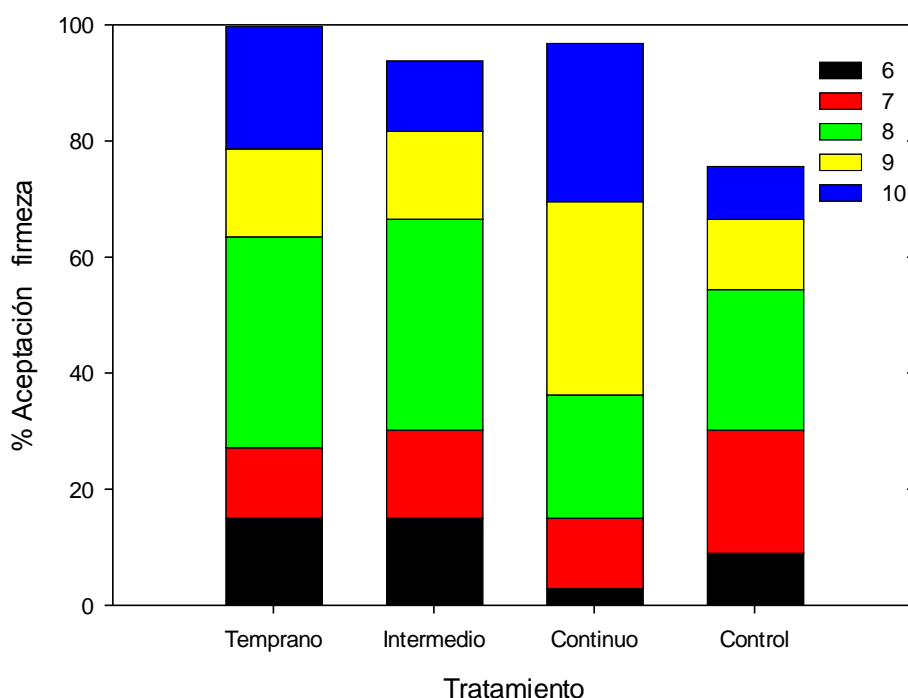


Figura 24. Tabla de contingencia de firmeza de la prueba de aceptación hedónica de frutos de frambuesa roja cv. Adelita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C

Cabe destacar que las determinaciones de la vida de anaquel a través de ensayos con consumidores son de reciente utilización en el área de alimentos y pocos reportes sobre su utilización en frutas y hortalizas se encuentran en la literatura. Un ejemplo es el estudio de Garitta et al. (2008) donde mediante un análisis de sobrevivencia se llevó a cabo una predicción del estado óptimo de maduración de tomates basándose en la aceptación o rechazo de panelistas

consumidores. Más recientemente Amodio et al. (2014) determinaron la vida de anaquel de lechuga cortada considerando variables sensoriales mediante panelistas entrenados y características fisicoquímicas del producto, la difusión de éste tipo de análisis es de importancia en el área de ciencia y tecnología de alimentos por el valor de los datos obtenidos, y porque se ha demostrado que la vida de anaquel de un producto está basada en realidad en los aspectos sensoriales del mismo evaluados por los consumidores y no en un análisis de estabilidad del producto (Hough, 2010).

4.8.6 Análisis fitoquímicos y capacidad antioxidante

En el Cuadro 17 se presentan los resultados del perfil fitoquímico y capacidad antioxidante (cAOX) para cada tratamiento durante el almacenamiento. Para los fenoles totales (FT) en el día 14 todos los frutos sometidos a AC son diferentes al control en aire, en este último tratamiento se presentó un mayor contenido fenólico 680.5 mg EAG/100 g de peso fresco (PF), este valor se encuentran dentro del rango reportado para otras variedades de frambuesa roja (Koponen et al., 2007; Kula et al., 2016), en específico Mazur et al. (2014) reportaron una media de fenoles totales de 11 variedades de 234 mg/100 g de PF, en el presente estudio en el día 0 de almacenamiento se tiene una media de 235.9 mg EAG /100 g de PF para la variedad Adelita. Giovanelli et al. (2014) no reportaron cambios en el contenido de fenoles durante el almacenamiento en atmósferas modificadas por 7 días / 4°C en frambuesa roja cv. Erika con respecto al control en aire. Cabe señalar que en la literatura no se encuentran reportes en frambuesa sobre el cambio en el contenido de fenoles totales durante almacenamiento en AC. Los resultados obtenidos indican que el almacenamiento en AC es efectivo en reducir este parámetro que es un indicativo de estrés del fruto y se ha reportado que incrementa a lo largo del almacenamiento en frutos de frambuesa almacenados a temperaturas superiores a 0 °C (Mullen et al., 2002; Rao & Snyder, 2010).

En cuanto al 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) lo que concuerda con lo encontrado en zarzamora, fresa, y frambuesa almacenadas en AC que también presentaron reducción en el contenido de AMT (Haffner et al., 2002; A. Kader, 2000; Veazie & Collins, 2002). Lo anterior puede deberse a fenómenos de degradación de antocianinas, que como se ha reportado son compuestos susceptibles a degradarse cuando se exponen a ambientes adversos como altas temperaturas, pHs neutros o alcalinos, y agentes oxidantes como el CO₂ (Tan et al., 2018). No obstante, Gil et al. (1997) sugieren que los procesos enzimáticos también pueden ser responsables de la degradación, lo anterior al encontrar una reducción del 20% en el contenido de antocianinas después del tratamiento con AC en fresas donde la mayor parte de la degradación se presentó en el tejido interno del fruto, donde además se encontraron bajos contenidos de flavonoles, los cuales se localizaron casi exclusivamente en el tejido externo de las fresas y de acuerdo con lo reportado por Mazza & Minniati (1993) son los copigmentos más eficientes. Por lo anterior Gil et al., (1997) postulan que en el tejido externo prevalecen fenómenos de copigmentación, el cual es uno de los principales mecanismos de estabilización del color debido a la asociación de las antocianinas con copigmentos (iones metálicos, fenoles y otros flavonoides) en estructuras supramoleculares que protegen el catión flavilio de ataque nucleofílico (Sari et al., 2012), mientras que en el tejido interno se favorece la degradación enzimática por la susceptibilidad de las antocianinas a la actividad enzimática. Para corroborar estas suposiciones es necesario realizar ensayos de actividad enzimática sobre enzimas relacionadas con la síntesis y degradación de compuestos fenólicos y la evaluación del desarrollo de fenómenos de copigmentación de antocianinas en frambuesa. Por ejemplo, resulta de importancia la actividad de peroxidasa, involucrada en la oxidación de fenoles en la pared celular o de PAL (fenilalanina amonio liasa) que es la enzima inicial en la vía que cataliza la diseminación de la *L*-fenilalanina al precursor de compuestos como ligninas, cumarinas, y flavonoides como las antocianinas. En frambuesa

específicamente se observó que el desarrollo del color y sabor de los frutos era dependiente de PAL codificada por dos familias de genes (*ripal 1* y *ripal 2*), los genes de *ripal 1* se encontró estaban más relacionados con el desarrollo temprano del fruto mientras que los de *ripal 2* parecen controlar diferentes mecanismos de regulación en etapas posteriores de desarrollo. (Singh et al., 2010) Por lo anterior, para efectos de este experimento resulta difícil dilucidar el fenómeno que prevalece y es el causante de esta reducción en el contenido de antocianinas.

Cuadro 17. FT, AMT y cAOX (ABTS y DPPH) de frutos de frambuesa roja cv. 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.

Parámetros	Días	Aire	Temprano (10%O ₂ +15%CO ₂)	Intermedio (10%O ₂ +15%CO ₂)	Continuo (10%O ₂ +15%CO ₂)
FT (mg GAE/100 g PF)	0	235.9 ± 21.1cA	235.9 ± 31.7cA	235.9 ± 13.4cA	235.9 ± 16.5cA
	3	279.4 ± 19.7cAB	248.3 ± 17.6cB	249.4 ± 11.6cB	356.1 ± 32.0bA
	6	468.3 ± 15.7bC	592.7 ± 34.4aA	573.9 ± 9.7aAB	492.8 ± 7.2aBC
	14	680.5 ± 18.2aA	413.9 ± 25.0bB	403.9 ± 14.4bB	426.0 ± 22 abB
AMT (mg/100 g PF)	0	25.8 ± 3.5aA	25.8 ± 3.6aA	25.8 ± 3.1aA	25.8 ± 1.2aA
	3	16.6 ± 2.5bB	22.9 ± 4.7aAB	26.1 ± 1.7abA	17.8 ± 1.1bB
	6	22.0 ± 2.6abA	21.4 ± 1.0aA	16.2 ± 3.5bAB	13.0 ± 1.6cB
	14	20.2 ± 3.5abA	25.4 ± 2.1aA	20.7 ± 3.6abA	12.1 ± 2.0cB
ABTS (µM TE/100g PF)	0	718.0 ± 33.3bA	718.0 ± 14.2bA	718.0 ± 34.4aA	718.0 ± 53.8aA
	3	651.0 ± 3.1cB	657.6 ± 8.8bB	754.7 ± 48 aAB	838.7 ± 20.4bA
	6	779.1 ± 28.7bA	569.5 ± 30.9cB	551.6 ± 12.4bB	734.1 ± 10.3aA
	14	912.3 ± 10.6aA	999.2 ± 15.6aA	765.1 ± 19.1aB	722.4 ± 36.6aB
DPPH (µM TE/100g PF)	0	777.0 ± 8.0cA	777.0 ± 44.0bcA	777.0 ± 7.7cA	771.8 ± 21.4cA
	3	466.0 ± 31.2dB	696.1 ± 88.1cA	517.1 ± 24 dAB	670.9 ± 16 dAB
	6	1287.0 ± 56.5bA	1240.6 ± 21.8bA	1175.7 ± 8 bA	1297.8 ± 10 bA
	14	1526.7 ± 27aAB	1634.9 ± 39.0aA	1421.5 ± 20 aBC	1375.1 ± 16 aC
Ácido elágico(mg/100 g PF)	0	141.0 ± 38.4bA	141.0 ± 38.4aA	141.0 ± 38.4aA	141.0 ± 38.4bA
	14	198.1 ± 5.35aA	145.6 ± 14.5aA	154.6 ± 30.8aA	149.9 ± 3.7aA
Cianidina 3-glucósido (mg/100 g PF)	0	20.2 ± 3.1bA	20.2 ± 3.1bA	20.2 ± 3.1bA	20.2 ± 3.1aA
	14	42.4 ± 2.4aA	43.0 ± 2.4aA	50.6 ± 2.5aA	22.9 ± 2.0aB

Medias ± DE (n=3). Valores en la misma columna seguidos por letras minúsculas diferentes y en la misma fila con letras mayúsculas diferentes presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

En cuanto a la cAOX evaluada mediante la aproximación que otorgan los ensayos con los radicales ABTS y DPPH, el tratamiento temprano presentó en el día 14 mayor capacidad antioxidante, 999.2 y 1634.9 μM equivalentes de Trolox /100 g de PF para ambas técnicas, respectivamente. Los datos anteriores no presentaron diferencia estadística respecto al control en aire, con valores de 912.3 y 1526.7 μM equivalentes de Trolox /100 g de PF, respectivamente. Estos resultados difieren de lo reportado previamente por Giovanelli et al. (2014) en donde la cAOX en frambuesa variedad Erika es estable y poco afectada por las condiciones de atmósfera durante el almacenamiento. No obstante, cabe destacar que no existen reportes de los cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento de frambuesa en condiciones de AC. La correlación de los dos ensayos fue de 0.99 lo que indica que los tratamientos tienen una actividad comparable en los dos ensayos, no se encontró correlación entre ABTS y DPPH con el contenido de fenoles totales (0.31 y 0.19, respectivamente), no obstante ambos ensayos están altamente correlacionados con el contenido de antocianinas monoméricas totales, 0.83 y 0.86 para ABTS y DPPH respectivamente, por lo que las antocianinas de la frambuesa pueden ser los compuestos que contribuyen principalmente a la cAOX de este fruto.

Si bien el uso de las técnicas *in vitro* para la estimación de la cAOX en las que se hace uso de un radical artificial para estimar la actividad de los compuestos antioxidantes dentro del tejido vegetal son ampliamente utilizadas en el área poscosecha, sus limitaciones conceptuales y técnicas son bien conocidas y difíciles de ignorar. Schaich et al. (2015) resumen ampliamente las limitaciones de ambas técnicas para estimar cambios a nivel bioquímico en el sistema antioxidante de alimentos y de tejidos biológicos, entre las que más se destacan, se menciona que los resultados de ensayos *in vitro* no son relevantes a las condiciones presentes *in vivo*. Los radicales ABTS y DPPH generalmente favorecen uno de los dos mecanismos de acción antioxidante, ya sea por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o transferencia de electrones (SET), sin embargo, cualquiera de estos dos se favorece dependiendo de las condiciones del medio como el pH, tipo de solvente y cinética de reacción. Como ejemplo

ABTS favorece la actividad de antioxidantes donde se ven favorecidos mecanismos de transferencia de electrones perdiendo la estimación de la actividad de compuestos como glutatión, tioles y proteínas que son HAT dominantes e importantes antioxidantes *in vivo*, e incluso se subestima la actividad de compuestos con múltiples grupos hidroxilo y anillos aromáticos debido al impedimento estérico que presenta el radical. Por su parte DPPH, a diferencia del ABTS que es soluble en agua, es hidrofóbico por lo que la reacción debe llevarse a cabo en solventes orgánicos que al ser fuertes atrayentes de grupos hidrógeno interfieren con la liberación de éste y por ende se favorecen los mecanismos SET sobre los HAT, aunado a esto la tasa de reacción del DPPH es dependiente de la accesibilidad al centro del radical, el cual tiene gran impedimento estérico provocando que algunos compuestos fenólicos como polifenoles se vean ampliamente subestimados. Por lo anterior, ambos métodos de estimación de capacidad antioxidante deben tomarse con precaución debido a que compuestos diferentes a los fenólicos son pobremente detectados, además se debe evaluar su reemplazo por nuevos ensayos de evaluación del sistema antioxidante tales como los de oxidación lipídica con mecanismos de reacción fácilmente identificables. No obstante, también se hace mención de la utilidad de ensayos como ABTS y DPPH para efectos de comparación sobre cambios en el mismo tipo de compuestos durante el almacenamiento a diferentes condiciones, lo anterior es precisamente lo que se evaluó en este trabajo con estos métodos, los cambios en los compuestos fenólicos durante el almacenamiento de los frutos de frambuesa en diferentes condiciones de atmósfera controlada.

4.8.7 Perfil de compuestos fenólicos

El contenido de ácido elágico y de elagitaninos es uno de los principales parámetros de calidad en frambuesa y uno de los principales parámetros para la selección de variedades. El contenido total de elagitaninos por lo general se reporta como la suma de los derivados de su hidrólisis, entre los cuales han sido identificados el ácido elágico como el mayor componente, metil sanguisorboato y metil galato en menor proporción (Vrhovsek et al., 2006). En la figura 25 se observa el cromatograma del extracto de frambuesa hidrolizado en HCl por 6

horas a 80°C analizado en HPLC-DAD, en donde el pico 3 se identificó y cuantificó como ácido elágico mediante un estándar externo. No se presentaron diferencias entre tratamientos en el día 14 de almacenamiento (Cuadro 17), con una media para el tratamiento control de 198.1 mg en 100 g de PF. Cabe destacar que el ácido elágico ha sido reportado como el principal producto derivado de la hidrólisis de elagitaninos y su contenido en 100 g de frambuesa se ha reportado desde 118.9 mg en variedad Pokusa hasta 323.5 mg en variedad Bristol (Bobinait et al., 2012), por lo anterior, los resultados del presente trabajo se encuentran dentro de los valores reportados para otras variedades, destacando además que los tratamientos en AC no afectan su contenido. En cuanto a los otros dos derivados de la hidrólisis ácida de elagitaninos, el metil sanguisorboato y el metil galato, su cuantificación no se llevó a cabo en este estudio por la falta de un estándar externo. Reportes además del generado por Bobinait et al. (2014) sobre el contenido de ácido elágico en frambuesa roja elagitaninos pueden encontrarse en la literatura, valores desde 38 a 118 mg en 100 g de peso fresco para las variedades Nova y Ville respectivamente (Anttonen & Karjalainen, 2005) hasta valores incluso menores para variedades cultivadas en España como de 20.7 a 24.4 mg en 100 g de peso fresco (De Ancos et al., 2000), lo anterior, debido a diferencias en la metodología de hidrólisis y de extracción utilizadas por diferentes autores, por lo cual en el presente trabajo solamente fueron tomados en cuenta los resultados de estudios realizados con las mismas condiciones de extracción e hidrólisis que las utilizadas en el presente experimento. Los picos 1 y 2 del cromatograma correspondiente a la hidrólisis de elagitaninos no pudieron ser identificados en este estudio debido a que no se observó un espectro UV-Vis característico y no se compararon con ningún estándar

Finalmente, en el Cuadro 17 se presentan los resultados de la cuantificación de cianidina 3- glucósido en los extractos fenólicos de frambuesa cv. Adelita en los diferentes tratamientos evaluados en HPLC-DAD a 520 nm. El cromatograma correspondiente al tratamiento control en aire se observa en la Figura 26 en donde el pico identificado como cianidina 3-glucósido corresponde al Pico 2, la cuantificación e identificación de este compuesto se llevó a cabo

mediante una curva de calibración con un estándar externo de la antocianina. 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. Lo anterior concuerda con los resultados del contenido de AMT que se vieron reducidas significativamente (aproximadamente 40%) en el tratamiento continuo y se observó entre ambos análisis una correlación de 0.8. El contenido de cianidina 3-glucósido reportado para otras variedades de frambuesa roja va desde 4.5 mg / 100 g de PF para la variedad Octavia hasta 25.5 mg / 100 g de PF para la variedad Vetén (Mazur et al., 2014), lo anterior indica que la variedad evaluada tiene un alto contenido de esta antocianina, incluso con la reducción observada en el tratamiento continuo, cabe destacar que en la mayoría de los reportes donde se cuantifican compuestos fenólicos específicamente antocianinas, la antocianina más abundante en frambuesa roja es la cianidina 3-soforósido lo cual difiere de lo encontrado en el presente estudio en donde la mayoritaria resultó ser la 3-glucósido al tener el pico más alto en el cromatograma y un área relativa del 53.3% en comparación al siguiente pico (pico 1) con el 40.9% del área total (Figura 26). Esto pudo deberse posiblemente a que la variedad Adelita proviene de una cruce donde uno de los padres (seed parent 07.09R.99) es de color amarillo (Pierron-Darbonne, 2012), lo anterior podría causar cambios en el perfil de antocianinas de esta variedad lo que la diferenciaría de las demás, en cuanto a los picos 1 y 3 a pesar de no haber sido identificados en este estudio presentan un espectro UV-Vis característico de las antocianinas, se podría especular que el pico 1 al ser el segundo en abundancia podría tratarse de la cianidina 3-soforósido, mientras que la identificación del pico 3 con solo el 5.4% de abundancia resulta más difícil de dilucidar. Es importante mencionar que este es el primer reporte donde se cuantifican e identifican antocianinas de la variedad Adelita, no obstante, aun restaría la comprobación de la identidad de estas antocianinas mediante un análisis QTof MS/MS^E.

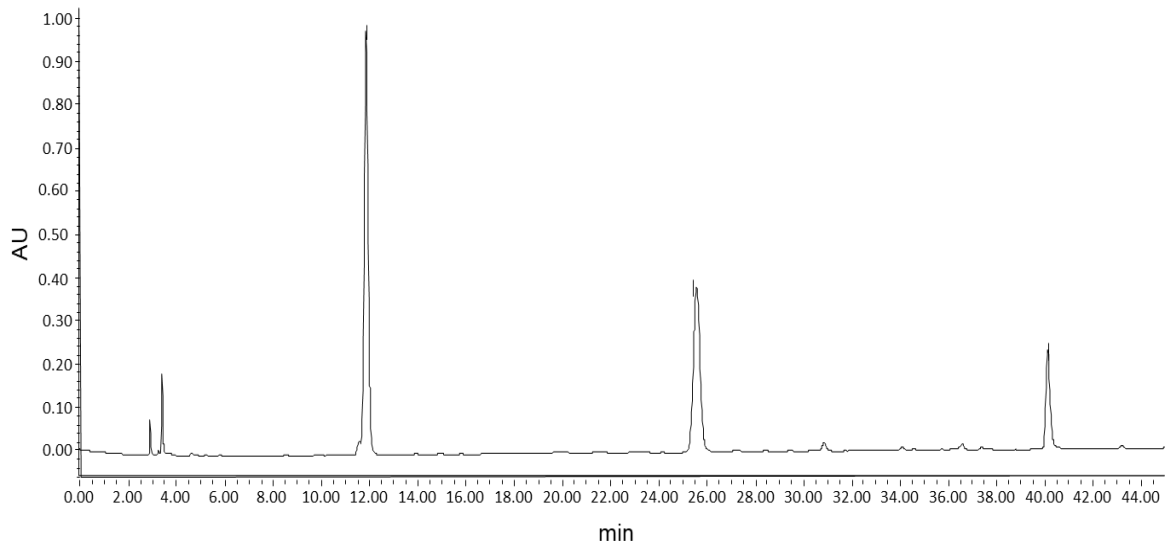


Figura 25. Cromatograma HPLC-DAD a 254 nm después de hidrólisis ácida de Frambuesa cv. Adelita tratamiento en Aire (14 DA). Picos: 1 y 3 –desconocidos; 2- ácido elágico

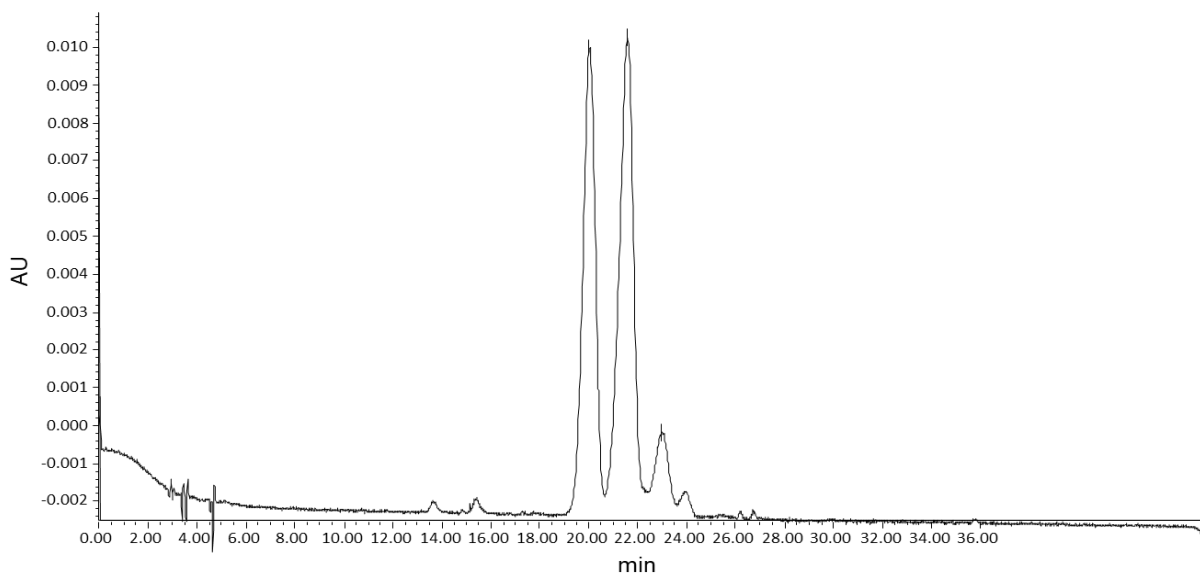


Figura 26. Cromatograma HPLC-DAD a 520 nm del extracto fenólico de Frambuesa cv. Adelita tratamiento en Aire (14 DA Picos: 1 y 3-desconocidos; 2- cianidina 3-glucósido

4.8.8 Análisis de factores múltiples

Para evaluar las relaciones entre los tratamientos con variables de distinta naturaleza como los parámetros de color, los parámetros fisiológicos como pérdida de peso, tasa de respiración entre otras y los parámetros fitoquímicos que se

refieren principalmente al contenido de compuestos fenólicos y a la capacidad antioxidante se llevó a cabo un análisis de factores múltiples (MFA), en este análisis se analizan de manera balanceada cada grupo de variables a pesar de su distinta naturaleza. En las primeras dos dimensiones se acumuló más del 87% de la varianza por lo cual el análisis es representativo de los resultados del experimento y se logró una reducción de variables con interpretabilidad.

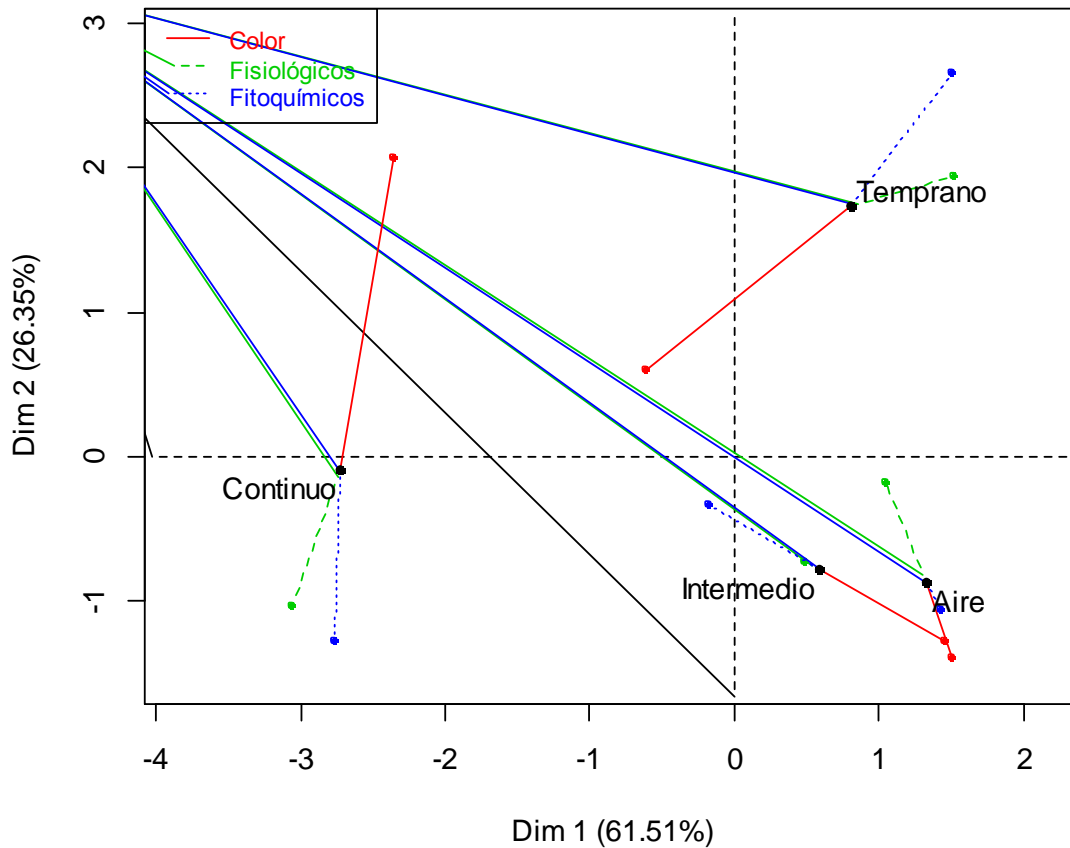


Figura 27. Mapa de factores individuales del MFA de tres tipos de variables evaluadas (color, fisiológicas y fitoquímicas) en frutos de frambuesa roja cv. Adelita sometidos a AC en diferentes tiempos de exposición: Control en aire (14 DA), Temprano (1-3 DA), Intermedio (4-6 DA) y Continuo (1-14 DA) en almacenamiento a 1°C

En la Figura 27 se observa el mapa de factores individuales del MFA en donde se distribuyen en las dos dimensiones los cuatro tratamientos de atmósfera evaluados. El punto negro es la posición de cada tratamiento dada por el análisis factorial y los puntos de color definen la localización en el gráfico de cada grupo de variables evaluadas (rojo para las variables de color objetivo, verde para las

variables fisiológicas y azul para las fitoquímicas), se puede observar que el tratamiento intermedio y el control en aire forman un grupo al concentrarse en el primer componente de manera muy similar contrastando con el tratamiento continuo que se ubicó en el mismo componente pero de manera inversa, el tratamiento temprano por su parte formó otro grupo con mayor influencia en el componente 2. Con este análisis se aprecia de manera más esquematizada que el tratamiento intermedio y el control en aire presentaron resultados similares en todas las variables evaluadas diferenciándose del tratamiento continuo y del temprano, por lo cual se reafirma que el tratamiento temprano es la exposición corta de AC para frutos de frambuesa roja variedad Adelita que mejores resultados presentó al estar más alejado del control en aire

5. CONCLUSIONES

Se seleccionó a la AC1 (10%O₂ + 15%CO₂) como la condición de AC que mantuvo la calidad poscosecha a lo largo del almacenamiento de dos variedades de frambuesa roja (F16 y F24), al observar menor pérdida de peso (50%) y mayor firmeza (15%) en los frutos respecto a la AC2 (10% O₂ + 10% CO₂).

La exposición temprana (1-3 DA) a AC1 de los frutos de frambuesa fue la mejor condición de almacenamiento al incrementar la vida de anaquel sensorial hasta 16.8 días, la capacidad antioxidante y al mantener a los frutos con mayor luminosidad e intensidad de color a lo largo del almacenamiento, cabe destacar que no se observaron cambios en el perfil de compuestos fenólicos entre los diferentes tratamientos.

Se identificaron 3 antocianinas, la más abundante identificada como cianidina 3-glucósido y 3 compuestos derivados de la hidrólisis de elagitaninos, uno de ellos identificado como ácido elágico.

A pesar de que la AC1 (15%CO₂ + 10%O₂) aplicada de manera continua durante el almacenamiento presentó mayor firmeza y menor pérdida de peso respecto al resto de los tratamientos, la reducción en los niveles de antocianinas (40%) y la variabilidad en la aceptación sensorial limitan su aplicación a nivel comercial. Con lo anterior, se comprueba que la exposición prolongada a condiciones de AC además de presentar desventajas tanto económicas como ambientales, puede alterar el metabolismo del fruto generando daño fisiológico y degradación de pigmentos, con alteración de las características sensoriales, lo anterior con marcadas repercusiones a nivel comercial.

Es importante remarcar que este es el primer estudio que se lleva a cabo en la variedad de frambuesa Adelita, además de ser el primer reporte sobre la calidad poscosecha y potencial nutracéutico conjuntamente de ser la primera estimación de la vida de anaquel de frambuesa roja cultivada en México.

6. REFERENCIAS

- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Alamar, M. C., Collings, E., Cools, K., & Terry, L. A. (2017). Impact of controlled atmosphere scheduling on strawberry and imported avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 134(April), 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.08.003>
- Amodio, M. L., Derossi, A., & Colelli, G. (2014). Modeling phenolic content during storage of cut fruit and vegetables : A consecutive reaction mechanism. *JOURNAL OF FOOD ENGINEERING*, 140, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.04.006>
- Ancos, D., Gonza, E. M., & Cano, M. P. (2000). Ellagic Acid , Vitamin C , and Total Phenolic Contents and Radical.
- Anese, R. de O., Brackmann, A., Thewes, F. R., Schultz, E. E., & De Gasperin, A. R. (2016). Mass loss by low relative humidity increases gas diffusion rates in apple flesh and allows the use of high CO₂ partial pressures during ultralow O₂ storage. *Scientia Horticulturae*, 198, 414–423. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.015>
- Anttonen, M. J., & Karjalainen, R. O. (2005). Environmental and genetic variation of phenolic compounds in red raspberry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(8), 759–769. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.11.003>
- Badenes, M. L., & Byrne, D. H. (2012). *Fruit breeding. Fruit Breeding*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0763-9>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Beveridge, C. A., Mathesius, U., Rose, R. J., & Gresshoff, P. M. (2007). Common regulatory themes in meristem development and whole-plant homeostasis. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(1), 44–51. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2006.11.011>
- Bobinait, R., Viškelis, P., & Venskutonis, P. R. (2012). Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chemistry*, 132(3), 1495–1501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.137>
- Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W., & Crozier, A. (2010). Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

- 58(7), 3901–3909. <https://doi.org/10.1021/jf902263n>
- Boudet, A.-M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22–24), 2722–2735. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2007.06.012>
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- Castro, E., Barrett, D. M., Jobling, J., & Mitcham, E. J. (2008). Biochemical factors associated with a CO₂-induced flesh browning disorder of Pink Lady apples. *Postharvest Biology and Technology*, 48(2), 182–191. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2007.09.027>
- Chen, L., Xin, X., Zhang, H., & Yuan, Q. (2013). Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.10.009>
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>
- De Ancos, B., Gonzalez, E. M., & Cano, M. P. (2000). Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4565–4570. <https://doi.org/10.1021/jf0001684>
- De Michelis, A. (2003). Parameters affecting pre-cooling, freezing, storage and transport of red raspberry fruits, individually frozen in discontinuous tunnels. Comparison among five varieties of *Rubus* sp. *International Journal of Refrigeration*, 26(5), 586–592. [https://doi.org/10.1016/S0140-7007\(02\)00146-9](https://doi.org/10.1016/S0140-7007(02)00146-9)
- De Souza, V. R., Pereira, P. A. P., Da Silva, T. L. T., De Oliveira Lima, L. C., Pio, R., & Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156, 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>
- Dewanto, V., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Processed Sweet Corn Has Higher Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4959–4964. <https://doi.org/10.1021/jf0255937> CCC:
- FAOSTAT. (2015). FAOSTAT. Retrieved March 21, 2017, from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>
- Fei, H., Lin, M., Guo Liang, Y., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., ... Duan, C. Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15(12), 9057–9091. <https://doi.org/10.3390/molecules15129057>

- Finn, C. E., & Hancock, J. F. (2008). Raspberries. In *Temperate Fruit Crop Breeding* (pp. 359–392). Dordrecht: Springer Netherlands.
https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6907-9_12
- Forney, C. F., Jamieson, A. R., Munro Pennell, K. D., Jordan, M. A., & Fillmore, S. A. E. (2015). Relationships between fruit composition and storage life in air or controlled atmosphere of red raspberry. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.017>
- Funt, R. C., & Hall, H. K. (2013). Raspberries. In H. K. H. Richard C. Funt (Ed.), *Raspberries Volumen 23 de Crop production science in horticulture* (Ilustrada, p. 282). Oxfordshire, UK: CAB International. Retrieved from https://books.google.com.mx/books?id=FQeYYs0Sg8kC&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- Garitta, L., Hough, G., & Hulshof, E. (2008). Determining optimum ripening time of fruits by applying survival analysis statistics to consumer data. *Food Quality and Preference*, 19(8), 747–752.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODQUAL.2008.03.003>
- Gil, M. I., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (1997). Changes in Strawberry Anthocyanins and Other Polyphenols in Response to Carbon Dioxide Treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1662–1667.
<https://doi.org/10.1021/jf960675e>
- Giménez, A., Ares, F., & Ares, G. (2012). Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Research International*, 49(1), 311–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.008>
- Giménez, A., Varela, P., Salvador, A., Ares, G., Fiszman, S., & Garitta, L. (2007). Shelf life estimation of brown pan bread: A consumer approach. *Food Quality and Preference*, 18(2), 196–204.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.09.017>
- Giovanelli, G., Limbo, S., & Buratti, S. (2014). Effects of new packaging solutions on physico-chemical, nutritional and aromatic characteristics of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) in postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 98, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.002>
- Giusti, M. Wrolstad, R. (2005). Characterization and measurement of anthocyanins by UV- Visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (August 2016), 19–31. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Goulart, B. L., Hammer, P. E., Evensen, K. B., Janisiewicz, W., & Takeda, F. (1992). Pyrrolnitrin, Captan + Benomyl, and High CO₂ Enhance Raspberry Shelf Life at 0 or 18C. *117(2)*, 265–270. Retrieved from <http://journal.ashspublications.org/content/117/2/265.full.pdf>
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., ...

- Prior, R. L. (2004). Concentrations of Proanthocyanidins in Common Foods and Estimations of Normal Consumption 1,2. *J. Nutr*, 134, 613–617. Retrieved from <http://jn.nutrition.org/content/134/3/613.full.pdf>
- 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)
- Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., & Törrönen, A. R. (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2274–2279. <https://doi.org/10.1021/jf9811065>
- Harborne, J. B., & Baxter, H. (eds. . (Department of B. P. S. L. U. of R. W. R. R. 6AS (United K. (1999). *The handbook of natural flavonoids / 2*. Wiley. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB1999011368>
- Harshman, J. M., Jurick, W. M., Lewers, K. S., Wang, S. Y., & Walsh, C. S. (2014). Resistance to *Botrytis cinerea* and quality characteristics during storage of raspberry genotypes. *HortScience*, 49(3), 311–319.
- Herms, D. A., & Mattson, W. J. (1992). The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67(3), 283–335. <https://doi.org/10.1086/417659>
- Herremans, E., Verboven, P., Bongaers, E., Estrade, P., Verlinden, B. E., Wevers, M., ... Nicolai, B. M. (2013). Characterisation of 'Braeburn' browning disorder by means of X-ray micro-CT. *Postharvest Biology and Technology*, 75, 114–124. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2012.08.008>
- Hough, G. (2010). *Sensory shelf life estimation of food products*. Boca Raton, FL: CRC PRESS Taylor & Francis Group. <https://doi.org/TX546.H68> 2010
- Hummer, K. E., & Janick, J. (2007). *Rubus* iconography: Antiquity to the renaissance. *Acta Horticulturae*, 759, 89–106.
- Hwang, Y. S., Min, J. H., Kim, D. Y., Kim, J. G., & Huber, D. J. (2012). Potential mechanisms associated with strawberry fruit firmness increases mediated by elevated pCO₂. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 53(1), 41–48. <https://doi.org/10.1007/s13580-012-0097-0>
- Jackman, R. L., & Smith, J. L. (1996). Anthocyanins and betalains. In G. A. F. Hendry & J. D. Houghton (Eds.), *Natural Food Colorants* (2a ed., p. 244–279.). Glasgow, Escocia: Blackie Academic Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2155-6_8
- Jennings, D. L., Daubeny, H. A., & Moore, J. N. (1991). BLACKBERRIES AND RASPBERRIES (*RUBUS*). *Acta Horticulturae*, (290), 331–392.

<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1991.290.8>

- Jie Sun, †, Yi-Fang Chu, †, Xianzhong Wu, † and, & Rui Hai Liu*, †,‡. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. <https://doi.org/10.1021/JF0207530>
- Jin, P., Wang, S. Y., Gao, H., Chen, H., Zheng, Y., & Wang, C. Y. (2012). Effect of cultural system and essential oil treatment on antioxidant capacity in raspberries. *Food Chemistry*, 132(1), 399–405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.011>
- Joles, D. W., Cameron, A. C., Shirazi, A., Petracek, P. D., & Beaudry, R. M. (1994). Modified-atmosphere Packaging of “Heritage” Red Raspberry Fruit: Respiratory Response to Reduced Oxygen, Enhanced Carbon Dioxide, and Temperature. *J. AMER. SOC. HORT. SCI*, 119(1193). Retrieved from <http://journal.ashspublications.org/content/119/3/540.full.pdf>
- Kader, A. (2000). Effects of superatonic oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables physiology and quality of fresh fruits and vegetables, 20(April 2016), 1–13. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00122-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00122-8)
- Kader, A. A., & Pelayo-Zaldivar, C. (2007). *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas* (Tercera).
- Kassim, A., Poette, J., Paterson, A., Zait, D., Mccallum, S., Woodhead, M., ... Graham, J. (2009). Environmental and seasonal influences on red raspberry anthocyanin antioxidant contents and identification of quantitative traits loci (QTL). *Mol. Nutr. Food Res*, 53, 0–0. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800174>
- Kays, S. J. (1991). *Postharvest physiology and handling of perishable plant products. Postharvest physiology and handling of perishable plant products*. New York: Van Nostrand Reinhold Inc. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19920316090?freeview=true>
- Kim, M. ., & Harris, G. . (2003). Raspberries and Related Fruits. *Encyclopedia of Food and Health*, 4916–4921. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00586-9>
- Kim, M. J., Perkins-Veazie, P., Ma, G., & Fernandez, G. (2015). Shelf life and changes in phenolic compounds of organically grown blackberries during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 257–263. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.020>
- Koponen, J. M., Happonen, A. M., Mattila, P. H., & Törrönen, A. R. (2007a). Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1612–1619. <https://doi.org/10.1021/jf062897a>
- Koponen, J. M., Happonen, A. M., Mattila, P. H., & Törrönen, A. R. (2007b).

Contents of Anthocyanins and Ellagitannins in Selected Foods Consumed in Finland. *Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1612–1619.
<https://doi.org/10.1021/JF062897A>

- Krüger, E., Dietrich, H., Schöppllein, E., Rasim, S., & Kürbel, P. (2011). Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 31–37.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.12.001>
- Kula, M., Majdan, M., Glód, D., & Krauze-Baranowska, M. (2016). Phenolic composition of fruits from different cultivars of red and black raspberries grown in Poland. *Journal of Food Composition and Analysis*, 52, 74–82.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.08.003>
- Lattanzio, V., Cardinali, A., Ruta, C., Fortunato, I. M., Lattanzio, V. M. T., Linsalata, V., & Cicco, N. (2009). Relationship of secondary metabolism to growth in oregano (*Origanum vulgare* L.) shoot cultures under nutritional stress. *Environmental and Experimental Botany*, 65(1), 54–62.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2008.09.002>
- Li, Y., Chen, X., Huang, W., & Yang, J. (2018). Below the room temperature measurements of CO₂ solubilities in six physical absorbents. *Journal of Chemical Thermodynamics*, 122, 133–141.
<https://doi.org/10.1016/j.jct.2018.03.009>
- Logemann, E., Tavernaro, A., Schulz, W., Somssich, I. E., & Hahlbrock, K. (2000). UV light selectively coinduces supply pathways from primary metabolism and flavonoid secondary product formation in parsley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(4), 1903–7.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.97.4.1903>
- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., & Crozier, A. (2003). Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 496–502.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.1365>
- Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., & Törrönen, A. R. (2004). Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6178–6187. <https://doi.org/10.1021/jf049450r>
- Mattila, P., Hellström, J., & Törrönen, R. (2006). Phenolic Acids in Berries, Fruits, and Beverages. *Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7193–7199.
<https://doi.org/10.1021/JF0615247>
- Mazur, S. P., Nes, A., Wold, A. B., Remberg, S. F., & Aaby, K. (2014). Quality and chemical composition of ten red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes during three harvest seasons. *Food Chemistry*, 160, 233–240.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.174>

- Memarpoor-Yazdi, M., Asoodeh, A., & Chamani, J. (2012). A novel antioxidant and antimicrobial peptide from hen egg white lysozyme hydrolysates. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 278–286. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.12.004>
- Mohebbi, V., Naderifar, A., Behbahani, R. M., & Moshfeghian, M. (2012). Determination of Henry's law constant of light hydrocarbon gases at low temperatures. *Journal of Chemical Thermodynamics*, 51, 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2012.02.014>
- Mol, J., Grotewold, E., & Koes, R. (1998). How genes paint flowers and seeds. *Trends in Plant Science*, 3(6), 212–217. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01242-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01242-4)
- Mullen, W., Stewart, A. J., Lean, M. E. J., Gardner, P., Duthie, G. G., & Crozier, A. (2002). Effect of Freezing and Storage on the Phenolics, Ellagitannins, Flavonoids, and Antioxidant Capacity of Red Raspberries. *Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5197–5201. <https://doi.org/10.1021/jf020141f>
- Mullen, W., Yokota, T., Lean, M. E. J., & Crozier, A. (2003). Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC-MSn. *Phytochemistry*, 64(2), 617–624. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00281-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00281-4)
- Naurato Nicholas, †, Peggy Wong, †, Ying Lu, ‡, Karol Wroblewski, ‡ and, & Anders Bennick*, †. (1999). Interaction of Tannin with Human Salivary Histatins. <https://doi.org/10.1021/JF981044I>
- Nile, S. H., & Park, S. W. (2013). Edible berries: Review on bioactive components and their effect on human health. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 30, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007>
- Peiffer, D. S., Wang, L.-S., Zimmerman, N. P., Ransom, B. W. S., Carmella, S. G., Kuo, C.-T., ... Stoner, G. D. (2016). Dietary Consumption of Black Raspberries or Their Anthocyanin Constituents Alters Innate Immune Cell Trafficking in Esophageal Cancer. *Cancer Immunology Research*, 4(1), 72–82. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-15-0091>
- Petracek, P. D., Joles, D. W., Shirazi, A., & Cameron, A. C. (2002). Modified atmosphere packaging of sweet cherry (*Prunus avium* L., ev. 'Sams') fruit: Metabolic responses to oxygen, carbon dioxide, and temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 259–270. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00192-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00192-2)
- Pierron-Darbonne, A. (2012, May 31). Raspberry plant named “Adelita.” In *Plantas de Navarra SA*. Retrieved from <https://patents.google.com/patent/US20120311748P1/en>
- Pourcel, L., Routaboul, J.-M., Cheynier, V., Lepiniec, L., & Debeaujon, I. (2007). Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological

- functions. *Trends in Plant Science*, 12(1), 29–36.
<https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2006.11.006>
- Rao, A. V., & Snyder, D. M. (2010). Raspberries and human health: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3871–3883.
<https://doi.org/10.1021/jf903484g>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237. Retrieved from
http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/50321545/Re_R._et_al._Antioxidant_activity_applyi20161115-18929-iek29e.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1492055398&Signature=EEAku1wKwxW6HSfiB%2BoAgeK32Us%3D&response-content-disposition=inline
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), 401–436. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00093-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00093-X)
- Robbins, J., Sjulín, T., & Rasmussen, H. (1988). Scanning electron microscopy analysis of drupelet morphology of red raspberry and related *Rubus* genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8837873>
- Rocha, L. D., Monteiro, M. C., & Teodoro, A. J. (2012). Anticancer Properties of Hydroxycinnamic Acids -A Review. *Cancer and Clinical Oncology*, 1(2), 109. <https://doi.org/10.5539/cco.v1n2p109>
- Salinas-Moreno, Y., Almaguer-Vargas, G., Peña-Varela, G., & Ríos-Sánchez, ; R. (2009). ÁCIDO ELÁGICO Y PERFIL DE ANTOCIANINAS EN FRUTOS DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus* L.) CON DIFERENTE GRADO DE MADURACIÓN. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(1), 97–101.
- Samman, S., Sandström, B., Toft, M. B., Bukhave, K., Jensen, M., Sørensen, S. S., & Hansen, M. (2001). Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(3), 607–12. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11237939>
- Sangiovanni, E., Vrhovsek, U., Rossoni, G., Colombo, E., Brunelli, C., Brembati, L., ... Dell'Agli, M. (2013). Ellagitannins from *Rubus* Berries for the Control of Gastric Inflammation: In Vitro and In Vivo Studies. *PLoS ONE*, 8(8), e71762. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071762>
- Sari, P., Wijaya, C. H., Sajuthi, D., & Supratman, U. (2012). Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented

- anthocyanins. *Food Chemistry*, 132(4), 1908–1914.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.025>
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy : A critical evaluation of ABTS , DPPH , and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14, 111–125.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.043>
- Segura, S., Rebollar-Alviter, A., Boyzo-Marín, J., Hernández-Bello, M., & López-Medina, J. (2012). Genetic Resources of Blackberry Wild Species in Michoacan, Mexico. *Acta Horticulturae*, (946), 107–111.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.946.14>
- SIAP. (2015). SIAP. Retrieved March 16, 2017, from http://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2016/Atlas-Agroalimentario-2016
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2016). *Atlas Agroalimentario 2016*. (SIAP, Ed.) (Priemra Ed). México, D.F.: © Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Siddiqui, M. W. (2016). *Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality*. *Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality*.
<https://doi.org/10.1016/C2015-0-01842-1>
- Singh, R., Rastogi, S., & Dwivedi, U. N. (2010). Phenylpropanoid metabolism in ripening fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4), 398–416. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00116.x>
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 24673–24706.
<https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Stavang, J. A., Freitag, S., Foito, A., Verrall, S., Heide, O. M., Stewart, D., & Sønsteby, A. (2015). Raspberry fruit quality changes during ripening and storage as assessed by colour, sensory evaluation and chemical analyses. *Scientia Horticulturae*, 195, 216–225.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.045>
- Stewart, D., Iannetta, P. P. M., & Davies, H. V. (2001). Ripening-related changes in raspberry cell wall composition and structure. *Phytochemistry*, 56(5), 423–428.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00410-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00410-6)
- Strik, B. C., R. Howard, L., Hager, T. J., & Talcott, S. T. (2007). Berry Fruit, Value-Added Products for Health Promotion. In Y. Zhao (Ed.), *Berry Fruit, Value-Added Products for Health Promotion* (1a ed., pp. 17–73). Boca Raton, FL: CRC PRESS Taylor & Francis Group.
- Subramani Sellappan, †, Casimir C. Akoh, *, † and, & Krewer‡, G. (2002). Phenolic

Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. <https://doi.org/10.1021/JF011097R>

Suzuki, H., Xia, Y., Cameron, R., Shadle, G., Blount, J., Lamb, C., & Dixon, R. A. (2003). Signals for local and systemic responses of plants to pathogen attack. *Journal of Experimental Botany*, 55(395), 169–179. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh025>

Tan, C., Celli, G. B., & Abbaspourrad, A. (2018). Copigment-polyelectrolyte complexes (PECs) composite systems for anthocyanin stabilization. *Food Hydrocolloids*, 81, 371–379. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.011>

Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008). Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant Journal*, 54(4), 733–749. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x>

Teixeira, L. D. L., Bertoldi, F. C., Lajolo, F. M., & Hassimotto, N. M. A. (2015). Identification of Ellagitannins and Flavonoids from *Eugenia brasilienses* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(22), 5417–5427. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01195>

Thanyaporn Siriwoharn, †, Ronald E. Wrolstad, *,†, Chad E. Finn, ‡ and, & Pereira§, C. B. (2004). Influence of Cultivar, Maturity, and Sampling on Blackberry (*Rubus* L. Hybrids) Anthocyanins, Polyphenolics, and Antioxidant Properties. <https://doi.org/10.1021/JF048619Y>

Toivonen, P. M. A., Kempler, C., Escobar, S., & Emond, J. (1999). RESPONSE OF THREE RASPBERRY CULTIVARS TO DIFFERENT MODIFIED ATMOSPHERE CONDITIONS. *Acta Horticulturae*, (505), 33–38. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.505.2>

Usall, J., Ippolito, A., Sisquella, M., & Neri, F. (2016). Postharvest Biology and Technology Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.002>

Veazie, P. P., & Collins, J. K. (2002). Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage, 25, 235–239.

Verslues, P. E., & Sharma, S. (2010). Proline Metabolism and Its Implications for Plant-Environment Interaction. *The Arabidopsis Book*, 8, e0140. <https://doi.org/10.1199/tab.0140>

Vrhovsek, U., Palchetti, A., Reniero, F., Guillou, C., Masuero, D., & Mattivi, F. (2006). Concentration and mean degree of polymerization of *Rubus* ellagitannins evaluated by optimized acid methanolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4469–4475. <https://doi.org/10.1021/jf060404w>

Yahia, E. M. (2009). *Modified and controlled atmospheres for the storage, transportation, and packaging of horticultural commodities*. CRC Press/Taylor

& Francis.

Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.033>