

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA (DECAB)

**“CARACTERIZACIÓN DE CUATRO GENOTIPOS DE
TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) CULTIVADOS
EN ECUADOR Y ESTUDIO DEL EFECTO DEL ESTRÉS
HÍDRICO Y LUMINOSO SOBRE LAS PROPIEDADES
FÍSICO-QUÍMICAS EN LA POSTCOSECHA Y ESTIMACIÓN
DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS
FENÓLICOS DEL GENOTIPO ANARANJADO GIGANTE”**

**TESIS DE POSTGRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DE LA
MAESTRÍA (MASTER OF SCIENCE – M.Sc.) EN CIENCIA DE
ALIMENTOS**

JENNY MARCELA ÁVILA VÉLEZ
Ingeniera Agropecuaria

QUITO - ECUADOR

2009

**ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

**“CARACTERIZACIÓN DE CUATRO GENOTIPOS DE TOMATE DE
ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) CULTIVADOS EN ECUADOR Y
ESTUDIO DEL EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y LUMINOSO
SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS EN LA
POSTCOSECHA Y ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DEL
GENOTIPO ANARANJADO GIGANTE”**

**TESIS DE POSTGRADO PREVIA LA OBTENCIÓN DE LA MAESTRÍA
(MASTER OF SCIENCE – M.Sc.) EN CIENCIA DE ALIMENTOS**

**por
JENNY MARCELA ÁVILA VÉLEZ
Ingeniera Agropecuaria**

QUITO - ECUADOR

2009

© Escuela Politécnica Nacional 2009
Reservados todos los derechos de reproducción

Revisado por:

Jenny Ruales N., Ph. D.

DECLARATORIA

Yo, Jenny Marcela Ávila Vélez, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y la Formativa Institucional vigente.

Jenny Marcela Ávila Vélez

Este estudio fue realizado en el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología de la Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito – Ecuador y financiado por el Proyecto de la Comunidad Europea FP6-2003-INCO-DEV-2 “Producing added value from under-utilized tropical fruit crops with high commercial potential” (PAVUC).

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Jenny Ruales, mi Supervisora y profesora, quien me abrió las puertas del DECAB, permitiéndome avanzar en mis estudios y me brindó toda su confianza para desarrollar este proyecto.

Al Ing. Norman Soria, un gran profesor, por su tiempo, ayuda y sus conocimientos compartidos para la realización de este trabajo y toda la información que me proporcionó para mi carrera.

Al Ing. Pablo Pólit, mil gracias por sus oportunos consejos, comentarios y sugerencias.

Al Proyecto PAVUC, por el apoyo económico otorgado para realizar este trabajo.

A todo el personal del Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología por la colaboración prestada en los laboratorios y planta piloto. A Juan y a Ceci mil gracias por sus palabras y apoyo. A Don Héctor Ortíz, por su ayuda durante las largas horas de trabajo en planta piloto.

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias – INIAP, Granja Tumbaco, en la persona del Ing. Juan León, por darnos las facilidades necesarias para el desarrollo de ésta investigación en el campo y por toda su ayuda durante el desarrollo de éste proyecto.

De todo corazón, quiero agradecer a mi amiga Caty, por su ayuda incondicional, por sus consejos y su amistad. A mis amigos Lucy, Mayra, Roberto, Jaqui.

A mis padres, quienes me apoyaron y estuvieron ahí impulsándome, siempre creyendo en mí. A mis hermanos (Juan y Lenin) que siempre están en el momento que los necesito, gracias por su ayuda, su compañía y todo lo que hacen por mí.

A mi abuelita, Teresita, por su complicidad en todos los momentos de mi vida. Lu, Pame, Vero y Clau muchas gracias.

A mi familia por su preocupación, apoyo y oraciones.

A mi esposo, Jorge el amor de mi vida, por ser mi amigo por pasar largas horas en el laboratorio conmigo ayudándome en este trabajo, y uno muy especial a mi hijo, quien con su existencia me dio la fortaleza para culminar ésta meta.

Y a todas las personas que han colaborado de una u otra manera para el desarrollo de éste trabajo.

Gracias!!!

Dedicado a:

Mi pequeño amor

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
1 INTRODUCCIÓN.....	5
2 OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo General.....	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3 REVISIÓN DE LITERATURA	10
3.1 Tomate de Árbol.....	10
3.1.1 Generalidades	10
3.1.2 Descripción Botánica.....	10
3.1.3 Descripción Morfológica.....	11
3.1.4 Genotipos.....	12
3.1.5 Manejo Poscosecha	14
3.1.5.1 Generalidades	14
3.1.5.2 Calidad.....	16
3.1.5.3 Factores que influyen en la Poscosecha	17
3.1.5.4 Cambios durante la maduración	17
3.1.5.5 Índices de Cosecha	19
3.1.6 Cosecha de Tomate de Árbol.....	22
3.1.7 Operaciones Poscosecha.....	22
3.1.7.1 Selección.....	22
3.1.7.2 Lavado y Desinfección	23
3.1.7.3 Secado.....	23
3.1.7.4 Clasificación	24
3.1.7.5 Empaque	24
3.1.7.6 Almacenamiento	24
3.2 Estrés Vegetal	26
3.2.1 Estrés Hídrico	28
3.2.2 Estrés Luminoso	29
3.3 Polifenoles	30
3.3.1 Biosíntesis de los Compuestos Fenólicos.....	31

3.3.2	Regulación del metabolismo fenólico en los frutos.....	33
3.3.2.1	Luz y los Compuestos Fenólicos.....	33
3.3.2.2	Temperatura.....	34
3.3.2.3	Irradiación.....	34
3.3.2.4	Etileno.....	35
3.3.2.5	Reguladores de Crecimiento.....	35
3.3.3	Actividad Antioxidante de los Polifenoles	36
3.3.3.1	Determinación de la Actividad Antioxidante	38
4	RESUMEN DEL TRABAJO	41
5	REFERENCIAS	45
	<i>ARTÍCULO I</i>	42
	<i>ARTÍCULO II</i>	53
	<i>ARTÍCULO III</i>	ii

FIGURAS

Figura 1. Tomate de árbol genotipo Puntón Anaranjado.....	12
Figura 2. Tomate de árbol genotipo Redondo Anaranjado	13
Figura 3. Tomate de árbol genotipo Gigante Anaranjado.	13
Figura 4. Tomate de árbol genotipo Morado Gigante.	14
Figura 5. Tomate de árbol anaranjado gigante y morado gigante en estado óptimo de cosecha.....	20
Figura 6. Métodos químicos para la determinación del índice de madurez	21
Figura 7. Analizador rápido de CO ₂ /O ₂ Postharvest Research.....	21
Figura 8. Almacenamiento del tomate de árbol en cámara de refrigeración a 4 °C.	25
Figura 9. Biosíntesis de los compuestos fenólicos.	32

ABREVIATURAS

ABTS	2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
AG	Genotipo Anaranjado Gigante
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AP	Genotipo Anaranjado Puntón
AR	Genotipo Anaranjado Redondo
CC	Capacidad de Campo
CoA	Coenzima A
DPPH	2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl
DE	Desviación estándar
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FF	Fruta Fresca
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HR	Humedad Relativa
IICA	Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
INIAP	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
m.s.n.m.	Metros sobre nivel del mar
MAG	Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador
MG	Genotipo Morado Gigante
MIP	Manejo Integrado de Plagas
MMRREE	Ministerio de Relaciones Exteriores del Ecuador
n.d.	No Detectado
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PAL	Enzima Fenilalanina amonio liasa
PMP	Punto de Marchitez Permanente
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TOSC	Total Oxyradical Scavenging Capacity
TPTZ	Tripyridyltriazina
TR	Tasa de Respiración

UNIDADES

%	porcentaje
μl	microlitros
μmol	micromol
cb	centibares
cm^2	centímetros cuadrado
h	hora
ha	hectáreas
kg	kilogramos
l	litros
m	metros
m^2	metros cuadrado
min	minutos
mm	milímetros
mM	milimolar
MPa	Megapascales
N	Newton
nm	nanómetros
$^{\circ}\text{C}$	grados centígrados
Pa	Pascal
ppm	partes por millón
rpm	revoluciones por minuto

LISTA DE ARTÍCULOS

Este trabajo de tesis está basado en los siguientes artículos, descritos por los siguientes números romanos

- I. **Caracterización postcosecha de 4 genotipos de Tomate de Árbol (*Solanum betaceum* Cav.) cultivados en Ecuador.**
Ávila Jenny; Ruales, Jenny
Publicado en la Revista Alimentos Ciencia e Ingeniería. Volumen 16 (3). 2007.

- II. **Fruit physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.)**
Catalina Vasco, Jenny Avila, Jenny Ruales, Ulf Svanberg, Afaf Kamal-Eldin
Publicado el 04 de Agosto de 2009 en *International Journal of Food Sciences and Nutrition*

- III. **Estudio del efecto de la aplicación de estrés luminoso e hídrico durante la floración y fructificación del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) genotipo anaranjado gigante sobre las propiedades físico-químicas en poscosecha y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos**
Jenny Ávila, Norman Soria, Jenny Ruales
Manuscrito

Los Artículos I y II son reproducidos con permiso de los publicadores.

Reporte de la Contribución a cada artículo

- I. Jenny Ávila fue la responsable de la caracterización físico-química en la poscosecha, medición de la tasa de respiración, determinación de la materia soluble. Extracción y cuantificación de los polifenoles solubles totales y por la escritura del artículo.

- II. Jenny Ávila fue la responsable del análisis físico y nutricional de la fruta, determinación de materia soluble y rendimiento de cáscara, pulpa y semilla. Extracción y cuantificación de antocianinas. Análisis Estadístico.

- III. Jenny Ávila fue la responsable del diseño del experimento y la aplicación de los tratamientos. En poscosecha, de la caracterización físico-química, medición de la tasa de respiración y determinación de la materia soluble. Realización de pruebas sensoriales. Extracción y determinación de polifenoles solubles totales, determinación de capacidad antioxidante. Extracción y determinación de ácidos fenólicos. Análisis estadístico y escritura del artículo.

RESUMEN

Esta investigación sobre el tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), se dividió en tres partes; en la primera, el objetivo fue el de realizar una caracterización físico-química en la poscosecha de 4 genotipos comerciales de ésta fruta en el Ecuador: puntón anaranjado, redondo anaranjado, anaranjado gigante y morado gigante. En la segunda parte se realizó una comparación entre los genotipos anaranjado gigante y morado gigante ecuatorianos con los mismos frutales españoles, en función de sus características físico-químicas, contenido de vitamina C, β -caroteno, minerales y antocianinas; se determinó compuestos fenólicos totales, eficiencia antirradical y ácidos hidroxicinámicos, quercetin y myricetin en pulpa, cáscara y placenta de éstos dos genotipos. Para la tercera parte, se seleccionó el anaranjado gigante, por ser el de mayor demanda en el mercado, para realizar pruebas de estrés luminoso e hídrico y determinar cual es el efecto del estrés sobre las características físico-químicas y los componentes fenólicos con capacidad antioxidante.

En la caracterización de los 4 genotipos de tomate de árbol, se observó que el genotipo morado gigante presentó mayores valores para las características físicas de peso, diámetro, longitud, volumen y rendimiento de pulpa; también presentó la mayor acidez titulable y concentración de sólidos solubles totales. El genotipo puntón anaranjado presentó mayor concentración de materia soluble en la cáscara. Se observaron mayor concentración de polifenoles solubles totales en la cáscara del genotipo puntón anaranjado, 433.78 ± 0.25 mg EAG/100 g FF; y en la pulpa del morado gigante, 139.08 ± 4.1 mg EAG/100 g FF.

En la comparación realizada entre los genotipos anaranjado gigante y morado gigante, se observó en general que los frutos ecuatorianos tienen mayor tamaño que los españoles. Esta fruta es rica en minerales, sobretodo en potasio tiene alrededor de 400 mg/100 g FF. La actividad antioxidante del amarillo gigante demostró ser débil comparada con el tomate morado del Ecuador. En ambos frutos se observaron mayor eficiencia antirradical en la cáscara que en la pulpa y placenta. Dentro de los compuestos fenólicos analizados, en la cáscara solo se detectó quercetin y myricetin, mientras que en la pulpa se encontró derivados de ácidos hidroxicinámicos.

Luego de someter a estrés de luz y agua, plantas de tomate de árbol de dos años, durante la floración y fructificación, se observó que los tratamientos causaron disminución de peso y tamaño de los frutos, siendo el de agua el que mayor afección provocó a estas propiedades físicas. Los atributos sensoriales y la tasa de respiración no se vieron afectados por los factores de estrés, el comportamiento de tomate de árbol de acuerdo a la tasa de respiración fue de un fruto no climatérico. Las condiciones de estrés por deficiencia de agua incrementaron el contenido de polifenoles solubles totales desde 67.40 mg EAG/100 g FF a 71.27 mg EAG/100 g FF y la capacidad antioxidante desde 4.78 μ mol trolox/g FF a 4.94 μ mol trolox/g FF. Los tratamientos de sombra causaron un efecto negativo sobre el contenido polifenólico y la capacidad antioxidante, ya que a medida que aumentó el porcentaje de sombra en las plantas se redujo la concentración de éstos compuestos. De los ácidos fenólicos analizados, solo se detectó ácido gálico, el cual también incrementó con el tratamiento drástico de estrés de agua.

ABSTRACT

This investigation about tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), was divided in three parts; the first one has the purpose to determine the physical and chemical postharvest characterization of 4 commercial Ecuadorian genotypes of tree tomato: pointed orange, round yellow, golden yellow and purple red. A comparison between golden yellow and purple red Ecuadorian genotypes with same Spanish genotypes, for physical and chemical characteristics, content of vitamin C, β -carotene, minerals and anthocyanins, was done in the second part of the work; also content of total phenolic compounds and antiradical efficiency was determined. Hydroxycinnamic acids, quercetin and myricetin were quantified at peel, pulp and seed-jelly of the two Ecuadorian genotypes. For the third part, golden yellow tomato was exposed to light and water stress in order to determine the effect on physical and chemical postharvest properties and phenolic content with antioxidant capacity.

During the characterization of 4 Ecuadorian genotypes of tree tomato, purple red genotype presented highest values for physical characteristics as weight, diameter, longitude, volume and pulp yield; it also presented the highest titratable acidity and concentration of total soluble solids. Pointed orange genotype had the highest moisture pulp content. The highest concentration of total phenolic compounds was observed on pointed orange peel, 433.78 mg GAE/100 g fresh weight (FW), and in the pulp of purple red, 139.08 mg GAE/100 g FW.

The comparison carried out on the second part showed in general that Ecuadorian fruits had highest size than the Spanish ones. This fruit is rich in minerals, especially potassium with 400 mg/100 g FW. The antiradical activity of golden yellow is weak compared with purple red. Highest antiradical efficiency was observed in the peel of both genotypes than in the pulp and seed-jelly. Quercetin and myricetin were found only in the peel of the two genotypes while hydroxycinnamic acid derivatives were found in the pulp.

After exposed to light and water stress tree tomato plants of two years old during the flowering and fructification periods, there was observed that treatments caused fruits with lowest weight and size compared to the control (fruits without stress). Water stress treatment showed more affection to physical properties of this fruit. Sensorial attributes and respiration rate were not affected by the stress factors; tree tomato fruits had a non climacteric behavior. Stress conditions caused by limited supply water, increased total phenolic compounds content from 67.40 .g GAE/100 g FW to 71.27 mg GAE/100 g FW and the antioxidant activity from 4.78 μmol trolox/g FW to 4.94 μmol trolox/g FW. Shade in these plants caused a negative effect on the total phenolic content and antioxidant activity, since shade percentage increases these compounds concentration decreases. Of all phenolic acids analyzed, just gallic acid was detected; it also increases with the drastic water stress treatment.

1 INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol o tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.), es originario de los bosques andinos templados de la vertiente oriental de los Andes, específicamente de Perú, Ecuador y Colombia. Esta fruta se cultiva en las zonas de climas templados y frescos de la sierra ecuatoriana, en altitudes comprendidas entre 600 hasta 3300 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura óptima de 14 a 20 °C, una humedad de 70 a 80% (Albornoz, 1992; Soria, 2000a; León *et al.*, 2004), se desarrolla bien con radiaciones solares entre 1500 a 1800 horas/luz/año y una precipitación de 1000 mm distribuidos durante todo el año (Prada y Basto, 2004). El cultivo de ésta fruta es antiguo en el Ecuador, es tradicional de las provincias de Imbabura, Pichincha y Tungurahua, a pesar de que se cultiva prácticamente en todo el callejón interandino y estribaciones de la cordillera ecuatoriana (Albornoz, 1992).

En Ecuador, dada la demanda del mercado interno, el cultivo del tomate de árbol creció desde hace quince años (Soria, 2000a); en la década de los años 80 se empieza a producir éste fruto con propósitos de exportación. Las expectativas en el mercado internacional han abierto algunas posibilidades de crecimiento, desarrollo y exportación de éste y otros frutos andinos debido a su alta rentabilidad, que, en pequeñas áreas (0.5 a 1 ha) ha dado oportunidad de sustento a muchas familias ecuatorianas (CORPEI, 2006).

Según Cadena (2000), el Ecuador al ser uno de los países de origen, tiene las condiciones agroecológicas que favorecen la producción de tomate de árbol, pues tiene temperaturas estables a lo largo del año, prolongados períodos de luminosidad, además de que el fruto no es estacionario, sino que es de cosecha continua, lo que permite que la fruta tenga un mejor desarrollo.

La demanda del tomate de árbol, se ha enfocado en el mercado externo, especialmente en Europa y los Estados Unidos de América; para el período enero a septiembre 2004, se exportaron 14.1 toneladas de ésta fruta, fundamentalmente a España, Holanda y el Reino Unido (MAG e IICA, 2000; MMRREE, 2005), siendo éste volumen aún no suficiente con relación a la demanda, teniendo en cuenta además que la cantidad mínima de exportación por mes es de 20 toneladas para ser rentable (Lascano, 2001).

El principal problema para la exportación que presenta la fruta ecuatoriana es la deficiente calidad, por los sistemas artesanales de producción y la poca disponibilidad de plantas certificadas, que impiden una producción de frutos grandes, de color y tamaño uniforme que tengan calidad de exportación (Cadena, 2000; INIAP, 2004b).

Éstos factores también limitan los controles fitosanitarios, así por ejemplo, los nemátodos se han convertido en la principal plaga que enfrenta el agricultor, debido a las altas poblaciones presentes en el suelo a nivel radical, lo que ocasiona disminuciones en cuanto a la calidad, cantidad de cosecha y vida útil de la planta (Albornoz, 1992; MAG e IICA, 2000).

Para controlar y reducir la presencia de ésta y otras plagas en el cultivo de tomate de árbol en nuestro país, se han realizado proyectos en diferentes áreas de la sierra ecuatoriana, desarrollando un sistema de Manejo Integrado de Plagas (MIP) en el que se han evaluado plantas portainjertos resistentes, diferentes dosis y productos químicos, control biológico y prácticas culturales a fin de mantener las plantaciones con la menor incidencia de plagas de consideración (INIAP, 2004a)

El tomate de árbol es una fruta muy versátil en cuanto a variedad de preparaciones; además, su utilización es fácil porque sus semillas son comestibles. La cáscara se quita fácilmente con agua en ebullición. Es una fruta de consumo tradicional en la sierra ecuatoriana, preparada especialmente en jugo y en conserva con almíbar. Adicionalmente, es un excelente complemento para ensaladas de frutas, y es deliciosa preparada en helados, jaleas, mermeladas y una variedad de dulces (INIAP, 2004b).

Los campesinos de Colombia y Ecuador atribuyen al tomate de árbol propiedades medicinales para aliviar enfermedades respiratorias y combatir la anemia. El fruto u hojas previamente calentadas se aplican en forma tópica para contrarrestar la inflamación de amígdalas, se consume el fruto fresco en ayunas para combatir la gripe y también se le atribuye como remedio para problemas hepáticos, contribuye a reducir las tasas de colesterol en la sangre y controla la glicemia en las personas que tienen diabetes (Bermejo y León, 1992; León *et al.*, 2004).

Es una fruta que resalta por sus cualidades nutricionales, como bajo contenido calórico (menos de 40 calorías) y de carbohidratos, alto contenido de fibra (Rizzo, 2005). Es fuente de minerales, especialmente calcio, hierro y fósforo; contiene niveles importantes de caroteno y pectina, siendo ésta última parte de la fibra que ayuda a prevenir el estreñimiento (Eroski, 2005). Contiene vitaminas, como la B6 o piridoxina, necesaria para el buen funcionamiento del sistema nervioso y la vitamina K importante para la coagulación de la sangre; se destaca el contenido de vitamina C que favorece la absorción del hierro, y provitamina A que se transforma en vitamina A en el organismo conforme éste lo necesita; las vitaminas A y C ayudan a fortalecer el sistema inmunológico y la visión, actuando como antioxidantes (Eroski, 2005).

Los antioxidantes son sustancias que en el organismo contribuyen a reducir el riesgo de múltiples enfermedades, como las cardiovasculares, cerebrovasculares, ciertos tipos de cáncer y otras enfermedades degenerativas, además de reforzar las defensas del organismo y retrasar el proceso de envejecimiento celular, ya que bloquean la actividad de los radicales libres (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998).

A más de todos los beneficios que brindan a la salud humana, los antioxidantes ayudan a proteger la calidad de los alimentos del deterioro causado por el proceso de oxidación, que altera su sabor, color y textura (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998).

Todas éstas características nutricionales y medicinales, dan al tomate de árbol un valor agregado de indiscutible proyección a futuro, que hacen necesario buscar prologar su vida poscosecha, obtener frutos que satisfagan las demandas un mercado potencial cada vez mas exigente en productos naturales de calidad.

Se han hecho ya algunos estudios acerca del comportamiento de éstas sustancias en función a ciertos tipos de estrés a los que se les somete a las plantas, los cuales han dado buenos resultados; así por ejemplo, en un trabajo realizado por la Fundación Wong en la provincia de Los Ríos, se usó el estrés abiótico (factores ambientales) en condiciones de invernadero, logrando acrecentar los principio activos contenidos en plantas medicinales (Wong, 2005). Resultados de Abreu y Mazzafera (2005) han demostrado que es posible incrementar el contenido de compuestos

farmacológicamente deseables por la manipulación de técnicas agrícolas como la irrigación.

Teniendo en cuenta que los factores ambientales influyen significativamente en la producción y calidad de los productos hortofrutícolas, se ha decidido evaluar para el desarrollo de éste proyecto dos tipos de estrés abióticos: cantidad de riego y cantidad de luz, a fin de observar que influencia tienen sobre el tomate de árbol y la actividad antioxidante del mismo. Pudiendo lograrse además, mejorar la eficiencia del uso del agua, a fin de reducir y optimizar costos, y obtener productos de óptima calidad tanto nutricional como en presentación.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

El objetivo de la investigación es la de caracterizar cuatro genotipos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) y estudiar el efecto del estrés en el genotipo anaranjado gigante, sobre las características organolépticas y la concentración de antioxidantes.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las características físico-químicas durante la poscosecha de los genotipos de tomate de árbol producidos en Ecuador.
- Estimar la actividad antioxidante en el tomate de árbol usando el método de DPPH (2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl).
- Determinar los polifenoles solubles totales del tomate de árbol por el método de Folin- Ciocalteau.
- Evaluar el efecto del estrés en la calidad poscosecha y contenido de sustancias antioxidantes.

3 REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Tomate de Árbol

3.1.1 Generalidades

El tomate de árbol llamado originalmente *Solanum betaceum* por Cavanilles in 1799, fue cambiado de género por Sendtner en 1845 a *Cyphomandra*, nombre que mantuvo hasta 1995 cuando Bohs lo regresó a *Solanum* (Heiser y Anderson, 1999).

Es un producto popular en los Andes de donde es originario. De acuerdo a Albornoz (1992) el tomate de árbol es autóctono ecuatoriano, puesto que hay variedades propias, seleccionadas y domesticadas, y existen especies silvestres recolectadas en provincias de la Sierra, Costa y Oriente. Además de ser cultivado en la zona andina también lo es en Nueva Zelanda (Boyes y Strübi, 1997) donde se lo conoce como tamarillo, desde donde se ha venido exportando a la región norte por cerca de dos décadas.

3.1.2 Descripción Botánica

El tomate de árbol se clasifica de la siguiente manera, de acuerdo a Bernal y Díaz (2003):

Reino:	Vegetal
Subreino:	Espermatofita
División:	Angiosperma
Subdivisión:	Dicotiledónea
Clase:	Simpétala
Subclase:	Pentacíclica
Orden:	Tubiflorales
Familia:	<i>Solanaceae</i>
Género:	<i>Solanum</i>
Sección:	<i>Cyphomandra</i>
Especie:	<i>Solanum betaceum</i> Cav.
Nombre Común:	Tomate de árbol

3.1.3 Descripción Morfológica

Morfológicamente el tomate de árbol es una planta arbustiva que puede alcanzar entre 2.5 a 3.0 m de altura. Su tallo crece verticalmente, es cilíndrico y se ramifica en tres ramas a la altura de 1.0 a 1.5 m. (León *et al.*, 2004). Sus hojas son grandes, alternas, sencillas, enteras, ovadas, de punta corta, pubescentes de color verde oscuro brillante, con nervaduras central y lateral prominentes (Feicán *et al.*, 1999). El tomate como otras especies de Solanáceas, se caracteriza por producir inflorescencias en forma de cima escorpioide, es decir que el eje principal no crece indefinidamente, sino que muere o termina con una flor. Siendo las flores exteriores de la inflorescencia las más jóvenes. Las flores son perfectas, pues sus estructuras son bien diferenciadas, hermafrodita de polinización cruzada (Bernal y Díaz, 2003). El cáliz se forma de una base similar a una campana, de cinco sépalos agudos, la corola de cinco pétalos largos de color rosado unidos por la base (Feicán *et al.*, 1999).

El fruto es una baya carnosa, ovalada, puntiaguda en unos casos y redondo en otros; se encuentran suspendidos por el pedúnculo largo. La cáscara delgada, tersa y de color amarillo, anaranjado, rojo amarillento o rojo opaco, de acuerdo al genotipo; la pulpa es jugosa, ácida y de color amarillo o roja, con gran cantidad de semillas (Feicán *et al.*, 1999). Las semillas son pequeñas, circulares o reniformes, planas, lisas de color amarillo a pardo oscuro (Bernal y Díaz, 2003), se hallan inmersas en un mucílago gelatinoso llamado placenta y su número varía entre 200 a 300 unidades (León *et al.*, 2004).

El cultivo de tomate se lo hace en altitudes que van desde los 600 hasta los 3300 m.s.n.m., bajo un rango de temperatura que oscila entre los 14 a 20 °C y precipitaciones de 1500 a 2000 mm por año (Soria, 2000a), con humedad relativa de entre 60 a 80% (León *et al.*, 2004). Es un cultivo que no tolera los vientos fuertes y frecuentes, que provocan la caída de flores, destrozan hojas y rompen ramas fácilmente por el peso de los frutos además de que su fragilidad se debe a su tejido semileñoso (Albornoz, 1992). Se cultiva generalmente en suelos que van desde franco arenoso a franco arcilloso (León *et al.*, 2004), con buen drenaje y alto contenido de materia orgánica, los suelos pesados lo perjudican (Albornoz, 1992).

3.1.4 Genotipos

De acuerdo a Soria (2006), en Ecuador, no se debería hablar de variedades, ecotipos o cultivares, sin embargo, con el propósito de tener una definición comercial se puede decir, que existen *genotipos*; ya que en Ecuador los genotipos de tomate de árbol no se conservan puros, debido al cruzamiento natural entre los materiales que cultivan en los huertos de los agricultores y posterior selección comercial (FAO, 2003).

Generalmente, los huertos están constituidos de por lo menos dos genotipos, predominando los anaranjados y en menor cantidad los morados, denominadas comúnmente “mora”. El genotipo más difundido es la tradicional anaranjado por su valor comercial, habiéndose introducido últimamente el tomate “morado”, de color morado y pulpa más rojiza, pero de palatabilidad inferior (MAG e IICA, 2000). Los genotipos cultivados en el Ecuador son (León *et al.*, 2004):

Puntón Anaranjado: El color de la piel, la pulpa y mucílago que envuelven a las semillas son de color anaranjado, presenta alrededor de 196 semillas. Éstos frutos a la madurez completa tienen 14.8 °Brix y 260 ml L⁻¹ de vitamina C.



Figura 1. Tomate de árbol genotipo Puntón Anaranjado.

Redondo Anaranjado: Su piel, pulpa y mucílago son de color anaranjado. Presenta unas 243 semillas. A la madurez presenta 14.42 °Brix y 270 ml L⁻¹ de vitamina C. Este genotipo es poco cultivado y comercializado, tal vez, por diferir en la forma del fruto y tener menor calibre, pero tiene alta capacidad productiva, precocidad y menor tamaño de la planta.



Figura 2. Tomate de árbol genotipo Redondo Anaranjado

Anaranjado Gigante: Tanto su piel, pulpa y mucílago son anaranjados. Tiene alrededor de 308 semillas. Presenta un contenido de azúcares de 13.2 °Brix y además 320 ml L⁻¹ de vitamina C.



Figura 3. Tomate de árbol genotipo Gigante Anaranjado.

Morado Gigante: La piel presenta una coloración rojiza oscura, la pulpa y el mucílago van de un color rojo oscuro a morado. Tiene alrededor de 310 semillas, un contenido de azúcares de 15.0 °Brix y 10 ml L⁻¹ de vitamina C. Es preferido por los consumidores en los Estados Unidos y Europa debido a que el color es mas atractivo aunque el sabor es mas ácido que el anaranjado (Prohens y Nuez, 2000).

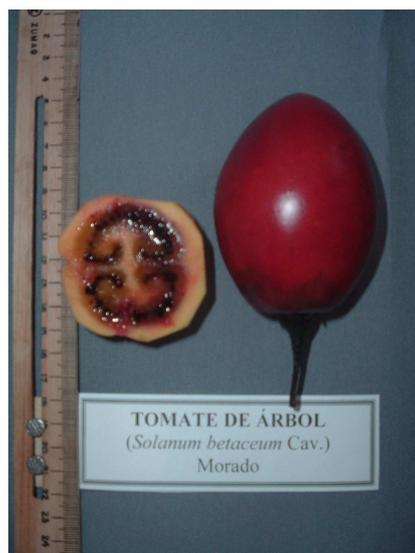


Figura 4. Tomate de árbol genotipo Morado Gigante.

Éstos genotipos sometidos a cultivo habrían originado mezclas génicas con diferentes caracteres de la planta, fruto y calidad, que son reconocidas por agricultores y agrónomos del Ecuador, hasta el día de hoy, en que se ha popularizado el cultivo y se ha intensificado la variación (Albornoz, 1992). Lastimosamente esta variabilidad de la fruta repercute en forma negativa en el momento de la comercialización por falta de uniformidad del color de la piel y de los pigmentos del mucílago que recubren las semillas.

3.1.5 Manejo Poscosecha

3.1.5.1 Generalidades

La poscosecha es la etapa que incluye todas las actividades que deben implementarse para ofrecer una fruta de excelente calidad desde el momento de la recolección hasta que ésta llega al consumidor final (Bernal y Díaz, 2003).

La calidad de la fruta cosechada no puede ser mejorada aplicando tecnologías durante la poscosecha, no obstante es posible conservarla por largos períodos de tiempo, utilizando sistemas modernos de conservación. Las tecnologías de manejo poscosecha utilizadas se basan en el estudio de los factores relacionados con el deterioro del producto, su comportamiento fisiológico, las técnicas de almacenamiento y las estrategias para retardar su envejecimiento (Bernal y Díaz, 2003).

Por ser un organismo vivo las frutas, después de cosechadas son susceptibles a una serie de daños de tipo físico y microbiológico. Lo anterior, asociado a la poca tecnología de manejo poscosecha existente en el país, ocasiona desde la recolección hasta el consumo, pérdidas cercanas al 35%, lo que viene generando una problemática identificada en cuatro aspectos fundamentales (Bernal y Díaz, 2003):

- *Económico:* productos dañados pierden valor como alimento.
- *Comercial:* a pesar de la demanda nacional e internacional, se pierde posicionamiento del producto frente a la oferta extranjera, debido al bajo nivel de competitividad, en cuanto a producción, manejo poscosecha, presentación y mercadeo.
- *Social:* por el alto precio que se tiene que pagar por el deficiente proceso producción – comercialización, que limita la capacidad de compra a un alto porcentaje de la población que no tienen recursos para adquirir frutas y alimentos para su adecuada nutrición.
- *Ecológico:* considerando que los desperdicios son una fuente permanente de contaminación y deterioro del medio ambiente.

A pesar de los importantes avances agronómicos que han permitido mejorar la productividad y calidad del tomate de árbol, en la actualidad se presentan grandes deficiencias en las etapas posteriores a la recolección y que son la causa del elevado índice de pérdidas. Estos aspectos se describen a continuación:

- Falta de conocimiento, a cerca de las características que debe reunir el producto final en cuanto a tamaño, color, consistencia, rendimiento, acidez y azúcares.
- Se carece de criterios claros y objetivos que permitan definir el momento óptimo de recolección, de acuerdo con el mercado objetivo.
- A pesar de existir normas de calidad acordes con la producción nacional, éstas no se aplican. Existen normas empíricas, creadas en función de necesidades particulares; en otros casos se adoptan normas de otros países, sin tener en cuenta que las

condiciones de producción son muy diferentes a las nuestras, esto causa confusión a través de toda la cadena de comercialización.

- Durante el beneficio y acondicionamiento hay excesiva manipulación, lo que implica maltratos y contaminación de los productos.
- Se utilizan sistemas de empaque que por sus características de forma, capacidad, y material de fabricación; son inadecuados, como costales, canastos, entre otros; lo cual ocasiona daños a los productos por impacto y compresión.
- Con relación al transporte, no se cuenta con un sistema especializado para transportar productos perecederos como el tomate de árbol, que incluya una red de frío y mantenga la calidad del producto en condiciones higiénicas y seguras.
- En el área de almacenamiento, la tecnología utilizada presenta deficiencias para mantener y prolongar la vida útil de los productos.

3.1.5.2 Calidad

La calidad en una fruta, es la combinación de características, atributos y propiedades que le otorgan valor al alimento (Kader *et al.*, 2002). La calidad también puede definirse como el conjunto de cualidades que determinan que cierto producto sea del gusto de un consumidor o de un grupo al cual se desea satisfacer con dicho producto. Las características que en términos de calidad debe cumplir un producto son:

- *Calidad Comercial:* comprende los aspectos de presentación externa (grado de madurez, color, tamaño, forma, homogeneidad), presencia de daños (raspaduras, golpes), limpieza (libre de materiales extraños), sanidad (ausencia de plagas, enfermedades).
- *Calidad Sensorial (Organoléptica):* conjunto de características que determinan que un alimento sea o no consumido. Son las sensaciones que se experimenta al consumir un alimento y se relaciona con las sensaciones gustativas, visuales, olfativas y táctiles.
- *Calidad Nutricional:* se basa sobre la importancia de alimentarse bien. El consumidor toma conciencia de las bondades de incluir frutas en su dieta.

- *Calidad Higiénica y de Protección de la Salud*: representa la sanidad e inocuidad del alimento que tienen repercusión en la salud humana. El producto debe estar libre de pesticidas y sustancias producidas por hongos y bacterias. Se especifican límites admisibles en las propiedades consideradas esenciales, para evitar efectos nocivos sobre la salud de los consumidores.

3.1.5.3 Factores que influyen en la Poscosecha

Los factores precosecha tienen influencia directa sobre la calidad de los frutos en la poscosecha (Bernal y Díaz, 2003). De acuerdo a Kader *et al.* (2002), la máxima calidad de poscosecha solo puede lograrse por un entendimiento y adecuado manejo de varios factores precosecha:

- Factores climáticos:
 - Temperatura
 - Luminosidad (Intensidad y duración)
 - Precipitación
 - Viento
 - Características del suelo
 - Humedad Relativa
- Factores agronómicos:
 - Calidad del material de siembra
 - Control de malezas
 - Densidad de siembra
 - Manejo fitosanitario
 - Nutrición mineral
 - Sistema de riego y drenaje
 - Sistema de poda

3.1.5.4 Cambios durante la maduración

La maduración es un proceso que involucra un conjunto de cambios que llevan a los frutos a obtener su máxima calidad comestible y estética, mediante cambios en el sabor, color, textura y otros atributos sensoriales (Soria, 2000a). El fruto se transforma totalmente en pocos días, pasando de ser simple, sin atractivo, no comestible a uno

atractivo, de un alto sabor y aroma y deseable para ser consumido. Siendo la maduración un proceso de cambio irreversible que proporciona las características óptimas para el consumo de una fruta (Gallo, 1997). La maduración de los frutos es una secuencia de cambios de color, sabor y textura que implican pérdida de clorofila, aparición de otros pigmentos, cambios de acidez, astringencia y dulzor. Se observan cambios en los ácidos orgánicos, fenoles, azúcares y demás compuestos (Bernal y Díaz, 2003).

Durante la maduración existen cambios en la velocidad de respiración de los frutos después de ser cosechados, que disminuye hasta un punto para luego observar una elevación súbita; éste aumento lleva a los frutos a experimentar cambios en el color, sabor y firmeza de la pulpa, fase que se denomina climaterio. En los frutos no climatéricos, como es el caso del tomate de árbol, este comportamiento no se observa, ya que una vez cosechado el fruto no continúa con el proceso normal de maduración (Soria, 2000b) aunque se manifiestan la mayor parte de las transformaciones características pero a un ritmo más lento (Wills *et al.*, 1998)

Los cambios que se producen durante la maduración son:

Color: es el cambio experimentado por muchas frutas en la maduración, y con frecuencia es el criterio más usado para decidir si una fruta esta o no madura. El color verde se debe a la presencia de clorofila, la pérdida de éste color es consecuencia de su degradación. Las causas mas relevantes son los cambios de pH (debido principalmente a la migración de ácidos orgánicos al exterior de la vacuola), el desarrollo de procesos oxidativos y la acción de las clorofilasas. La desaparición de la clorofila va asociada a la síntesis de otros pigmentos que oscilan entre el color amarillo y rojo, estos pigmentos son carotenoides y antocianinas (Gallo, 1997; Wills *et al.*, 1998).

Aroma: El aroma es la consecuencia de la síntesis de numerosos compuestos orgánicos volátiles, durante la fase madurativa (Gallo, 1997). Las frutas no climatéricas producen compuestos volátiles durante la maduración organoléptica, estas frutas no sintetizan compuestos tan aromáticos como los de las climatéricas; sin embargo, los volátiles producidos por las frutas no climatéricas tienen importancia en la determinación del grado de aceptación por el consumidor (Wills *et al.*, 1998).

Textura: la maduración de las frutas va acompañada generalmente de la pérdida de firmeza evidenciándose una disminución de la resistencia del material vegetal; que presenta una tendencia decreciente a lo largo del tiempo. La textura puede ser medida por instrumentos que miden la fuerza requerida para presionar un punzón de diámetro conocido a través de la piel de una fruta o vegetal (Kader *et al.*, 2002). La disminución en la fuerza de penetración puede atribuirse a los cambios propios en las paredes celulares de la pulpa durante el proceso de maduración, producto de la degradación por hidrólisis del componente péctico, que a la vez desagregan otros compuestos, como celulosa y hemicelulosa (Márquez *et al.*, 2008)

3.1.5.5 Índices de Cosecha

Los índices de cosecha son los parámetros más importantes para determinar el momento oportuno para realizar la cosecha y asegurar la vida útil de la fruta durante la poscosecha y su comercialización (García y García, 2001; Bernal y Díaz, 2003). Un índice de cosecha debe ser sencillo, práctico, rápido y reproducible (Gallo, 1997).

Existen diferentes métodos para determinar con precisión el grado de maduración de la fruta, la coloración externa de la fruta es el método más utilizado para determinar el momento óptimo de la cosecha, a pesar de ser un método sencillo y económico, es poco fiable y debe combinarse con otros métodos, que permiten obtener frutas de excelente calidad y no incurrir en errores (Bernal y Díaz, 2003).

Para el caso de los frutos no climatéricos, es muy importante detectar adecuadamente el índice de madurez y el momento del corte, pues luego de separarlo de la planta, el fruto no continua su proceso normal de maduración, si fue cosechado en un índice inadecuado, la calidad final del producto al consumidor se verá afectada seriamente (Soria, 2000).



Figura 5. Tomate de árbol anaranjado gigante y morado gigante en estado óptimo de cosecha.

De acuerdo a Bernal y Díaz (2003), los siguientes métodos están desarrollados para definir los índices de madurez con precisión:

- *Métodos Visuales:*

- Coloración de la cáscara
- Facilidad para desprender la fruta del árbol
- Cuajado de los frutos

- *Métodos temporales:*

- Calculando desde la siembra y los días transcurridos desde la floración hasta el momento de la cosecha. Según Albornoz (1992), los días contados desde la plantación hasta la fecha que cumplió la madurez fisiológica media en frutos ecuatorianos, está entre los 317 y 345 días para el puntón y morado; y entre 309 y 312 para el anaranjado gigante y redondo. De acuerdo a Bernal y Díaz (2003), el tiempo para la cosecha esta desde los 9 a 11 meses luego del trasplante, lo que varía de las características climáticas de la zona de cultivo.

- *Métodos Físicos:*

- Forma de la fruta
- Resistencia al rompimiento
- Peso
- Diámetro
- Consistencia o Firmeza

- *Métodos Químicos:*

- Determinación de ácidos presentes
- Determinación de sólidos solubles o grados brix
- Determinación de pH
- Relación o índice de madurez (relación entre sólidos solubles y el porcentaje de acidez)



Figura 6. Métodos químicos para la determinación del índice de madurez

- *Métodos Fisiológicos:*

- Determinación de la intensidad respiratoria.

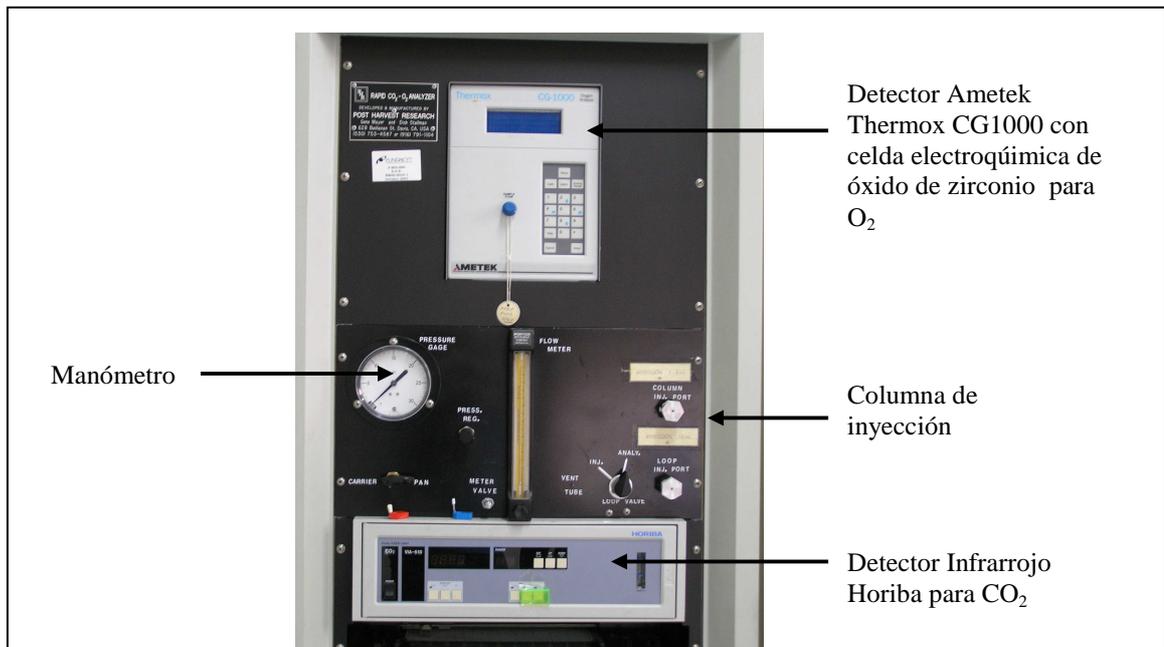


Figura 7. Analizador rápido de CO₂/O₂ Postharvest Research modelo VIA-510

- *Métodos Organolépticos:*

- Sabor
- Aroma
- Color

3.1.6 Cosecha de Tomate de Árbol

El tomate de árbol puede ser cosechado a partir de los diez o doce meses luego del trasplante, siendo más tardío en clima frío (Grijalva, 2001). La cosecha se realiza cada quince días (Sánchez *et al.*, 1996) en forma manual, presionando el primer nudillo del pedúnculo, para conservarlo adherido al fruto y mejorar su conservación durante el almacenamiento en poscosecha. Es recomendable para frutos de exportación usar tijeras de podar que ayudan a que los cortes de pedúnculo sean mas limpios y se eviten futuras pudriciones (Bernal y Días, 2003; León *et al.*, 2004).

Los frutos de tomate de árbol, se cosechan con el pedúnculo cuando el fruto tiene un color pinto (rojo) de por lo menos el 75% del color de madurez total (León *et al.*, 2004). La cosecha de campo se lo realiza en cestas de plástico, en cuyo fondo se coloca hojas de papel blanco, inmediatamente estas jabas se colocan en un sitio fresco y seco (MAG y IICA, 2000). Es preferible cosechar los frutos de tomate de árbol en horas de la mañana, cuando el estrés por temperatura en la fruta es menor, así se disminuye el calor de campo y las pérdidas por deshidratación. La implementación de éstas prácticas permiten que la fruta pueda resistir el manipuleo durante su almacenamiento y transporte hasta por 10 días (Bernal y Díaz, 2003).

3.1.7 Operaciones Poscosecha

3.1.7.1 Selección

La selección se realiza con personal capacitado, es preferible que el personal este equipado con vestimenta blanca para detectar fácilmente la suciedad y mantener constantemente altos índices de higiene (MAG y IICA, 2000).

Son seleccionados los frutos que no presentan daños mecánicos, deshidratación, manchas causadas por agentes biológicos y defectos físicos o fisiológicos (García y García, 2001; Bernal y Díaz, 2003).

3.1.7.2 Lavado y Desinfección

El lavado mejora la apariencia física de la fruta, se debe eliminar la suciedad, residuos de la misma cosecha, pedúnculos, hojas, residuos de pesticidas procedentes del campo (MAG y IICA, 2000).

El lavado puede ser por inmersión o aspersión, para lo cual puede emplearse las mismas jabs de recolección. La inmersión es la forma más sencilla de lavar la fruta, este sistema resulta más eficiente cuando el agua permanece en movimiento, ya que contribuye al desprendimiento y eliminación de tierra y otros residuos orgánicos. La aspersión con equipos de alta presión resulta eficiente y la operación de lavado es más rápida. También se usa el método de flotación, que se basa entre la diferencia de peso y las impurezas, este proceso requiere grandes volúmenes de agua (García y García, 2001; Bernal y Díaz, 2003).

Para desinfectar se usa solución de 2000 ppm de tiabendazol, amonio cuaternario o hipoclorito de sodio (2%) en concentración de 200 ppm, en tanques de inmersión durante cinco o siete minutos o través de equipos de aspersión que garanticen la aplicación uniforme del producto (García y García, 2001; Bernal y Díaz, 2003).

3.1.7.3 Secado

Esta operación es importante porque al eliminar la humedad superficial de la fruta, disminuye el riesgo de contaminación en especial durante su almacenamiento y transporte. Se pueden secar las frutas mediante el escurrido, ubicándolas en lugares con buena ventilación, protegidas de los rayos solares y alejadas de fuentes de contaminación como agroquímicos, abonos, fertilizantes, animales entre otros. También puede secarse individualmente de forma manual. El secado de la fruta a través de máquinas secadoras provistas de aire caliente, resulta muy rápido cuando se trata de grandes cantidades (Bernal y Díaz, 2003).

3.1.7.4 Clasificación

La clasificación conduce a formar categorías o clases comerciales del producto. Se puede hacer manual o mecánicamente, generalmente se combinan los dos métodos. La clasificación manual requiere operarios calificados, teniendo en cuenta fundamentalmente y en forma simultánea criterios como el tamaño o calibre, color, grado de madurez y ausencia de defectos (García y García, 2001). La clasificación mecánica se debe efectuar con equipos diseñados para este fin, estos combinan diferentes criterios de clasificación, de manera que separan los frutos en varios grados de calidad (Bernal y Díaz, 2003).

En Ecuador, (MAG y IICA, 2000) los índices de clasificación están en función del peso y tamaño del fruto; en ésta etapa además se toma en cuenta lo acordado previamente con el cliente (Prada y Basto, 2004).

3.1.7.5 Empaque

En Ecuador, para el mercado local, se colocan las frutas en jabas plásticas de 60 cm x 40 cm x 18 cm con capacidad para 25 kg, de tal modo que se puedan conformar hasta tres capas del producto; también se usan costales de fibra de polipropileno con capacidad para 40 kg o 62.5 kg.

Para el mercado externo, se empaca en cartón corrugado, madera, o la combinación de ellos de 40 cm x 30 cm x 15 cm., deben llevar separadores y una capa amortiguadora en la base (León *et al.*, 2004; Bernal y Díaz, 2003; Prada y Basto, 2004).

3.1.7.6 Almacenamiento

Los frutos deben almacenarse a una temperatura entre 3 a 4 °C con una humedad relativa de 90 a 95%, bajo estas condiciones pueden permanecer almacenados entre 4 y 8 semanas (Cantwell, 2000). Artesanalmente, en el Ecuador los frutos se almacenan en un lugar fresco, seco, con suficiente aireación y lejos de agroquímicos (Bernal y Díaz, 2003).

Para obtener resultados positivos el lugar de almacenamiento debe desinfectado y limpio, al igual que las canastas donde se empacan los frutos; debe evitarse la sobrecarga de los empaques y no ponerlos muy altos para permitir la circulación de aire dentro del almacén (Bernal y Díaz, 2003; Prada y Basto, 2004).

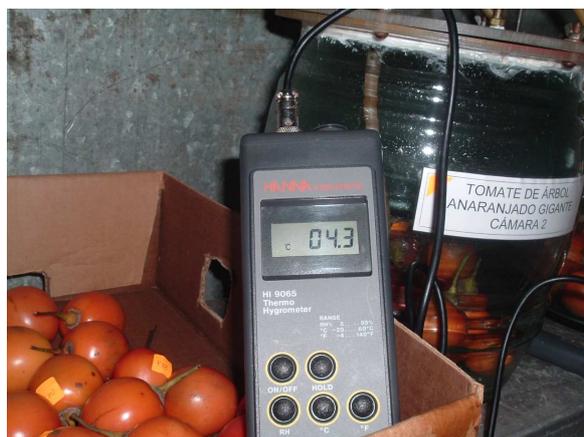


Figura 8. Almacenamiento del tomate de árbol en cámara de refrigeración a 4 °C.

3.2 Estrés Vegetal

El estrés es definido como un factor externo que ejerce una influencia perjudicial en la planta. El concepto de estrés está íntimamente asociado con el término *tolerancia al estrés* que es la capacidad de la planta de enfrentarse a un ambiente desfavorable (Taiz y Zeiger, 2006). Se considera como **estrés** a cualquier factor ambiental que actúe sobre el vegetal cuando se desvía del nivel óptimo para el organismo en cuestión, pudiendo provocar daños o lesiones. Ocasionalmente se pueden usar los factores de estrés como un factor positivo que ayuda en la producción agrícola (Salisbury y Ross, 2000; Bioiberica, 2007).

Tanto en condiciones naturales como agronómicas las plantas están frecuentemente expuestas a estrés ambiental. Muchos factores, como la temperatura del aire pueden volverse estresantes en pocos minutos; otros como el contenido de agua en el suelo, puede tomar días o semanas; y factores como las deficiencias minerales pueden tomar meses para convertirse en un estrés (Taiz y Zeiger, 2006).

Se ha definido la *deformación elástica* como los cambios que se dan en un organismo que se restituyen a su nivel óptimo. Si la función no vuelve a la normalidad, se dice que el organismo presenta una *deformación plástica*. Para Salisbury y Ross, (2000), los fisiólogos vegetales han dirigido su atención a las deformaciones plásticas causadas por el estrés a causa de: frío, temperaturas elevadas, escasez de agua o concentraciones elevadas de sal. Las deformaciones elásticas que sufren las plantas, tal como la fotosíntesis reducida que provoca una iluminación débil (la misma que vuelve a la normalidad al recuperar unos niveles de luz elevados), se han estudiado menos, aunque deben ser muy comunes.

El concepto de estrés está íntimamente asociado con los términos, *evitación* y *tolerancia*, éste último también llamado resistencia, aunque se prefiere el término tolerancia (Taiz y Zeiger, 2006). En la evitación, el organismo responde reduciendo de alguna manera el impacto del factor de estrés (Azcón-Bieto y Talón, 2001). Por otra parte, si la planta desarrolla tolerancia, simplemente tolera o resiste el ambiente adverso (Salisbury y Ross, 2000). Si la tolerancia incrementa como resultado de la exposición al

estrés se dice que la planta esta *aclimatada* (Azcón-Bieto y Talón, 2001; Taiz y Zeiger, 2006).

Cuando se experimenta por primera vez un factor de estrés, hay una *reacción de alarma* en la que la función de interés varía mucho de la normal. Luego aparece la *etapa de resistencia* (o *fase de restitución*), en la que el organismo se adapta al factor de estrés y con frecuencia la función vuelve a su estado normal (aunque no puede conseguirlo por completo). Por último, si el factor de estrés aumenta o continúa por mucho tiempo, puede llegarse al *estado de agotamiento*, en el que la función puede variar mucho de la normal nuevamente, lo que a largo plazo puede producir la muerte (Salisbury y Ross, 2000).

Las especies vegetales varían su sensibilidad y respuesta al descenso en el potencial de agua a causa de la sequía, la baja temperatura o la alta salinidad, se puede asumir que todas las plantas tienen la habilidad de codificar la percepción, los síntomas y la respuesta al estrés (Bohnert *et al.*, 1995).

1. La mayoría de especies cultivadas tienen “parientes” salvajes que exhiben excelente tolerancia a factores de estrés abiótico.
2. Estudios bioquímicos han revelado similitudes en procesos inducidos por estrés que conducen a la acumulación de metabolitos en plantas vasculares y no vasculares.
3. Estudios moleculares han revelado que la amplia variedad de especies expresan un grupo común de genes y proteínas similares cuando se estresan.

La adaptación y aclimatación a un ambiente de estrés resulta de la integración de eventos que ocurren a todos los niveles de organización, desde el nivel anatómico-morfológico hasta el celular, bioquímico y molecular. Las respuestas celulares al estrés incluyen cambios en el ciclo y en la división, cambios en el sistema endomembranario, y cambios en la arquitectura de la pared celular, todos estos tratando de incrementar la tolerancia del estrés celular. A nivel bioquímico las plantas alteran el metabolismo en varias formas para acomodarse al ambiente estresante (Taiz y Zeiger, 2006).

Las plantas, a lo largo de su ciclo de vida, están expuestas a un gran número de factores estresantes, que pueden agruparse en bióticos y abióticos. El *estrés biótico* es el causado por la acción de seres vivos, animales pequeños o grandes, plantas y agentes patógenos (bacterias, hongos, virus). El *estrés abiótico* que puede ser causado por agentes físicos o químicos; factores físicos como agua, luz solar, temperatura, viento, condiciones de suelo y heridas, y factores químicos como elementos minerales, contaminantes ambientales y productos químicos (Azcón-Bieto y Talón, 2001).

3.2.1 Estrés Hídrico

Las raíces obtienen suficiente oxígeno (O₂) por respiración aeróbica directamente desde los espacios gaseosos en el suelo. Los poros en suelos bien drenados o de buena estructura rápidamente permiten la difusión del gas O₂ a varios metros de profundidad. Los suelos pobremente drenados pueden inundarse o volverse anegados cuando la lluvia o el riego son excesivos. El agua entonces llena los poros y bloquea la difusión de oxígeno en la fase gaseosa (Taiz y Zeiger, 2006).

El agua puede limitar el crecimiento y la productividad de un cultivo en cualquier sitio, ya sea por que fue sometido a períodos secos inesperados o a lluvias bajas que hacen necesario el riego constante. El grado en que influye la retención de cantidades de agua relativamente pequeñas en la productividad del cultivo es lo importante en cuanto a problemas de estrés hídrico (Salisbury y Ross, 2000).

De acuerdo a Fitter y Hay (2002), un indicador importante para la determinación del estrés hídrico es el potencial de agua, que se representa con éste símbolo Ψ , y es la medida de la energía libre asociada con el agua por unidad de volumen. Hsiao (1973) definió tres niveles de estrés de agua:

- Estrés Leve: potencial por debajo de -0.5 MPa o más
- Estrés Moderado: potencial entre -0.5 MPa a -1.2 o -1.5 MPa
- Estrés Severo: potencial por debajo de -1.5 MPa.

3.2.2 Estrés Luminoso

La luz solar es un factor abiótico importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que controla el proceso de la fotosíntesis y la respiración. El estrés por luz en una planta se produce cuando aumenta o disminuye la intensidad luminosa y conduce a la reducción en la eficacia fotosintética y al bloqueo del transporte electrónico y la fotofosforilación (Azcón-Bieto y Talón, 2001).

Las plantas suelen crecer más despacio y de manera débil, por falta de luz. El principal indicador de éste problema es la ausencia de color. Estas manifestaciones son muy evidentes; además de que sus hojas y tallos se vuelven alargados y casi sin color, las flores pueden caer rápidamente, presenta un crecimiento desordenado y excesivo y las hojas nuevas nacen pálidas o amarillentas. El exceso de luz, en cambio, puede reseca las hojas dándoles un aspecto apagado y sin vida, parecen marchitas ya que sus bordes se presentan quemados y de coloración marrón, muchas veces la planta se inclina hacia el lugar contrario a la luz (Bioiberica, 2007).

Las plantas pueden regular la absorción de la energía luminosa incrementando el depósito de ceras o de sales en el haz de las hojas, lo que crea superficies reflectantes. También pueden utilizar otros mecanismos, como la redistribución de cloroplastos en las células del mesófilo o el movimiento del limbo foliar. La distribución de cloroplastos cambia sustancialmente con la densidad de flujo de fotones. Cuando la densidad está por debajo del punto de saturación de luz, los cloroplastos se sitúan en las superficies periclinales celulares (superficies paralelas al eje mayor del limbo) y se orientan de forma perpendicular a la luz incidente. Cuando este flujo es excesivo, los cloroplastos se ubican en las superficies anticlinales de las células (superficies perpendiculares al eje mayor del limbo), orientándose de forma paralela a la luz incidente. Algunas especies pueden modificar la posición de las hojas por la actividad del pulvinus, que es un órgano que se encuentra en la unión entre la hoja y el pecíolo y da una fuerza mecánica para el movimiento de las hojas (Azcón-Bieto y Talón, 2001).

3.3 Polifenoles

Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen al menos un grupo fenólico y un anillo aromático unido a un grupo funcional [hidroxilo](#) (Macheix *et al.*, 2000; Vasco, 2005; Taiz y Zeiger, 2006); estas sustancias orgánicas son conocidas como Compuestos Fenólicos y se encuentran en casi todas las plantas: vegetales, cereales, legumbres, frutas y nueces. Su presencia depende de factores genéticos, condiciones ambientales, grado de madurez, variedad, tratamiento y almacenamiento (Bravo, 1998). Éstos compuestos fenólicos son un grupo químicamente heterogéneo de casi 100 000 compuestos individuales. Muchos son solubles únicamente en solventes orgánicos mientras otros son polímeros insolubles (Taiz y Zeiger, 2006).

Se presentan principalmente en forma conjugada, con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, también pueden darse uniones directas entre la molécula de azúcar y un carbón aromático, aunque es menos frecuente. Estos azúcares pueden ser monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos. La glucosa es el residuo de azúcar más común. Pueden encontrarse unidos además a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Bravo, 1998; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Vasco, 2005).

Los polifenoles de mayor interés nutricional de acuerdo a Martínez-Valverde *et al.* (2000) son:

- Fenoles Simples: como fenol, cresol, timol y resorcinol.
- Ácidos Fenólicos: como ácido gálico, ácido vainílico y ácido siríngico.
- Fenilpropanoides: que incluyen ácidos hidroxicinámicos (ácido caféico, ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico).
- Lignanós y Neolignanós.
- Taninos (hidrolizables y condensados).
- Flavonoides: Se encuentran aquí las flavonas (apigenin, luteolin), y los flavonoles (quercetin, myricetin y kampferol).

Cerca de 4 000 sustancias vegetales pertenecen a la clase de flavonoides, de los cuales 900 están presentes en la dieta humana (Azcón-Bieto y Talón, 2001; Pokorny *et al.*, 2001).

Manteniendo su diversidad química los compuestos fenólicos tienen varias funciones en las plantas. Están involucrados en el crecimiento y reproducción y dan a la planta resistencia a predadores y patógenos como insectos y hongos (Bravo, 1998); otros trabajan en el soporte mecánico, o como protectores contra el daño de luz ultravioleta en el caso de flavonoides (flavones y flavonoles), para atraer polinizadores en el caso de antocianinas, como agentes alelopáticos, los ácidos caféico y ferúlico han demostrado en experimentos de laboratorio inhibir la germinación y crecimiento de muchas plantas (Azcón-Bieto y Talón, 2001; Taiz y Zeiger, 2006).

Los polifenoles tienen muchas aplicaciones industriales, como la producción de pinturas, papel, cosméticos, como agentes taninos y en la industria de alimentos como aditivos. Muchos compuestos fenólicos como los flavonoides (isoflavonoides) tienen aplicaciones como antibióticos, agentes para tratar diarreas, úlceras e inflamaciones, además para tratamientos de enfermedades como hipertensión, fragilidad vascular, alergias, hipercolesterolemia entre otros (Bravo, 1998; Azcón-Bieto y Talón, 2001).

3.3.1 Biosíntesis de los Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos vegetales en las plantas son biosintetizados por dos vías la del ácido shikímico y la de ácido malónico (Bravo, 1998; Taiz y Zeiger, 2006). La primera vía corresponde a la biosíntesis de la mayoría de los polifenoles vegetales y convierte los simples precursores carbohidratos derivados de la glucólisis y de la vía de las pentosas fosfato a ácidos amino aromáticos. La segunda vía, aunque también es una importante fuente de productos fenólicos secundarios en bacterias y hongos es de menor significado en plantas mayores (Taiz y Zeiger, 2006).

La clase más abundante de compuestos fenólicos secundarios en las plantas son derivados de la fenilalanina, eliminando una molécula amonio para formar el ácido cinámico, ésta reacción es catalizada por la enzima *fenilalanina amonio liasa* (PAL), que está situada entre el metabolismo primario y secundario, así que la reacción que ésta cataliza es un paso regulatorio importante en la formación muchos compuestos fenólicos.

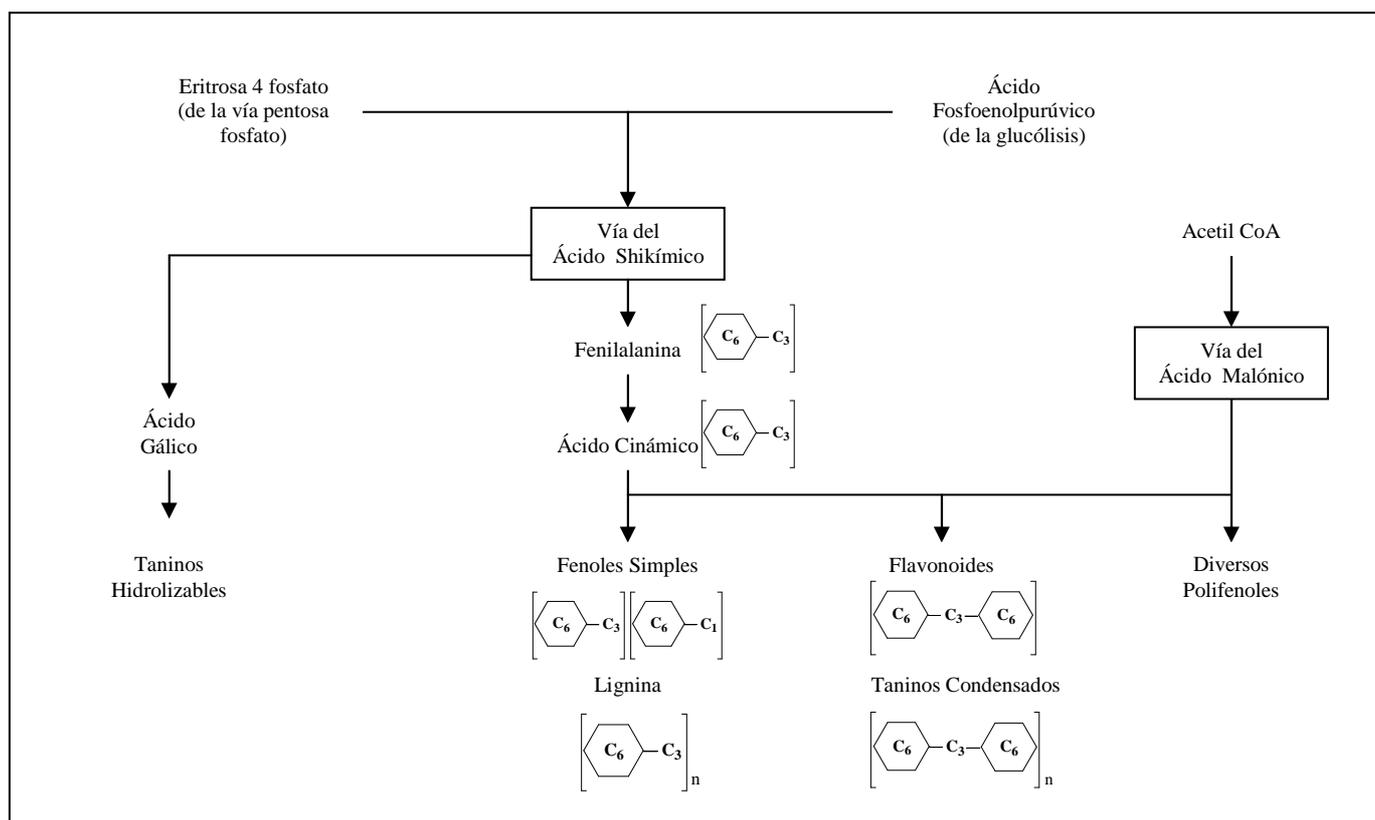


Figura 9. Biosíntesis de los compuestos fenólicos.

Fuente: (Taiz y Zeiger, 2006).

La actividad de PAL se incrementa con factores ambientales, como bajos niveles de nutrición, luz (a través de su efecto en el fotocromo) y la infección fúngica. El punto de control parece ser la iniciación de la transcripción. La regulación de la actividad de PAL en muchas especies de plantas se hace más complicado por la existencia de múltiples genes de codificación de PAL, muchos de los cuales se expresan solo en tejidos específicos o bajo ciertas condiciones ambientales (Taiz y Zeiger, 2006). PAL ha sido el objeto de estudios exhaustivos ya que ésta es generalmente inducida por los cambios de la oscuridad a la luz bajo el control del fotocromo o posiblemente por otros fotorreceptores. La luz puede jugar un papel regulador en el crecimiento celular al actuar en la estereoquímica del ácido ferúlico ligado a los polisacáridos y causando cambios en la estructura y propiedades de la pared celular (Macheix *et al.*, 2000).

Las reacciones subsecuentes que son catalizadas por PAL llevan a la adición de más grupos hidroxilos y otros sustituyentes. El ácido *trans*-cinámico, ácido *p*-cumárico y sus derivados son compuestos fenólicos simples conocidos como *fenilpropanoides* porque contienen el anillo de benceno y una cadena de 3 carbonos. Los fenilpropanoides son

importantes bloques constructores de compuestos fenólicos más complejos (Taiz y Zeiger, 2006).

3.3.2 Regulación del metabolismo fenólico en los frutos

La acumulación de los compuestos fenólicos en las frutas varía fuertemente en relación a su estado fisiológico, y es el resultado de un equilibrio entre biosíntesis y un extenso metabolismo incluyendo anabolismo y degradación. El más importante mecanismo de control en el metabolismo fenólico involucra el control de la cantidad de enzimas, la regulación de la actividad enzimática, la disponibilidad de los precursores e intermediarios y la integración en los programas de diferenciación y desarrollo del organismo productor (Macheix *et al.*, 2000) .

De acuerdo a Macheix *et al.* (2000), las variaciones del metabolismo fenólico en relación a los estados fisiológicos dependen directamente de la síntesis de proteína, además también esta influenciado por una gran cantidad de factores, tanto externos (luz, temperatura, etc.) como internos (hormonas, nutrientes, etc.). El conocimiento acerca de las funciones de estos factores en la regulación del metabolismo fenólico es de particular interés ya que pueden ser usados para aplicaciones prácticas que incrementan o reducen la síntesis de ciertos grupos de compuestos fenólicos (Macheix *et al.*, 2000).

3.3.2.1 Luz y los Compuestos Fenólicos

La luz es el factor ambiental, cuyo efecto en el metabolismo fenólico ha sido el más estudiado. De hecho, las observaciones de campo han subrayado por mucho tiempo la importancia de la radiación solar con la estimación de la acumulación de antocianinas, particularmente en frutos. La función de la luz en el metabolismo fenólico puede estar determinada por su intensidad, por el fotoperíodo y por las longitudes de onda involucradas, ya que numerosas enzimas son controladas por éstos parámetros (Macheix *et al.*, 2000).

Existen varios datos disponibles sobre las relaciones entre la luz y los compuestos fenólicos en las frutas; éstos conciernen principalmente al grupo de las antocianinas y con menor importancia a los glicósidos de flavonol y los derivados hidroxicinámicos.

Aparentemente se observa que la luz es un factor determinante en la acumulación de la mayoría de compuestos fenólicos en las frutas regulados por: la contribución de las cadenas de carbón derivadas directamente de la fotosíntesis y de manera más específica por medio de las enzimas del metabolismo fenólico y en particular de PAL. En todos los casos, las respuestas en el metabolismo lo controla el factor genético, pero pueden ser considerablemente modificadas en cantidad y calidad por la luz y otros factores ambientales (Macheix *et al.*, 2000).

3.3.2.2 Temperatura

Los efectos de la temperatura en la fisiología y el metabolismo vegetal se pueden observar a diferentes niveles, que van desde membranas hasta el individuo en total, siendo una de las principales observaciones que el metabolismo disminuye cuando la temperatura cae. El metabolismo fenólico puede ser afectado por el frío, pero éste es solo un resultado indirecto causado en particular por una reducción de la maduración natural (Macheix *et al.*, 2000).

Un efecto favorable de las bajas temperaturas en la acumulación de antocianinas se observa directamente en el campo, sobretodo en aquellos frutos en las que el color rojo profundo se logra mejor en climas fríos. También el contenido fenólico de las uvas que han sido cultivadas en regiones con climas frío y una estación corta son generalmente mayores que las de otras regiones. Por otro lado, el uso frecuente de temperaturas bajo 0°C en el almacenamiento poscosecha de los frutos, puede causar desórdenes fisiológicos como su decoloración, de los cuales los compuestos fenólicos son directamente responsables (Macheix *et al.*, 2000).

3.3.2.3 Irradiación

Se usa más en tratamiento de órganos de las plantas, para mejorar la conservación, siendo efectivo como bactericida, pero las dosis requeridas muchas veces tienen efectos no deseados en el color y sabor. El efecto de la irradiación en el almacenamiento ha sido estudiado en diferentes frutos. Esta retarda la maduración y senescencia, resultando en

un incremento en la duración del período de conservación. Sin embargo, se tiene escasos datos sobre el efecto en los compuestos fenólicos (Macheix *et al.*, 2000).

3.3.2.4 Etileno

Es la hormona fundamental en la maduración de las frutas y la senescencia de los órganos de la planta en general. La acumulación de antocianinas esta normalmente asociada con la maduración de numerosos frutos, se ha observado que tratamientos con etileno incrementan el contenido de antocianinas por estimulación de las enzimas involucradas en la biosíntesis fenólica, en particular PAL (Macheix *et al.*, 2000).

3.3.2.5 Reguladores de Crecimiento

Estos reguladores actúan de diferente manera en el crecimiento y maduración de las frutas. Luego de varios estudios las aplicaciones exógenas de éstos compuestos son comunes. Existe información precisa del efecto de éstas aplicaciones en el contenido fenólico y el metabolismo de la fruta (Macheix *et al.*, 2000).

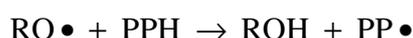
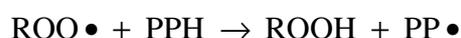
- *Auxinas*: Causan el ablandamiento en la fruta e incrementan la producción de CO₂ y evolución del etileno, parece que la auxina induce a la coloración a través de la promoción de la maduración en las olivas.
- *Citoquininas*: Las aplicaciones exógenas de citoquininas antes de la recolección de olivas verdes maduras, causan un incremento marcado en la acumulación de las antocianinas sin alterar los otros parámetros de maduración, CO₂ o ablandamiento de la fruta.
- *Giberelinas*: Las relaciones entre el ácido giberélico y el metabolismo polifenólico son complicadas, muchas veces hay inhibición otras veces, estimulación, dependiendo del material de la planta.
- *Ácido Abscísico*: Las aplicaciones exógenas del ácido abscísico estimulan la acumulación de antocianinas en uvas sin tener efecto en el contenido de sólidos solubles totales o la acidez titulable.
- *Retardadores de Crecimiento*: El ácido 2, 2-dimetilhidrazido succínico (SADH o Alar) es un retardador de crecimiento, cuyo efecto en el metabolismo de antocianinas ha sido muy estudiado en cerezas, arándanos y manzanas. En las

cerezas se concluyó que mejora la biosíntesis de antocianinas. El ácido clorocoline, otro retardador de crecimiento, estimula la síntesis de rutin en frutos de tomate.

3.3.3 Actividad Antioxidante de los Polifenoles

El interés en los polifenoles se ha incrementado debido a su función como antioxidantes, antimutagénicos y captadores de radicales libres, y su implicación en la prevención de enfermedades cardiovasculares y cáncer. (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998) De hecho estudios epidemiológicos han demostrado una correlación entre el incremento del consumo de antioxidantes fenólicos y la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer (Bravo, 1998).

La antioxidantes actúan como capturadores de los radicales libres y queladores de iones metálicos que son capaces de catalizar la peroxidación lipídica. Los polifenoles como antioxidantes interfieren con la oxidación de lípidos y otras moléculas por rápida donación de un átomo de hidrógeno a los radicales, como se ilustra a continuación:



También, los radicales libres intermedios son relativamente estables, es por eso, que una nueva reacción en cadena no se inicia fácilmente. Los radicales peroxi intermediarios también actúan como terminales de la ruta de propagación al reaccionar con otros radicales libres:



De acuerdo a Bravo (1998), la eficiencia de los polifenoles como compuestos antioxidantes depende en su mayoría de su estructura química. El polifenol por si mismo es inactivo como antioxidante, pero *orto*- o *para*-difenoil tienen capacidad

antioxidante, que se incrementa con la sustitución de un átomo de hidrógeno por grupos *etil-* o *n-butil*.

Según Bravo (1998), entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, debido a que poseen uno o más de los elementos estructurales involucrados en la actividad antirradical ya sea:

1. un grupo *o*-difenólico
2. un 2-3 doble enlace conjugado con la función 4-oxo
3. grupos hidroxilo en posición 3 o 5.

También los ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinámico, hidroxibenzóico, caféico, clorogénico), taninos, calconas y cumarinas, constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos (Bravo, 1998; Martínez-Valverde, *et al.*, 2000).

Aunque la actividad antioxidante tradicionalmente ha sido atribuida solo a los compuestos fenólicos (polifenoles extractables). Un reciente reporte sugiere que los polifenoles no extractables (polímeros de proantocianidinas y taninos hidrolizables de alto peso molecular) son 15 a 30 veces más efectivos que los radicales peroxi de quercetina que otros fenoles simples. Debido a que estos compuestos no se absorben, pueden manifestar su actividad antioxidante dentro del tracto digestivo y proteger lípidos, proteínas y carbohidratos de daño oxidativo durante la digestión y ahorrar antioxidantes solubles (Bravo, 1998).

Los compuesto fenólicos antioxidantes son potentes inhibidores de la oxidación de los lípidos de baja densidad, se ha propuesto algunos mecanismos de su efecto (Bravo, 1998):

1. reducción de la formación de radicales libres
2. protección contra la oxidación en lípidos de baja densidad por α -tocoferol
3. regeneración de α -tocoferol oxidado
4. quelación de iones metálicos.

3.3.3.1 Determinación de la Actividad Antioxidante

Se han desarrollados diversos métodos para medir la actividad antioxidante total de fluidos corporales, extractos de frutas y compuestos puros. Cada método se relaciona con la generación de un radical diferente, actuando a través de una variedad de mecanismos y la medición de un parámetro final en un tiempo determinado o sobre un rango (Re *et al.*, 1999). La mayoría de éstos métodos se basa en un sustrato que es oxidado durante el procedimiento, el consumo de oxígeno, productos oxidados, o la pérdida del sustrato que es monitoreada de diferente manera (Calderón, 2007).

3.3.3.1.1 Método del radical DPPH• (2,2-difenilpicrilhidrazyl)

El método del DPPH, se basa en la medición de captación de radicales libres de los compuestos antioxidantes con el radical DPPH•, usando diferentes concentraciones del radical y midiendo tiempos de reacción, para poder determinar la Eficiencia Antioxidante de un compuesto (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998; Mermelstein, 2008).

3.3.3.1.2 Método FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

En un medio con un pH bajo, es monitoreada la reducción del compuesto tripyridyltriazina férrico (Fe^{+3} -TPTZ) de color amarillo a la forma ferrosa (Fe^{+2} -TPTZ) de color azul intenso, midiendo el cambio en una absorbancia de 593 nm. La reacción no es específica, y cualquier medio de reacción que tenga al menos un potencial de redox positivo, llevará a la reducción del Fe^{+3} -TPTZ. Las condiciones de la prueba favorecen la reducción del compuesto y, por eso, el desarrollo del color indica que un reductante (antioxidante) esta presente. Los resultados son reportados como equivalentes tripyridyltriazina ferrosa (Benzie y Strain, 1996).

3.3.3.1.3 Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

En éste método de decoloración, la generación del radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ implica la producción directa de un cromóforo $\text{ABTS}^{\bullet+}$ verde/azul a través de una reacción entre el ABTS (2,2'-anzinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) y el persulfato de potasio. La adición de antioxidantes al radical monocatión preformado de ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) lo

reduce, causando la disminución de la coloración inicial; la influencia de la concentración del antioxidante y la duración de la reacción en la inhibición de la absorción del radical, son tomados en cuenta en la determinación de la actividad antioxidante. Los datos son reportados como equivalentes de trolox (Re *et al.*, 1999).

3.3.3.1.4 Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

El método ORAC mide la inhibición antioxidante del radical peroxil que induce oxidaciones por el rompimiento en cadena por transferencia de átomos de hidrógeno (Prior *et al.*, 2005). El radical peroxil reacciona con una sonda fluorescente para formar un producto no fluorescente que puede ser cuantificado fácilmente por fluorescencia. La actividad antioxidante es determinada por la disminución de la velocidad y por la cantidad de producto formado en un determinado tiempo (Calderón, 2007). Los resultados son reportados como equivalentes de trolox.

3.3.3.1.5 Método TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity)

Este método se basa en la reacción entre los radicales peroxil y el ácido α -keto- γ -netiolbutírico (KMBA), el cual se oxida a etileno. El antioxidante añadido compite con el KMBA por los radicales, reduciendo la producción de etileno. Este gas es medido por un cromatógrafo de gases. Éste método permite el estudio de la capacidad antioxidante de las muestras contra tres diferentes especies de reactivos de oxígeno con importancia fisiológica: radicales peroxil, radicales hidroxil y peroxinitratos. Los valores de TOSC de 0% son típicos de muestras sin ninguna propiedad antioxidante. Una solución que suprime la formación de etileno completamente logra valores TOSC del 100% (Marx *et al.*, 2007).

3.3.3.1.6 Método TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter)

Éste método usa un espectrómetro de luminescencia para medir la reducción de la fluorescencia de R-phycoerythrin durante una reacción de peroxidación controlada. Los valores de TRAP son calculados por la longitud de la fase lag causada por el antioxidante y comparada con el estándar trolox (Mermelstein, 2008).

3.3.3.1.7 Método PSC (Peroxyl Radical Scavenging Capacity)

Método similar al ORAC, se basa en el grado de inhibición de la oxidación diclorofluorescente por los antioxidantes que atrapa los radicales peroxil, generados por la degradación térmica del 2,2'-azobis(amnidinopropane) (Mermelstein, 2008).

4 RESUMEN DEL TRABAJO

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), es una fruta ecuatoriana que puede ser consumida en crudo o utilizada para diferentes preparaciones, como postres, helados, batidos y mermeladas. Durante los últimos 15 años su consumo se ha incrementado en el país debido a sus conocidas propiedades nutricionales y medicinales, contiene entre otros compuestos vitamina A y C que ayudan a fortalecer el sistema inmunológico ya que actúan como antioxidantes naturales (Albornoz, 1992; Soria, 2000b). En este trabajo de investigación dividido en tres partes, se buscó identificar las propiedades nutracéuticas de 4 genotipos de tomate de árbol cultivados en Ecuador; realizar una comparación entre los dos genotipos de mayor comercialización en el Ecuador e incrementarlas mediante procesos de estrés en el campo.

En la primera parte de éste estudio, que se detalla en el Artículo I, se estudiaron cuatro genotipos de tomate de árbol ecuatoriano: Anaranjado Gigante, Anaranjado Redondo, Anaranjado Puntón y Morado Gigante, cosechados con el 70% de su coloración final, en las provincias de Pichincha y Tungurahua. Se realizó la caracterización físico-química (peso, pérdida de peso, longitud, diámetro, volumen, firmeza, pH, sólidos solubles o °Brix y acidez) poscosecha de los 4 genotipos durante 8 semanas de acuerdo a los métodos de la AOAC (Horwitz, 2000). Los frutos de los 4 genotipos fueron almacenados a 4°C y 85% HR durante 8 semanas. Se determinó el color de la fruta en la cáscara y la pulpa usando el colorímetro triestímulo (Minolta, modelo CR-200), la materia soluble de acuerdo al método de la AOAC (Horwitz, 2000) y la tasa de respiración. Se realizó además la determinación de polifenoles solubles totales con el método de Folin-Ciocalteu (Bravo, 1998).

Todos presentaron el patrón respiratorio de los frutos no climatéricos. El genotipo puntón anaranjado presentó la más alta intensidad respiratoria con una vida útil de 6 semanas en almacenamiento. Los frutos del genotipo morado gigante presentaron mayor peso (175.5 g), diámetro (6.6 cm), longitud (8.1), volumen (179.3 ml), rendimiento de pulpa (88.6%), acidez titulable (0.3% ácido cítrico), concentración de sólidos solubles totales (11.82 °Brix). El genotipo puntón anaranjado presentó mayor concentración de polifenoles solubles totales en la cáscara 433.78 mg equivalentes de ácido gálico/100 g FF, y morado gigante en la pulpa, 139.08 mg equivalentes de ácido gálico /100 g FF.

En la segunda parte de éste trabajo, detallado en el Artículo II, se estudiaron las características físico-químicas y propiedades antioxidantes de dos genotipos de tomate de árbol de mayor demanda en los mercados de Ecuador: Anaranjado Gigante y Morado Gigante. En las frutas se estudio las propiedades físicas (peso, diámetro, alto y firmeza), propiedades químicas (pH, sólidos solubles y acidez titulable) de acuerdo al método de la AOAC (Horwitz, 2000). Además se realizaron otras pruebas como análisis proximal, determinación de: azúcares, ácidos orgánicos, minerales y alcaloides. Se cuantificó vitamina C (Van Niekerk, 1988), β -carotenos (Pettersson and Jonsson, 1990), antocianinas (Abdel-Aal and Hucl, 1999) y polifenoles solubles totales (Folin y Ciocalteu, 1927), además se evaluó la actividad antioxidante de acuerdo al método del radical DPPH (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998; Mermelstein, 2008). Los resultados fueron comparados con los de Romero-Rodriguez, *et al.* (1994) en frutos españoles.

Los tomates de árbol ecuatorianos, anaranjado gigante y morado gigante presentaron mayor peso, 107 y 188 g; que los españoles, 43 y 63 g, respectivamente. Los frutos españoles presentaron similares características químicas, excepto en el contenido de grasa y ácido málico que fue mayor en los frutos ecuatorianos. El principal ácido orgánico presente en éste fruto fue el ácido cítrico. El tomate de árbol es una buena fuente de potasio, alrededor de 400 mg/100 g FF. El contenido vitamina C es similar para ambos genotipos. El genotipo morado gigante presentó mayor cantidad de β -caroteno, 5.2 mg/100 g FF y polifenoles solubles totales, 187 mg equivalentes de ácido gálico. No se detectó contenido de antocianinas en el genotipo anaranjado gigante, pero en el morado gigante se obtuvo 38 mg de cianidina-3-O-glucosido/100 g FF. El genotipo anaranjado gigante presentó menor actividad antioxidante que el genotipo morado gigante. En ambos genotipos se observó mayor actividad antioxidante en la cáscara que en la pulpa y placenta. Dentro de los compuestos fenólicos analizados en la cáscara solo se detectó quercetin y myricetin, mientras que en la pulpa se encontró derivados de ácidos hidroxicinámicos.

En la tercera parte de éste estudio, descrita en el Artículo III, se buscó incrementar el contenido de antioxidantes del tomate de árbol anaranjado gigante sin alterar sus características organolépticas aplicando estrés hídrico y luminoso. Para ello, se estableció un invernadero de 220 m² en una plantación de aproximadamente dos años de edad donde las plantas estaban a una distancia de 2 x 2 m. La plantación estuvo ubicada

en la granja del INIAP en Tumbaco en la provincia de Pichincha. Se aplicaron tres tipos de estrés de luz: usando sombra con zarán de 45% (Tratamiento 1), 60% (Tratamiento 2) y 70% (Tratamiento 3); y dos tratamientos de agua: riego constante manteniendo los valores del tensiómetro entre 9 y 11 cb (Tratamiento 4) y riegos hasta que el suelo llegue a capacidad de campo, 15 cb, y luego corte hasta antes de llegar a punto de marchitez permanente (PMP), hasta cerca de 70 cb (Tratamiento 5); y un testigo, al cual no se aplicó ningún estrés. La aplicación de los dos tipos de estrés se realizó durante la floración y fructificación de las plantas. Una vez que los frutos alcanzaron la madurez fisiológica (70% de color final) fueron cosechados y llevados para caracterización poscosecha.

Se seleccionaron 10 frutos para la caracterización física (peso, diámetro, longitud, volumen, firmeza) y química (pH, °Brix y acidez titulable), empleando los métodos de la AOAC (Horwitz, 2000). Para la determinación de la tasa de respiración, por cada tratamiento se usaron dos cámaras de vidrio de cierre hermético para medir la respiración, colocando ~1 kg de fruta en cada cámara y posteriormente almacenándolos en refrigeración a 4 °C y 85% de HR por 10 semanas durante las cuales se midió la generación de CO₂; 5 tomates de árbol se emplearon para la determinación del contenido de materia soluble en la pulpa. Aproximadamente 2 kg de fruta fresca fueron liofilizados y almacenados en frascos de vidrio ambar a -20°C para la cuantificación de polifenoles solubles totales (Folin y Ciocalteu, 1927), evaluar la actividad antioxidante (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998; Mermelstein, 2008) y determinar ácidos fenólicos (Ramamurthy *et al.*, 1992).

Todos los tratamientos causaron la disminución de peso y tamaño en relación con los frutos testigo; siendo los tratamientos de agua, 4 y 5, los que mayor afección causaron a estas propiedades físicas. Los atributos sensoriales y la tasa de respiración no se vieron afectados por los factores de estrés. El tomate de árbol tiene el comportamiento de un fruto no climatérico. En general no se observó ningún efecto de los tratamientos de estrés sobre el pH, °Brix y acidez titulable. El Tratamiento 5, corte drástico de agua de riego, incrementó el contenido de polifenoles solubles totales en 6% y la capacidad antioxidante en 3%. Los tratamientos de sombra causaron un efecto negativo sobre el contenido de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante, ya que conforme se incrementó el porcentaje de sombra en las plantas, se redujo la concentración de estos

compuestos. De todos los ácidos fenólicos analizados, solo se detectó ácido gálico, que al igual que los polifenoles solubles totales y la capacidad antioxidante aumentó con el tratamiento de estrés drástico de agua, de 2.13 mg de ácido gálico/100 g FF a 2.28 mg de ácido gálico/100 g FF.

5 REFERENCIAS

- Abreu I., Mazzafera, P. 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry* 43:241-248.
- Albornoz G. 1992. El Tomate de Árbol (*Cyphomandra betaceae* Sendt) en el Ecuador. Quito: FUNDAGRO. 130 p.
- Azcón-Bieto J., Talón, M. 2001. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Primera ed. Barcelona: McGraw-Hill Interamericana de España S.A. 522 p.
- Benzie I.F.F., Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239:70-76.
- Bernal J., Díaz, C. 2003. Tecnología para el Cultivo del Tomate de Árbol. Rionegro, Antioquía: Corpoica. 127 p.
- Bioiberica. 2007. Fisiología Vegetal. Barcelona. 1 p.
http://www.bioiberica.com/veg_fisio_estres1.asp#digestive
- Bohnert H., Nelson, D., Jensen, R. 1995. Adaptation to Environmental Stresses. *The Plant Cell* 7:1099-1111.
- Boyes S., Strübi, P. 1997. Organic acid and sugar composition of three New Zealand grown tamarillo varieties (*Solanum betaceum* (Cav.)). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 25:79-83.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* 56(11):317-333.
- Cadena E. 2000. Estudio de Prefactibilidad para el Tomate de Árbol. Quito: Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Servicio de Información y Censo Agropecuario (SICA). 122 p.
- Calderón D. 2007. Extraction of phenolic compounds from tree tomato (*Solanum betaceum* Sent). Gent: Universiteit Gent and Katholieke Universiteit Leuven. 117 p.
- Cantwell M. 2000. Tamarillo. Davis, CA: Universidad de California. 2 p.
- CORPEI. 2006. TAMARILLO - TOMATE DE ARBOL. Quito: Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones (CORPEI). 2 p.
- Eroski F. 2005. Tamarillo. Frutas sabrosas, saludables, imprescindibles. Vizcaya. p 5.

- FAO. 2003. Food energy methods of analysis and conversion factors FAO – Food and Nutrition Paper. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). p 12-13.
- Feicán C., Encalada, C., Larriva, W. 1999. El Cultivo del Tomate de Árbol. Cuenca: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). 47 p.
- Fitter A., Hay, R. 2002. Environmental Physiology of Plants. Tercera ed. Londres: Academic Press. 367 p.
- Folin, O., Ciocalteu, V., 1927. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. Biol. Chem.* 73, 627-650.
- Fundación Wong. 2005. Identificación, Desarrollo, Manejo y Diseminación de Nuevas Técnicas Agronómicas para la Bioacumulación del Principio Activo en Plantas Medicinales de Exportación.
- Gallo F. 1997. Manual de Fisiología, Patología Post-cosecha y Control de Calidad de Frutas y Hortalizas. Segunda ed. Armenia: Convenio SENA - REINO UNIDO.
- García M.C., García, H.R. 2001. Manejo Cosecha y Postcosecha de Mora, Lulo y Tomate de Árbol. (CORPOICA) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Bogotá: Produmedios. 107 p.
- Grijalva J. 2001. Cultivo del Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea*). Manual de Frutales. Quito: Escuela Politécnica del Ejército - Facultad de Ciencias Agropecuarias (IASA). p 6.
- Heiser C., Anderson, G. 1999. "New" Solanums. Alexandria, VA. 379 - 384 p.
- Hsiao T. 1973. Plant Responses to Water Stress. *Plant Physiology* 24:519-570.
- Horwitz, W., 2000. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Décima séptima ed.; Maryland, Vol. II.
- INIAP. 2004a. Informes Técnicos Anuales del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).
- INIAP. 2004b. Manual del Cultivo de Tomate de Árbol (*Solanum betaceum* Cav.) Proyecto IQCV 008: Generación y Difusión de alternativas tecnológicas para mejorar la productividad del tomate de árbol y babaco en la sierra ecuatoriana. Cuenca: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Programa de Fruticultura. PROMSA. 51 p.

- Kader A., Adaskaveg, J., Arpaia, M.L., Barrett, D., Bruhn, C., Cantwell, M., Cook, R., Crisosto, C., Edwards, D., Förester, H., Fortlage, R., Gorny, J., Harris, L., Kitinoja, L., Mitcham, E., Mitchell, G., Mitchell, J., Reid, M., Sommer, N., Suslow, T., Thompson, J., Zagory, D. 2002. Postharvest Technology of Horticultural Crops. Tercera ed. California: University of California. 535 p.
- Lascano V. 2001. Estudio de Competitividad del Tomate de Árbol. Quito: Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Servicio de Información Censo Agropecuario (SICA). 101 p.
- León J., Viteri, P., Cevallos, G. 2004. Manual del Cultivo de Tomate de Árbol. Quito: INIAP - PROMSA 51 p.
- Macheix J-J., Fleuriet, A., Billot, J. 2000. Fruit Phenolics. Boca Ratón, Florida: CRC Press, Inc. 378 p.
- MAG, IICA. 2000. Identificación de Mercados y Tecnología para Productos Agrícolas Tradicionales de Exportación. Tomate de Árbol Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Márquez C. J., Otero, M., Misael, C. 2008. Cambios Fisiológicos, Texturales, Fisicoquímicos y Microestructurales del Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en Poscosecha. VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica 14:1 - 11.
- Martínez-Valverde I., Periago M., Ros G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 50 (1), 5-18.
- Marx F., Burger-Rodrigues, R., Gordon, A., Papagiannopoulos, M. 2007. Bioactive substances in tropical fruits - An evaluation with TOSC assay and "activity guided" RP-HPLC-fractionation. CIBIA VI 16:4.
- Mermelstein N. 2008. Determining Antioxidant Activity. Food Technology Magazine 62(11):63 - 66.
- MMRREE. 2005. Luz Verde para Exportación de Tomate de Árbol Ecuatoriano a España. Ministerio de Relaciones Exteriores del Ecuador.
- Ordóñez R. M., Vattuone, M., Isla, M. 2005. Changes in carbohydrate content and related enzyme activity during *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn. fruit maturation. Postharvest Biology and Technology 35:293-301.

- Pokorny J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. Antioxidants in Food. Cornwall, Inglaterra: CRC Press. 380 p.
- Prada P., Basto, G. 2004. Prácticas Recomendadas para el Manejo de Cultivo de Tomate de Árbol. Bogotá: Produmedios. 89 p.
- Prior R., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements Journal of Agriculture and Food Chemistry 53(8):3101 - 3113.
- Prohens J., Nuez, F. 2000. The Tamarillo (*Cyphomandra betacea*): A Review of a Promising Small Fruit Crop. Valencia: The Haworth Press Inc. 43-67 p.
- 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 & Medicine 26:1231-1237.
- Rizzo P. 2005. Tomate de Árbol. Proyecto SICA – MAG. Servicio de Información y Censo Agropecuario del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/ing%20rizzo/nuevos%20exportables/tomate_arbol.htm
- Salisbury F. B., Ross, C. W. 2000. Fisiología de las Plantas. Madrid: Thomson Editores. 988 p.
- Sánchez-Moreno C., Larrauri, J. A., Saura-Calixto, F. 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. Journal of Science Food Agriculture 76:270-276.
- Sánchez A., López, I., Salazar, J., Fiallos, V. 1996. Manejo Integral del Cultivo del Tomate de Árbol: FAO - MAG Proyecto FAO/TCP/EQU/2353. 29 p.
- Soria N. 2000a. Tecnología del Cultivo de Tomate de Árbol. Quito: Servicio de Información y Censo Agropecuario (SICA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador (MAG). 3 p.
- Soria N. 2000b. Tecnología Poscosecha del Cultivo de Tomate de Árbol. Quito: Servicio de Información y Censo Agropecuario (SICA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador (MAG). 4 p.
- Soria N. 2006. Tomate de Árbol. Genotipos cultivados en Ecuador. Quito.
- Taiz L., Zeiger, E. 2006. Plant Physiology. Cuarta ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc Publishers. 764 p.

- Vasco C. 2005. Qualitative and Quantitative Analysis of Phenolic Compounds with Antioxidant Capacity in a Selection of Fruits and Vegetables Cultivated in Ecuador. Quito-Ecuador. Gothemburg-Suecia: Escuela Politécnica Nacional. Chalmers University of Technology. 100 p.
- Wills R., McGlasson, B., Graham, D., Joyce, D. 1998. Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Segunda ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A. 240 p.

ARTÍCULO I

CARACTERIZACIÓN POSTCOSECHA DE 4 GENOTIPOS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) CULTIVADOS EN ECUADOR

Ávila Jenny; Ruales, Jenny
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
Casilla 17-01-2759. E. mail. jruales@pi.pro.ec
QUITO – ECUADOR

Palabras clave: caracterización físico – química postcosecha, tasa de respiración, no climatérico, polifenoles, tomate de árbol.

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue realizar la caracterización en postcosecha y determinar el contenido de polifenoles de 4 genotipos de tomate de árbol cultivados en Ecuador. Se estudiaron los genotipos Amarillo Gigante, Amarillo Redondo, Amarillo Puntón y Morado Gigante, cosechados con una madurez de consumo (70% de color externo) y almacenados a 4°C y 85% HR. Los 4 genotipos presentaron el patrón de frutos no climatéricos, el genotipo amarillo puntón presentó la intensidad más alta de respiración con una vida útil de 6 semanas en almacenamiento. Los frutos del genotipo morado gigante presentaron mayor peso, diámetro, longitud, volumen, rendimiento de pulpa, acidez titulable, concentración de sólidos solubles totales y materia soluble en la pulpa. El genotipo amarillo redondo presentó mayor contenido de semillas y luminosidad en cáscara. El genotipo amarillo gigante presentó mayor luminosidad en la pulpa. El genotipo amarillo puntón presentó mayor concentración de materia soluble en la cáscara. Mayor concentración de polifenoles solubles totales se cuantificó en la cáscara del genotipo amarillo puntón y pulpa del morado gigante.

INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol o tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) es una especie nativa de los Andes (Hernández y León, 1992; Albornoz, 1993; Bravo, 1998; Soria Idrovo, 2001; Bernal y Días, 2003; León *et al.*, 2004), específicamente de Perú, Ecuador y Colombia (Soria Idrovo, 2001). Ésta fruta perteneciente a la familia de las Solanáceas, se cultiva en las zonas de climas templados y frescos de la sierra ecuatoriana, en altitudes comprendidas entre 600 a 3300 m.s.n.m., con temperaturas óptimas de entre 14 a 20°C y HR de 70% (Albornoz, 1993; Soria Idrovo, 2001).

En el Ecuador, el consumo de tomate de árbol ha tenido un desarrollo significativo en los últimos 15 años (FAO y MAG, 1996; Soria Idrovo, 2001; SICA, 2002), consumiéndose en campos y ciudades de Ecuador y Colombia, lo que ha incrementado también las áreas cultivadas. Según el III Censo Agropecuario y la Agencia de Servicio Agropecuario del Ministerio de Agricultura del Ecuador, las provincias representativas de este cultivo son: Imbabura (6.280 TM), Tungurahua (5.495 TM), Azuay (2.650 TM) y Pichincha (2.301 TM) (CORPEL; MAG y IICA, 2001; SICA, 2002).

Dado que muchos de los huertos en Ecuador están constituidos por al menos de dos cultivares, predominando los anaranjados por su mayor valor comercial y en menor cantidad los morados (León *et al.*, 2004), la mayor cantidad de producto disponible no es homogéneo. Sin embargo, hay que aprovechar las ventajas comparativas existentes frente a otros países, ya que las condiciones agroecológicas óptimas que favorecen la óptima producción (Soria Idrovo, 2001), como temperaturas estables a lo largo de todo el año y prolongados períodos de luminosidad de la zona ecuatorial determina que la fruta tenga un mejor desarrollo en sus almidones, lo que resulta en un sabor menos ácido y muy agradable (CORPEL).

El genotipo más difundido es la tradicional anaranjado, habiéndose introducido últimamente el tomate “morado”, de color morado y pulpa más rojiza, pero de palatabilidad inferior (MAG y IICA, 2001).

Los genotipos que se producen en el Ecuador son (CORPEL):

- Tomate común, que es el preferido en la industria y por el consumidor
- Tomate mora, que es el segundo en aceptación
- Tomate redondo, que ya se esta perdiendo.

Otros autores (Feicán *et al.*, 1999; León *et al.*, 2004), aseguran que existe un genotipo mas, el tomate puntón anaranjado, cuya producción también ha disminuido. El sabor de la fruta difiere en su mezcla de sabor dulce y agrio según el genotipo (CORPEL).

El objetivo de éste trabajo es el de realizar un caracterización físico – química en la postcosecha y determinación de polifenoles solubles totales de 4 genotipos de tomate de árbol cultivados en Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se usaron cuatro genotipos de tomate de árbol: Amarillo Gigante (AG), Amarillo Redondo (AR), Amarillo Puntón (AP) y Morado Gigante (MG), los dos primeros genotipos fueron cosechados en al granja experimental de Tumbaco del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias–INIAP; los otros dos, fueron cosechados en plantaciones del cantón Patate de la provincia de Tungurahua.

Métodos.

Caracterización físico – química de postcosecha

Peso Inicial y Pérdida de Peso. Se pesó la fruta el mismo día que fue cosechada (día 0) y se midió el peso en gramos cada siete días, para determinar la pérdida de peso por diferencia de peso durante el tiempo de almacenamiento.

Longitud de la fruta. Tomando los extremos sobresalientes.

Diámetro de la fruta. Se determinó en la parte más ancha de cada fruta.

Volumen de la fruta. Se registró midiendo la cantidad de agua que desplaza el fruto.

Color de la fruta. Se determinó el color de la cáscara (parte externa) y de la pulpa (mitad transversal) del tomate de árbol en tres puntos diferentes empleando el colorímetro triestímulo (Minolta, modelo CR-200). Los resultados se expresan como *L* (luminosidad) y el ángulo de tono o *ángulo de Hue*.

Firmeza: Se midió la fuerza de penetración en Newtons (N) con la ayuda de un penetrómetro con un punzón de 6 mm que atravesó la fruta en el eje central (Horwitz, 2000). Para determinar la acidez, pH y grados Brix, se preparó un jugo de tomate de árbol con agua destilada.

Acidez: Se empleó el método de acidez titulable según el AOAC, 942.15, 37.1.37. (Horwitz, 2000).

Sólidos Solubles Totales (%Brix): Se usó el método de sólidos solubles totales descrito por AOAC, 37.1.15 (Horwitz, 2000).

pH: Se determinó según el método de AOAC, 981.312, 42.1.04 (Horwitz, 2000).

Determinación de Materia Soluble. Se empleó el método descrito en AOAC, 920.151, 37.1.12 (Horwitz, 2000).

Determinación de la tasa de respiración. Se determinó en función de la producción de CO₂, medido en un analizador de gases *Post Harvest Research* provisto de un detector infrarrojo Horiba para CO₂ modelo VIA-510. Las muestras se tomaron cada semana de las mangueras de la entrada y salida de la cámara de respiración.

Determinación de polifenoles solubles totales. Se empleó el método de Folin-Ciocalteus (Bravo, 1998); y para la extracción una modificación del método desarrollado por Määttä *et al.*, 2001 (Määttä *et al.*, 2001; Vasco, 2005).

Análisis Estadístico.

Los resultados fueron analizados utilizando el análisis de varianza ANOVA ONE WAY, con la prueba de Tukey con límites de confiabilidad del 95%. Se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS Plus para Windows versión 5.1 (Statistical Graphics System, Statistical Graphics Corporation).

RESULTADOS

Caracterización. El genotipo Morado Gigante (MG) presentó mayor porcentaje de pulpa y menor porcentaje de cáscara que los otros genotipos. El que menor porcentaje de pulpa tiene es el genotipo Amarillo Puntón (AP), que también tiene el menor porcentaje de semilla.

Tabla 1. Rendimiento del porcentaje de cáscara, pulpa y semilla de 4 genotipos de tomate de árbol.

RENDIMIENTO DE LOS FRUTOS				
	AG	AR	AP	MG
Cáscara ¹	12,7±1,8	12,1±0,6	13,6±0,7	11,0±1,7
Pulpa ¹	87,0±2,6	87,1±0,6	86,2±0,7	88,6±2,5
Semilla ¹	0,4±0,1	0,4±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1

¹ Media ± DE (n=80)

El genotipo MG presentó mayores valores en las variables de peso, diámetro, alto y volumen. El genotipo AR tiene mayor luminosidad en la cáscara, mientras que el genotipo AG presentó mayor luminosidad en la pulpa.

Tabla 2. Caracterización de 4 genotipos de tomate de árbol.

CARACTERIZACIÓN				
Variable	AG	AR	AP	MG
Peso ¹ (g)	85.9±14.5	61.8±9.7	54.9±7.7	175.7±32.2
Diámetro ¹ (cm)	5.5±0.4	4.6±6.0	4.5±0.7	6.6±0.8
Alto ¹ (cm)	6.7±16.9	4.9±0.3	7.4±6.7	8.1±0.8
Volumen ¹ (ml)	83.9±14.3	57.2±16.4	50.6±8.6	179.3±39.9
L* Color cáscara ²	52.5±1.8	53.2±2.6	43.6±3.6	35.2±2.7
L* Color pulpa ²	53.2±1.5	50.7±1.4	51.9±3.4	34.3±4.9
Hue Externo ²	124.9±6.7	120.2±2.4	141.8±5.7	154.9±4.8
Hue Interno ²	108.7±1.4	106.5±1.6	104.4±3.0	133.8±7.4

¹ Media ± DE (n=80)

Firmeza. Los genotipos AG y AR presentan mayor pérdida de firmeza a la cuarta semana de almacenamiento, mientras que MG tiene una rápida pérdida de textura a partir de la segunda semana de almacenamiento. La firmeza del genotipo AG es significativamente mayor ($p<0.05$) en la segunda semana y cuarta semana a los demás genotipos. Los genotipos AR y MG son los que mayor firmeza perdieron, ya que pierden hasta el 75.58% de su textura inicial.

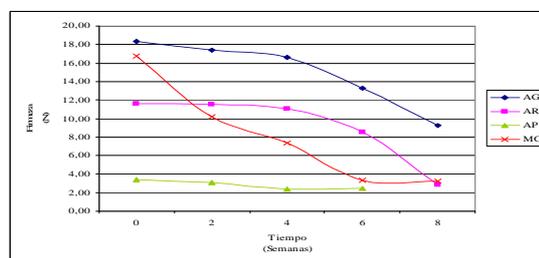


Figura 10. Pérdida de firmeza de 4 genotipos cultivados en Ecuador.

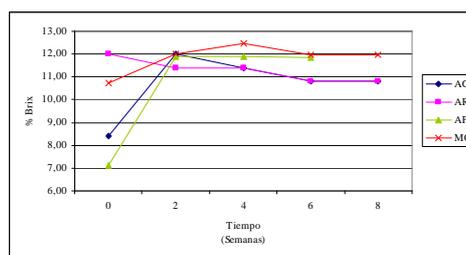
pH. Los valores de pH para la primera semana de almacenamiento, muestra una diferencia significativamente menor ($p<0.05$) del genotipo AG frente a los genotipos AR y AP que presentan el mismo valor de pH y el genotipo MG que tiene el mayor valor (3.63). A partir de la semana 4 se observa un valor significativamente mayor ($p<0.05$) del pH del genotipo AR que se mantiene hasta la última semana de almacenamiento. En la semana 8 se observa un pH significativamente menor ($p<0.05$) del genotipo AG, frente a los genotipos AR y MG.

Tabla 3. Variación del pH durante el almacenamiento de 4 genotipos de tomate de árbol.

Semana	pH			
	AG	AR	AP ¹	MG
0	2.2±0.07	3.5±0.01	3.5±0.01	3.6±0.01
4	3.5±0.01	3.8±0.01	3.5±0.01	3.4±0.01
8	3.5±0.01	3.7±0.01	3.8±0.01 ¹	3.6±0.02

¹ Sexta semana de almacenamiento

Sólidos Solubles Totales (%Brix). Los 4 genotipos presentaron diferentes porcentajes de sólidos solubles totales a la primera semana de análisis, siendo significativamente diferentes ($p<0.05$) entre sí. El mayor porcentaje lo presentó el genotipo AR y el menor el genotipo AP. En la semana 4 el genotipo MG presenta un porcentaje significativamente mayor ($p<0.05$) a los demás.



* AP durante 6 semanas de almacenamiento.

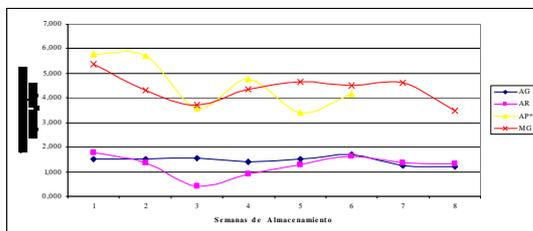
Figura 11. Sólidos Solubles Totales (% Brix) de 4 genotipos de tomate de árbol durante 8 semanas de almacenamiento.

Acidez. Para la primera semana de almacenamiento se observa diferencia significativa ($p<0.05$) entre los genotipos AG (0.40%) y AP (0.40%) frente a AR (0.25%) y MG (0.30%), siendo los primeros genotipos los de mayor acidez titulable. Para la cuarta semana se observa que el genotipo MG presenta un porcentaje de acidez (0.33%) significativamente mayor ($p<0.05$) que el resto de los genotipos. A la semana 8 la acidez del genotipo AG (0.33%) es significativamente mayor ($p<0.05$) que los genotipos AR (0.25%) y MG (0.28%).

Materia Soluble. No existe diferencia significativa ($p<0.05$) entre los 4 genotipos en el contenido de agua en la pulpa. En la humedad presente en la cáscara el genotipo AP (82.10%) presenta una diferencia significativa ($p<0.05$) frente a los genotipos AG (76.61%) y AR (77.31%), El genotipo MG

(80.19%) no presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los demás genotipos.

Tasa de Respiración. Todos los genotipos presentan una tendencia similar, que corresponde al modelo de una fruta no climatérica. Se observan dos grupos, donde los genotipos AG y AR presentan menor tasa de respiración que los genotipos AP y MG. Esta diferencia se puede atribuir a la localidad y diferentes condiciones de cultivo de los genotipos.



* AP durante 6 semanas de almacenamiento.

Figura 12. Tasa de Respiración de los 4 genotipos de tomate de árbol durante 8 semanas de almacenamiento.

Polifenoles. El contenido de polifenoles se evaluó en la cáscara y pulpa de los 4 genotipos de tomate de árbol. El genotipo con mayor contenido en la cáscara es AP, que presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) frente a los genotipos AR y MG. El genotipo AG es el que menos contenido de polifenoles presenta en la cáscara. En los análisis realizados en la pulpa, el genotipo MG presenta mayor concentración de polifenoles solubles totales, siendo su valor significativamente diferente ($p < 0.05$) a los demás genotipos. Los genotipos AG y AP, no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) entre sí; el genotipo AR presenta la menor concentración de polifenoles en la pulpa.

Tabla 4. Polifenoles Solubles Totales en la cáscara y pulpa de 4 genotipos de tomate de árbol.

Genotipo	Polifenoles ¹	
	Cáscara	Pulpa
AG	324,859 ± 2.88	87,627 ± 1.52
AR	389,250 ± 7.07	68,845 ± 2.24
AP	433,786 ± 0.245	93,448 ± 0.87
MG	384,739 ± 1.43	139,082 ± 4.07

¹ mg de polifenoles solubles totales/100 g de muestra fresca

CONCLUSIONES

El genotipo MG es el que mayor porcentaje de pulpa y menor porcentaje de cáscara presentó en referencia al rendimiento. El mayor contenido en semillas lo presentó el genotipo AR. El genotipo MG presentó mayor peso, diámetro, longitud y volumen. La mayor luminosidad en la cáscara la presentó el genotipo AR y en la pulpa el genotipo AG. El genotipo MG pierde drásticamente su firmeza a partir de la segunda semana de almacenamiento, los otros genotipos presentan una variación escalonada durante el almacenamiento. El genotipo MG presentó la mayor cantidad de sólidos solubles totales a partir de la segunda semana de almacenamiento. Para todos los genotipos la acidez titulable final (semana 8) es menor que la inicial (semana 0), aunque existen variaciones durante el almacenamiento, siendo el genotipo MG el que presentó mayor porcentaje de ácidos. El genotipo AP tuvo el mayor porcentaje de humedad en la cáscara y el genotipo MG el mayor porcentaje de humedad en la pulpa. El patrón de respiración de los 4 genotipos corresponde al de las frutas no climatéricas. El genotipo AP mostró la mayor tasa de respiración, que indica que es más perecible que los demás genotipos, ya que su vida útil de almacenamiento fue de 6 semanas mientras que los otros genotipos alcanzaron 8 semanas. El contenido de polifenoles solubles totales más elevado se observa en la cáscara del genotipo AP y pulpa del MG.

AGRADECIMIENTO

Este estudio fue financiado por el Proyecto PAVUC FP6-2003-INCO-DEV-2. Los autores agradecen al Ing. Juan León del INIAP-Tumbaco por el apoyo técnico en las actividades agronómicas durante la producción de las muestras de tomate de árbol.

BIBLIOGRAFÍA

- Alborno G. 1993. El Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt) en el Ecuador. Quito: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. Fundación para el Desarrollo Agropecuario (Fundagro). 129 p.
- Bernal J, Días, C. 2003. Tecnología para el Cultivo del Tomate de Árbol. Medellín: Imp. Begón Ltda. 144 p.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance. *Nutritional Rev.* 317-33.
- CORPEI. TAMARILLO - TOMATE DE ARBOL
- FAO, MAG. 1996. Manejo Integral del Cultivo del Tomate de Árbol. Quito: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación-FAO. Ministerio de Agricultura y Ganadería-MAG. Proyecto FAO/TCP/ECU/2353. 29 p.
- Feicán C, Encalada, C, Larriva, W. 1999. El Cultivo del Tomate de Árbol. Cuenca: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) Programa de Fruticultura. Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSEDU). 47 p.
- Hernández BJE, León, J. 1992. Cultivos Marginados, otra perspectiva de 1492. 92 PecceJBdCEeeddPE, editor. Roma: Colección FAO.
- Horwitz W. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17 ed. Maryland.
- León J, Viteri, P, Cevallos, G. 2004. Manual del Cultivo de Tomate de Árbol. Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias-INIAP. Programa de Fruticultura. Ministerio de Agricultura y Ganadería-MAG. Tecnigrava. 51 p.
- Määttä K, Kamal-Eldin, A, Törrönen, R. 2001. Phenolic Compounds in Berries of Black, Red, Green and White Currants (*Ribes* sp.). *Antioxidants & Redox signaling.* 3(6):981-93.
- MAG, IICA. 2001. Identificación de Mercados y Tecnología para Productos Agrícolas Tradicionales para Exportación. Tomate de Árbol: CONVENIO MAG/IICA. Subprograma de Cooperación Técnica. (Préstamos BID / MAG 831/OC y 832/OC - EC).
- SICA. 2002. III Censo Nacional Agropecuario. Proyecto SICA. Servicio de Información y Censo Agropecuario.
- Soria Idrovo N. 2001. Tecnología del Cultivo de Tomate de Árbol. Proyecto SICA.
- Vasco C. 2005. Qualitive and Quantitive Analysis of Phenolic Compunds with Antioxidant Capacity in a Selection of Fruits and Vegetables Cultivated in Ecuador. M. Sc. Thesis Quito-Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. 46 p.

ARTÍCULO II

Fruit physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.)

CATALINA VASCO^{1,2,*}, JENNY AVILA², JENNY RUALES², ULF SVANBERG³,
AFAF KAMAL-ELDIN¹

¹Department of Food Science, Swedish University of Agricultural Sciences, P. O. Box 7051, 750 07 Uppsala, Sweden.

²Department of Food Science and Biotechnology, Escuela Politécnica Nacional, P.O. Box 17-01-2759, Quito, Ecuador.

³Department of Chemical and Biological Engineering/Food Science, Chalmers University of Technology, SE-412 96, Gothenburg, Sweden.

Abstract

Golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) cultivated in Ecuador were studied for their physicochemical characteristics and antioxidant properties. Fruits were purchased at two main markets and studied for physical properties (weight, size and firmness) and proximate composition, pH, °Brix, acidity, sugars, organic acids, mineral ions, vitamin C, and β-carotene in the edible part. For the total phenolic compounds and antiradical efficacy, fruits were separated in peel, pulp and seed jelly. Results were then compared to those of Romero-Rodriguez (1994) on Spanish fruits. The Ecuadorian fruits were larger in size (107 and 188 g) than the Spanish fruits (43 and 63 g) for golden-yellow and purple-red fruits, respectively. The purple-red Spanish tamarillo was more firm than the Ecuadorian but was generally similar in chemical composition except that fat (0.72 and 0.6 %) and malic acid (0.32 and 0.53 %) contents in the golden-yellow and purple-red Ecuadorian fruits were

approximately fourteen, eight, five and ten times higher than in the Spanish ones. In general, the tamarillo is a very good source of minerals, especially potassium (~400 mg/100g FW). The contents of total soluble polyphenols in the golden-yellow and purple-red varieties were 125 and 187 mg gallic acid equivalents/100g FW, respectively. The golden-yellow variety had a weaker anti-DPPH radical activity than the purple-red variety. In both fruits, the peel showed higher antiradical efficacy than the pulp and seed jelly. Quercetin and myricetin were only found in the peel of both varieties while hydroxycinnamic acid derivatives were found in both the peel and pulp.

Keywords: Tamarillo, tree tomato, *Solanum betaceum* Cav., *Solanaceae*, antioxidants, phenolic compounds

Correspondence: Catalina Vasco, M.Sc., Department of Food Science, Swedish University of Agricultural Sciences, P. O. Box 7051, 750 07 Uppsala, Sweden. Tel.: +46 18 672063. Fax: +46 18 672995. E-mail: Catalina.Vasco@lmv.slu.se

Introduction

Tree tomato “tomate de árbol”, a *Solanaceae* fruit (Figure 1) is native to the Ecuadorian-Peruvian Andes and is also cultivated in New Zealand where it was given the name tamarillo. The plant was first given the botanical name *Solanum betaceum* by the Spanish botanist Cavanilles, later transferred to *Cyphomandra betacea* by Sendtner and back to *Solanum* by Bohs (Bohs 1995). The fruit (4-10 cm long and 3-5 cm in diameter) is egg-shaped with purplish-red or yellow-orange glossy skin, a yellowish-orange firm flesh, and a jelly with seeds that can be orange or deep purple in the center (Figure 1). The most popular variety of tamarillo in Ecuador has always been the traditional orange tree tomato that gives golden-yellow fruits but later the “mora” tree tomato, having a purple-red colored fruits with a more acid taste was introduced. The fruits are eaten fresh, blended with milk or water, cooked in stews and sauces, and incorporated to deserts and salads. According to Ecuadorian folk medicine, the fruit including the peel is used as an antimicrobial/anti-inflammatory treatment of sore throat and healing gums as well as a cholesterol-lowering food. The fruit is believed to have a bright future because of flexible uses and the long production season (Prohens and Nuez 2000).

Studies on the chemical composition of tree tomato fruits are limited. The fruit, typically acidic, is recommended for the nutritional qualities as a good source of pro-vitamin A, vitamins C, B₆, E and iron (Popenoe, King et al. 1989; Romero-Rodriguez, Vazquez-Orderiz et al. 1994; Wills, McGlasson et al. 1998; Rosso and Mercadante 2007). It is also high in pectin, low in calories and contains a specific lectin in the cell walls of the fruit tissues and seed coat (Xu, Birtles et al. 1993). The presence of some anthocyanin pigments, flavones, flavonols and leucoanthocyanins was reported in the

purple-red seed jelly, with delphinidin-3-rutinoside being the major anthocyanin (Wrolstad and Heatherbell 1974; Rosso and Mercadante 2007). The main volatiles responsible for the aroma of the fruit were characterized as *trans*-3-hexenal, *cis*-3-hexenol, and methyl hexanoate, 3-hydroxybutanoates, and 3-hydroxyhexanoates giving the fruity notes, and eugenol and 4-allyl-2,6-dimethoxyphenol responsible for the spicy note (Torrado, Suárez et al. 1995).

In this paper, we investigated the physicochemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties from Ecuador and determined the antiradical efficacy of the fruit as well as the contents of vitamin C, β -carotene, and anthocyanins. In addition, we determined the content of total phenolic compounds, and the quantification of hydroxycinnamic acids, quercetin, and myricetin in the pulp, peel and seed jelly of the fruits.

Materials and methods

Samples

Golden-yellow and purple-red tree tomatoes (*Solanum betaceum*, Cav.) were purchased at edible ripeness (70% of final color in the peel, estimated against a reference color chart) at one of the main markets of Tungurahua and Pichincha provinces in Ecuador. Some fruit samples (~1 kg) were selected and cleaned to measure physical and chemical characteristics. Other samples were cleaned, peeled, chopped, and stored at -40°C until freeze drying. Moisture content was measured in fresh and freeze-dried samples in a vacuum oven (70°C for 6 hours). The samples were then packed and stored at -20°C until they were analyzed.

Chemicals

Folin-Ciocalteu reagent (2.0 N), gallic acid, DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), tungstosilicic acid hydrate, 4-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid, (+)-catechin and (-)-epicatechin were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), and sodium carbonate anhydrous was from J.T. Baker (Phillipsburg, NJ). Flavonoids standards (quercetin dehydrate, myricetin, and kaempferol) were purchased from Fluka. Solvents and other reagents were of analytical grade and solvents used for chromatography were of HPLC grade.

Physical and Chemical Characterization

For the physical characterization, 10 pieces were taken (~1 kg fruit) and weight, height, diameter, and pulp, seed and peel yield were determined according to the National Organism of Normalization (INIAP 2004). The firmness was measure with a penetrometer McCormick FT 327 (McCormick, Yakima USA) according to the User Handbook (McCormick) on fresh pulp using a 6 mm plunger tip. For pH, titratable acidity and °Brix, five peeled tamarillos were blended, 40g of the paste mixed with 200 mL of distilled water and the measurements performed according to the AOAC Official Methods (Horwits 2000). The moisture content was determined after drying at 70°C for 6 hours under vacuum (920.151, 37.1.12), ash by calcination at 525°C for 6 hours (940.26, 37.1.18), protein (2001.11) and ether extract (920.85, 32.1.13) were also analyzed according to AOAC (Horwits 2000). Reference methods were used for the determination of total, soluble and insoluble dietary fiber (Asp, Johansson et al. 1983), sugars (ASTEC), organic acids (Pérez, Olías et al. 1997), and minerals using Atomic

absorption after microwave digestion with HNO₃ 65% and H₂SO₄ 98% (Abdulla 1986). The same blended pulp (10 g) was washed with ethanol 90% with intermittent centrifugation (4000 rpm x 15 min) until colorless. The white residue was dried at 60°C overnight to determine alcohol-insoluble material (Voragen 1980), cellulose and hemicellulose (Van Soest 1981), lignin and galacturonic acids (Theander and Westerlund 1986).

For statistical analysis, the STATGRAPHICS plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Warrenton, USA) was used. The t- test was performed on the results shown in Table I. For all spectrophotometric analyses a Shimadzu UV-160A spectrophotometer (Kyoto, Japan) was used.

1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH[•]) assay

For the DPPH[•] assay and total soluble polyphenols content, 1 g of freeze dried sample was extracted with 20 mL of 50% methanol: water (v/v) for 1 h, centrifuged (4000 rpm x 15 min) and the supernatant was collected in a 50 mL volumetric flask. The residue was extracted for a second time with 20 mL of 70% acetone: water (v/v) for 1 h, centrifuged (4000 rpm x 15 min). The supernatants were pooled and the volume made up to 50 mL with distilled water.

The antiradical efficacy was assessed using the DPPH[•] method as described by (Sánchez-Moreno, Larrauri et al. 1998). An aliquot of the sample extract (0.1 mL) was added to a solution with 0.025 g/L of DPPH[•] in methanol (3.9 mL) in a 4 mL cuvette. The absorbance was measured at 515 nm at time zero and every 10 seconds until the reaction reached the plateau. Antiradical efficacy was reported in µmol Trolox /g FW. A standard curve was constructed in ethanol using a 2.5 mM Trolox stock solution (range 0.3 – 2.5 nM).

Selected antioxidants (Vitamin C, β -carotene and anthocyanins)

Vitamin C was determined as ascorbic acid according to the method described by Van Niekerk (1988). The sample (3g) was extracted with 30 mL of metaphosphoric acid (3%) and 5 mL of homocistein (0.2%) under nitrogen using an Ultrasonic Bath for 15 min. The volume was made up to 50 mL with distilled water, centrifuged at 6000 rpm and 4°C. The supernatant was then filtered and injected to the HPLC. The column was a LiChrospher 100 NH₂ (250 mm, 4 mm i.d, 5 μ m) with a flow of 1mL/min with UV detector at 244 nm. An isocratic separation was run using a mixture of KH₂PO₄ (0.25%, pH 3.5) and methanol 50:50 (v/v) for 7 min. The Chromatographic system consisted on a Hewlett Packard 1050 multi-solvent delivery HPLC system provided with a 1050 PDA with a Peak 96 Chromatography Software to acquire and process chromatographic data (Waldbronn Analytical Division, Germany).

Carotenoids were determined according to the method described by Pettersson and Jonsson (1990). Remoistened freeze dried samples (0.250 g) were extracted using acetone: ethanol (50:50 v/v) until colorless. The pooled supernatants were then extracted with petroleum ether and the later extract evaporated to dryness and dissolved in 10 mL of the mobile phase (methanol: tert-butyl-ether: water, 56:40:4). A 25 min isocratic separation was run in an YMC carotenoid column (250 mm x 4.5 mm i.d x 5 μ m) at 1 mL/min flow rate using UV-vis detector at 450 nm. The HPLC system used was the previous described for Vitamin C.

Total anthocyanins content was measured according to the method described by Abdel-Aal and Hucl (1999). The sample (50 mg) was extracted with 24 mL ethanol: HCl 1N

(85:15 v/v) for 30 min with continuous mixing. Then the pH of the mixture was adjusted to 1 and centrifuged for 15 min. Finally the supernatant was made up to 50 mL with the same extraction mixture ethanol: HCl 1N and the absorbance were read on the spectrophotometer at 535 nm.

Total soluble polyphenols content

The total content of soluble phenols was measured with a modified Folin and Ciocalteu method (Folin and Ciocalteu 1927), based on the reduction of a phosphowolframate phosphomolybdate complex to blue products by phenolic compounds. Briefly, an aliquot (0.5 ml) of the extract was placed in a 25 ml flask, where the Folin-Ciocalteu reagent (0.5 ml) was added and after 3 min under continuous stirring, 10 mL of a solution of sodium carbonate (75 g/L) was added and mixed well. The volume was made up to 25 ml with distilled water and left at room temperature for 1 h. The absorbance was measured at 750 nm. The results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) using a calibration curve over the range of 0.05 – 0.20 mg GAE/mL.

HPLC Analysis of phenolic compounds in aqueous extracts of tamarillo

An extract was prepared adding 50 mL of water containing ascorbic acid (4 g/L) to 0.5 – 1.0 g of freeze-dried peel, pulp and seed jelly. The mixture was subsequently homogenized for 2 min in an Ultra Turrax, centrifuged at 4000 rpm for 10 min and the supernatant was placed in a separatory funnel. Conjugated forms of phenolic acids and some flavonol glycosides were first extracted into ethyl acetate (5 x 20 mL), evaporated to dryness, re-constituted into methanol 5 mL (extract I). Separately, the solids were acidified with 2 M hydrochloric acid and residues of previously extracted phenolic compounds were extracted into methanol (20 mL + 3 x 10 mL), the extract was

evaporated to dryness, reconstituted into 5 - 10 mL methanol (extract II). Fat and carotenoids were removed using hexane until colorless in both occasions. Extracts I and II were acidified with concentrated HCl to a final concentration of 0.6 M to perform an acid hydrolysis and de-conjugate glycosilated phenolic compounds to aglycones.

Spectra matching with the corresponding spectrum of representative standards near the characteristic wavelengths of maximum absorption was used for classification of the compounds in their different classes. Standard stock solutions (1mg/mL) were prepared in methanol. Calibration curves were built in the range 0.125 – 1 mg/mL for 4-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, (+)-catechin, (-)-epicatechin, quercetin, myricetin, and kaempferol. Chlorogenic acid standard stock solution was 2 mg/mL and the range of the calibration curve 0.25 – 2 mg/mL.

A 150 mm x 3.9 mm i.d., 4 μ m, Nova Pack C₁₈ column was placed on the system described in 2.5. For the analysis of extracts I and II a 30 min gradient from 15 % to 30% acetonitrile in 1% formic acid was used at a flow rate of 1 mL/min. The chromatograms of extracts I and II were recorded at 280 nm for hydroxybenzoic acids and flavan-3-ols, 320 nm for hydroxycinnamic acids and 360 nm for flavonols. To analyze the de-conjugated forms (after hydrolysis) an isocratic separation was performed with a mobile phase consisting of 45% methanol in 0.025 M KH₂PO₄ (pH 2.4), with a flow rate of 0.9 mL/min (Hertog, Hollman et al. 1992). The Chromatographic system consisted on a Waters 600 multi-solvent delivery HPLC system, connected to a 996 PDA with a Millennium Chromatography manager to acquire and process spectral and chromatographic data (Waters, Milford, USA).

Alkaloids test

Tree tomato samples (2 g) were macerated with 20 mL ammoniacal chloroform (0.1 N NH_4OH), filtered and washed with another 10 mL of ammoniacal chloroform. To the filtrate, 6 mL of H_2SO_4 (2 N) were added, mixed vigorously and the aqueous and organic layers were allowed to separate. The aqueous phase was collected and placed in test tubes at different dilutions with H_2SO_4 . The original solution and the dilutions were treated with 3 drops of tungstosilicic acid (12 g in 100 mL of water) and the precipitate density evaluated.

Results and discussion

Physical characterization of the fruits

The edible part of the fruit in both varieties represented ~ 85 % while the rest being the peel. Golden-yellow and purple-red tree tomato fruits were studied for some of their physical and chemical characteristics such as size, pH, titratable acidity, proximate components, and minerals and the results were compared to those reported for Spanish fruits (Table I). In general, the Ecuadorian tree tomato fruits were significantly bigger in size than the Spanish fruits ($p < 0.05$) and the golden-yellow varieties from Ecuador and Spain were smaller than the respective purple-red ($p < 0.05$). The firmness or texture of the two varieties, measured as penetrometric force, was ~18 N similar to the values for the Spanish tamarillo (20-30 N, Table I), which is comparable to texture values for fruits such as mango (18.6 N) and hard nectarines (19.6 N) (Wang, Wang et al. 2007; Infante, Meneses et al. 2008).

Chemical characterization of the fruits

The golden-yellow and purple-red tree tomato varieties were not significantly different ($p > 0.05$) in pH, soluble solids ($^{\circ}\text{Brix}$), and titratable acidity (Table I). The protein, fat

and ash contents were also similar ($p>0.05$) in the two varieties and comparable to the Spanish fruits, however, the fat content was significantly higher in the Ecuadorian varieties ($p<0.05$). The Spanish fruits had higher contents of magnesium and sodium than the Ecuadorian fruits while the calcium content was lower ($p<0.05$). The amount of potassium in tamarillo is important since it is similar than in banana (395 mg/100 g FW) (Livsmedelsverket 2009), which is considered as a good source of this mineral. The main sugars in tree tomato, fructose, glucose, and sucrose, were present at relatively low levels compared to other tropical fruits (Wills, McGlasson et al. 1998). The levels of sugars, governed by activities of invertase and sucrose synthase, is a function of fruit maturity (Ordóñez, Vattuone et al. 2005). The principal organic acid detected in the tree tomato sample was citric acid, which occurred together with much smaller amounts of malic acid (Boyes and Strübi 1997). The alcohol-insoluble material was ~ 6% in both varieties of tamarillo. The fiber content was ~3 % (1% was soluble fiber and 2% insoluble fiber). Values of dietary fiber are in the range of 0.6 – 4 % for fruits such as melon, oranges, grape, cherry, pear, banana, mangos, plum, apple among others (Punna and Udayasekhara Rao 2003). The relative distribution of cellulose and hemicellulose was similar in both varieties (~630 mg cellulose and ~1400 mg hemicellulose per 100g FW). The lignin contents in the golden-yellow and in the purple-red varieties were 1681 and 1045 and the galacturonic acids contents were 1230 and 846 mg/100 g FW in the two fruit types respectively.

Total antioxidant activity

The antioxidant capacity was measured as DPPH free-radical scavenging efficacy. The purple-red variety had significantly higher antiradical efficacy ($p<0.05$) than the golden-yellow variety in the seed-jelly (9.3 compared with 3.8 μmol Trolox equivalents/g FW),

pulp (3 compared with 2.3 $\mu\text{mol Trolox equivalents/g FW}$) and peel (40 compared with 22 $\mu\text{mol Trolox equivalents/g FW}$) as shown in Table II. The percentage of DPPH[•] radicals remaining in the cuvette after mixing 3.9 mL DPPH[•] (0.025 g/L) with 0.1 mL of the peel, pulp and seed jelly extracts varied between 7 – 86 % with the peel having the highest inhibitory effect. The higher the concentration of phenolic compounds in the sample, the longer the time to reach the steady state. In our previous study (Vasco, Ruales et al. 2008), tree tomato was classified as having low antiradical efficiency against the DPPH[•] free radical compared to other Ecuadorian fruits. The peels of both varieties and the seed-jelly of the purple-red tree tomato have a high absorbance at 520 nm due to their anthocyanins content which leads to underestimation on the antiradical efficiency of these samples. In another study, tamarillo fruits were regarded to have intermediate total oxidant scavenging capacity (TOSC) against peroxy radical and peroxy nitrile compared to fruits such as camu-camu and blackberry (Friedhelm 2007).

The DPPH[•] assay results were in agreement with the total soluble phenolic compounds content showing a correlation of 0.9 for both varieties. The peel contained higher levels of total soluble phenolic compounds compared to the pulp and seed jelly. In fact, it is the peel that is believed to have bioactive properties in the Ecuadorian folk medicine. The medical uses according people's beliefs are depending on the condition that is treated. For example, blending the whole fruit with water and drinking the juice in the morning before breakfast will reduce cholesterol level in blood, to treat soar throats the fruit has to be grilled whole and eaten with honey and the juice of the fruit is also recommended after dental treatments to help the healing of the gums. It is known that the antiradical activity does not only depend on the amount of phenolic compounds but also on the chemical structure of the compounds present. However, the medical

effects of the fruit can not be explained by the antiradical efficacy since this is relatively low compared to other fruits (Vasco, Ruales et al. 2008).

Levels of selected antioxidants

The vitamin C, β -carotene, anthocyanins and total soluble phenolic compounds contents for golden-yellow and purple-red tamarillo are shown in Table III. The level of vitamin C in the golden-yellow and the purple-red tree tomato fruits were comparable but the purple-red variety had higher levels of β -carotene ($p < 0.05$). In addition, the purple-red variety contained anthocyanins in the seed-jelly. The amount (38 mg/100 g FW) was low compared to 120 mg delphinidin-3-rutinoside/100 g FW reported by Wrolstad and Heatherb (1974) using non-specific thin layer chromatography and it is high compared to 8.5 mg/100 g FW reported by Vera de Rosso and Mercadante (2007) using HPLC, possibly for a golden-yellow variety. The total soluble phenolic compounds and the flavonols were analyzed separately in the peel, pulp and seed-jelly but estimated for the whole fruit. Higher levels of total soluble phenolic compounds were found in the purple-red variety compared to the golden-yellow. From the HPLC analysis, we found that the concentrations of phenolic compounds in the water extracts of the golden-yellow and the purple-red tamarillos estimated for the whole fruit were as follows: hydroxycinnamic acid derivatives (39 and 61 mg /100 g FW, respectively), quercetin (6 and 4 mg of /100 g FW, respectively), and myricetin (1.2 and 1.4 mg of /100 g FW, respectively).

5.1 Test of Alkaloids

The occurrence of alkaloid in tree tomato is not clear but (Eich 2008) described some studies that found pyrrolidine, tropane, calystegins, solasodine and tomatidenol but did not specified in which part of the plant and solamine was reported in the roots.

In order to get more information and try to explain about the medicinal uses of the fruit we run on peel and pulp samples of both varieties the quick test for alkaloids in plant material described by Frelich and Marten (1973), using a solution of clonazepam as a reference. No precipitate was formed by reaction with tungstosilicic acid indicating the absence of alkaloids or a concentration of alkaloids below the detection limit for this test.

Concluding Remarks

Tamarillo fruit is a good source of potassium. The peel of tamarillo is the main source of phenolic compounds and the part that showed the highest antiradical efficacy but the fruit is among the fruits with low efficacy (Vasco, Ruales et al. 2008). The main compounds in the phenolic profile were hydroxycinnamic acids and some flavonol derivatives such as quercetin and myricetin derivatives. The bitter compound(s) in tamarillo were found not to give a positive test for alkaloids as measured by the Frelich and Marten test (1973).

Acknowledgements

This research work was supported by grants from the International Program in Chemical Sciences (IPICS) project EC: 01, Uppsala University, Uppsala (Sweden) and by the European community project FP6-2003-INCO-DEV-2 "Producing added value from under-utilized tropical fruit crops with high commercial potential"(PAVUC).

References

Abdel-Aal, E. S. M. and P. Hucl (1999). "A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats." Cereal Chemistry **76**(3): 350-354.

- Abdulla, M. (1986). Inorganic elements in prepared meals in Sweden. Department of Clinical Chemistry. Lund, University of Lund. **Ph.D.**
- Asp, N. G., C. G. Johansson, et al. (1983). "Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber." J. Agric. Food Chem. **31**(3): 476 - 482.
- ASTEC "Manual de instrucciones de la columna ASTEC NH2 series."
- Bohs, L. (1995). "Transfer of *Cyphomandra* (*Solanaceae*) and its species to *Solanum*." Taxon **44**(4): 583-587.
- Boyes, S. and P. Strübi (1997). "Organic acid and sugar composition of three New Zealand grown tamarillo varieties (*Solanum betaceum* (Cav.).)" New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science **25**: 79-83.
- Eich, E. (2008). Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites: Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economic Significance (A Handbook). Berlin, Springer-Verlag
- Folin, O. and V. Ciocalteu (1927). "On tyrosine and tryptophane determinations in proteins." J. Biol. Chem. **73**: 627-650.
- Frelich, J. R. and G. C. Marten (1973). "Quick test for Reed Canarygrass (*Phalaris Arundinacea* L) alkaloid concentration." Crop Science **13**(5): 548-551.
- Friedhelm, M. (2007). Bioactive substances in tropical fruits - An evaluation with TOSC assay and "activity guided" RP-HPLC-fractionation. CIBIA VI, Ambato - Ecuador.
- Hertog, M. G. L., P. C. H. Hollman, et al. (1992). "Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits." Journal of Agricultural and Food Chemistry **40**(9): 1591-1598.
- Horwits, W. (2000). Official Methods of Analysis Maryland, AOAC International.
- Infante, R., C. Meneses, et al. (2008). "Sensory quality performance of two nectarine flesh typologies exposed to distant market conditions." Journal of Food Quality **31**(4): 526-535.
- INIAP (2004). Manual de cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). Generación y difusión de alternativas tecnológicas para mejorar la productividad del tomate de árbol y babaco en la sierra Ecuatoriana. Quito, INIAP: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias.
- Livsmiddelsverket (2009). The National Food Administration's food database, version 19/05/2009.

- McCormick Manual de Instrucciones, penetrometros manuales, modelo9s FT 01, FT 327, FT 011
- Ordóñez, R. M., M. A. Vattuone, et al. (2005). "Changes in carbohydrate content and related enzyme activity during *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn. fruit maturation." Postharvest Biology and Technology **35**: 293-301.
- Pérez, A., R. Olías, et al. (1997). "Rapid Determination of Sugars, Nonvolatile Acids and Ascorbic Acid in Strawberry and other Fruits." J. Agric. Food Chem. **45**: 3545 - 3549.
- Petterson, A. and L. Jonsson (1990). "Separation of cis-trans isomers of alpha-carotene and beta-carotene by adsorption HPLC and identification with diode-array detection." Journal of Micronutrient Analysis **8**(1): 23-41.
- Popenoe, H., S. King, et al. (1989). Tamarillo (Tree tomato). Lost Crops of the Incas. Little known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. Washington, D.C, National Academy Press: 428.
- Prohens, J. and F. Nuez (2000). "The tamarillo (*Cyphomandra betacea*): a review of a promising small fruit crop." Small Fruits Review **1**(2): 43-68.
- Punna, R. and P. Udayasekhara Rao (2003). "Total, insoluble and soluble dietary fibre contents of Indian fruits." Journal of Food Composition and Analysis **16**(6): 677-685.
- Romero-Rodriguez, M. A., M. L. Vazquez-Orderiz, et al. (1994). "Composition of babaco, feijoa, passion-fruit and tamarillo produced in Galicia (NW Spain)." Food Chemistry **49**: 251-255.
- Rosso, V. V. d. and A. Z. Mercadante (2007). "HPLC-PDA-MS/MS of Anthocyanins and Carotenoids from Dovyalis and Tamarillo Fruits." Journal of Agricultural and Food Chemistry **55**: 9135-9141.
- Sánchez-Moreno, C., J. A. Larrauri, et al. (1998). "A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols." Journal of Science Food Agriculture **76**: 270-276.
- Theander, A. and E. A. Westerlund (1986). "Studies on dietary fiber 3. Improved Procedures for Analysis of Dietary Fiber." J. Agric. Food Chem. **34**: 330-333.
- Torrado, A., M. Suárez, et al. (1995). "Volatile Constituents from Tamarillo (*Cyphomandra betacea* Sendt.) Fruit." Flavour and Fragrance Journal **10**: 349 - 354.

- Van Niekerk, P. (1988). Determination of vitamins. HPLC in food analysis. R. Macrae. London UK, Academic Press Ltd.: xiv + 502 pp.
- Van Soest, P. a. R., J. (1981). The detergent system of analysis and its application to humand foods. In the analysis of dietary fiber in food New York, Marcel Dekker
- Vasco, C., J. Ruales, et al. (2008). "Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador." Food Chemistry **111**(4): 816-823.
- Voragen, A., Heutink, R., Pilnik, W. (1980). "Solubilization of apple cell wall with polysaccharide degrading enzymes." Journal of Applied Biochemistry: 452 - 458.
- Wang, J., B. Wang, et al. (2007). "Quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) coated by using chitosan and polyphenols." Food Science and Technology International **13**(4): 317-322.
- Wills, R., B. McGlasson, et al. (1998). Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Zaragoza, Editorial Acribia S.A.
- Wrolstad, R. E. and D. A. Heatherbell (1974). "Identification of Anthocyanins and Distribution of Flavonoids in Tamarillo Fruit (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendt.)." Journal of the Science of Food and Agriculture **25**: 1221-1228.
- Xu, C., M. Birtles, et al. (1993). "Immunocytochemical localization of a tamarillo lectin and its immunological relationship to other solanaceous lectins." Plant Science **95**: 31-39.

ARTÍCULO III

Estudio del efecto de la aplicación de estrés luminoso e hídrico durante la floración y fructificación del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) genotipo anaranjado gigante sobre las propiedades físico-químicas en poscosecha y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos

Jenny Ávila¹, Norman Soria², Jenny Ruales¹

¹Escuela Politécnica Nacional – EPN

Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología – DECAB, Quito – Ecuador. jemarav@hotmail.com

²Escuela Politécnica del Ejército – ESPE, Sangolquí – Ecuador. normanasoria@yahoo.com

Palabras Claves: tomate de árbol, estrés, polifenoles, capacidad antioxidante.

Resumen

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), genotipo anaranjado gigante, cultivado en la zona de Tumbaco en la provincia de Pichincha en Ecuador, fue estudiado bajo 5 tratamientos de estrés: tres de luz, cubriendo las plantas con zarán provocando 45, 60 y 70% de sombra; y dos de agua, uno con constante suministro de agua (suelo saturado, 9 – 11 cb) y riego hasta punto crítico (< 70 cb), aplicados durante la época de floración, más un testigo sin estrés. Se evaluó en los frutos, las propiedades físico químicas en poscosecha (peso, tamaño, firmeza, materia soluble de la pulpa, pH, °Brix, acidez titulable, tasa de respiración), contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante e identificación de compuestos fenólicos en función de estándares comerciales (ácido gálico, ácido ferúlico, vainillina, ácido caféico y (-)-epicatequina). En general, los factores de estrés, agua y luz, redujeron el tamaño y peso de los frutos, siendo el tratamiento de agua el que produjo mayor afectación con relación al testigo. Los atributos sensoriales y la tasa de respiración no se ven afectados por los factores de estrés. El tomate de árbol tiene el comportamiento de un fruto no climatérico. Al someter a la planta a condiciones de estrés por falta de agua, incrementó el contenido de polifenoles solubles totales y la capacidad antioxidante. La luz influye significativamente en el contenido fenólico, pues a medida que se reduce la intensidad, se reduce su concentración; de todos los compuestos fenólicos analizados, solo se detectó ácido gálico, un compuesto con capacidad antioxidante, el cual también se incrementó con el tratamiento drástico de estrés de agua.

Introducción

El tomate de árbol es una fruta perteneciente a la familia de las Solanáceas, de consumo tradicional en la región andina de Ecuador, que puede consumirse preparada en jugos y mermeladas, adicionalmente es un excelente complemento para ensaladas de frutas, es delicioso en helados, batido con leche y en diferentes tipos de postres. Sus semillas son comestibles y su cáscara se separa fácilmente con agua hirviendo (1).

Esta fruta tiene cualidades nutricionales y medicinales, tiene bajo contenido calórico y de carbohidratos, reduce el colesterol en la sangre, es un buen controlador de glicemia en personas con diabetes. Su contenido de fibra soluble (pectina) es alto por lo que ayuda a mejorar el tránsito intestinal (2). Tiene diferentes minerales como potasio (~400 mg/100 g FF) y fósforo (41 mg/100 g FF) (3, 4). Contiene vitaminas como la B6 o piridoxina, que es necesaria para el funcionamiento del sistema nervioso; vitamina K importante para la coagulación de la sangre; vitamina C que favorece la asimilación de hierro y provitamina A que se transforma en vitamina A en el organismo conforme éste lo necesita; las vitaminas A y C ayudan además a fortalecer el sistema inmunológico y la visión, actuando como antioxidantes (2-4).

Los antioxidantes son sustancias que contribuyen a reducir el riesgo de múltiples enfermedades, como las cardiovasculares, cerebrovasculares, ciertos tipos de cáncer y otras enfermedades degenerativas, además de reforzar las defensas del organismo y retrasar el proceso de envejecimiento celular, ya que bloquean la actividad de los radicales libres (5).

Las características médicas y nutricionales mencionadas le dan al tomate de árbol una proyección futura para satisfacer la demanda de un potencial mercado que requiere productos naturales de calidad. Es por eso que hoy en día se busca incrementar las características beneficiosas de los productos naturales, para así satisfacer la demanda de productos con alto valor nutritivo y con cualidades antioxidantes, que no solo alimenten, sino que además puedan ayudar al organismo a defenderse de las diferentes enfermedades degenerativas con el consumo de antioxidantes.

Los factores ambientales tienen una influencia significativa en la producción y la calidad de los frutos y vegetales. Se han realizado numerosos estudios sobre el comportamiento de algunas sustancias antioxidantes en respuesta a diferentes clases de estrés. En Ecuador la Fundación Wong (2005), buscó incrementar la producción de biomasa y la concentración de principios bioactivos al domesticar plantas medicinales silvestres manejando técnicas agronómicas y ambientales (6).

Para este estudio, se aplicó dos tipos de estrés abiótico, luz y agua, para determinar su influencia en las características poscosecha del tomate de árbol, contenido fenólico y capacidad antioxidante, buscando identificar si el proceso de estrés permite obtener frutos de buenas características organolépticas y mayor concentración de polifenoles con capacidad antioxidante.

Materiales y Métodos

Muestras

Para el estudio se emplearon plantas de tomate de árbol genotipo anaranjado gigante de aproximadamente dos años de edad; cultivo establecido en la Granja Experimental del Instituto Autónomo de Investigaciones Agropecuarias - INIAP en Tumbaco, Provincia de Pichincha.

Se construyó un invernadero de 220 m² (20 m x 11 m), donde las plantas se encontraban distribuidos a una distancia de 2 x 2 m. Se aplicaron 5 tratamientos de estrés vegetal abiótico, tres de estrés de luz y dos de estrés de agua frente a un testigo, cada tratamiento estuvo compuesto por 5 árboles, como se detalla en la Tabla 1 y Figura 1.

La aplicación de los tratamientos de estrés se realizó durante la época de floración y fructificación. Colocando tela de zarán de diferente calibre para cada tratamiento de luz provocando tres niveles de sombra; y controlando la cantidad de agua de riego para los tratamientos de agua, la cual se midió con un tensiómetro. El tensiómetro es un aparato cilíndrico hueco donde se colocó agua destilada; en el extremo inferior tiene una copa porosa de cerámica y en el extremo superior un indicador de succión (tensiómetro). Cuando las lecturas en el indicador son de baja tensión, indican condiciones húmedas en el suelo, con agua disponible y de fácil extracción por las raíces de las plantas, pero a

medida que el suelo se va secando, el agua se agarra con más fuerza, las lecturas del tensiómetro suben, y las raíces tienen más dificultad para extraer agua y mantener el crecimiento óptimo.

Tabla 1. Descripción de la aplicación dos tipos de estrés (luminoso e hídrico) en 5 tratamientos y un testigo en una plantación de tomate de árbol gigante anaranjado.

Número Tratamiento	Símbolo	Descripción
1	T1	Cubrimiento de los árboles con tela de zarán de 45% de sombra
2	T2	Cubrimiento de los árboles con tela de zarán de 60% de sombra
3	T3	Cubrimiento de los árboles con tela de zarán de 70% de sombra
4	T4	Riego hasta que el suelo llegue a capacidad de campo constantemente (9 – 11 cb)
5	T5	Riego hasta que el suelo llegue a capacidad de campo (15 cb) y corte hasta que llegue a punto crítico (< 70 cb)
6	T6	Testigo. Sin sombra (0%), con riego entre 15 – 20 cb (riego normal)

Una vez que los frutos alcanzaron completa madurez fisiológica (70% de color) se cosecharon manualmente, se clasificaron en jabas plásticas por cada tratamiento y se llevaron al laboratorio de poscosecha. Se lavó y desinfectó cada fruta con cloro (50 ppm). Se seleccionaron 10 frutos para la caracterización físico-química poscosecha. Para determinar la tasa de respiración, se usaron dos cámaras de vidrio de cierre hermético por cada tratamiento, colocando ~1 kg de fruta por cámara, almacenándolas en refrigeración a 4 °C y 85% de HR por 10 semanas midiendo la generación del CO₂ dos veces cada semana. Se seleccionaron 5 tomates de árbol para determinar el contenido de materia soluble en la pulpa. Además, se tomó ~2 kg de fruta fresca, se peló, cortó y almacenó en congelación a -20°C, para luego ser liofilizada, molida, tamizada y envasada en frascos de vidrio ámbar a -20°C para los análisis químicos.

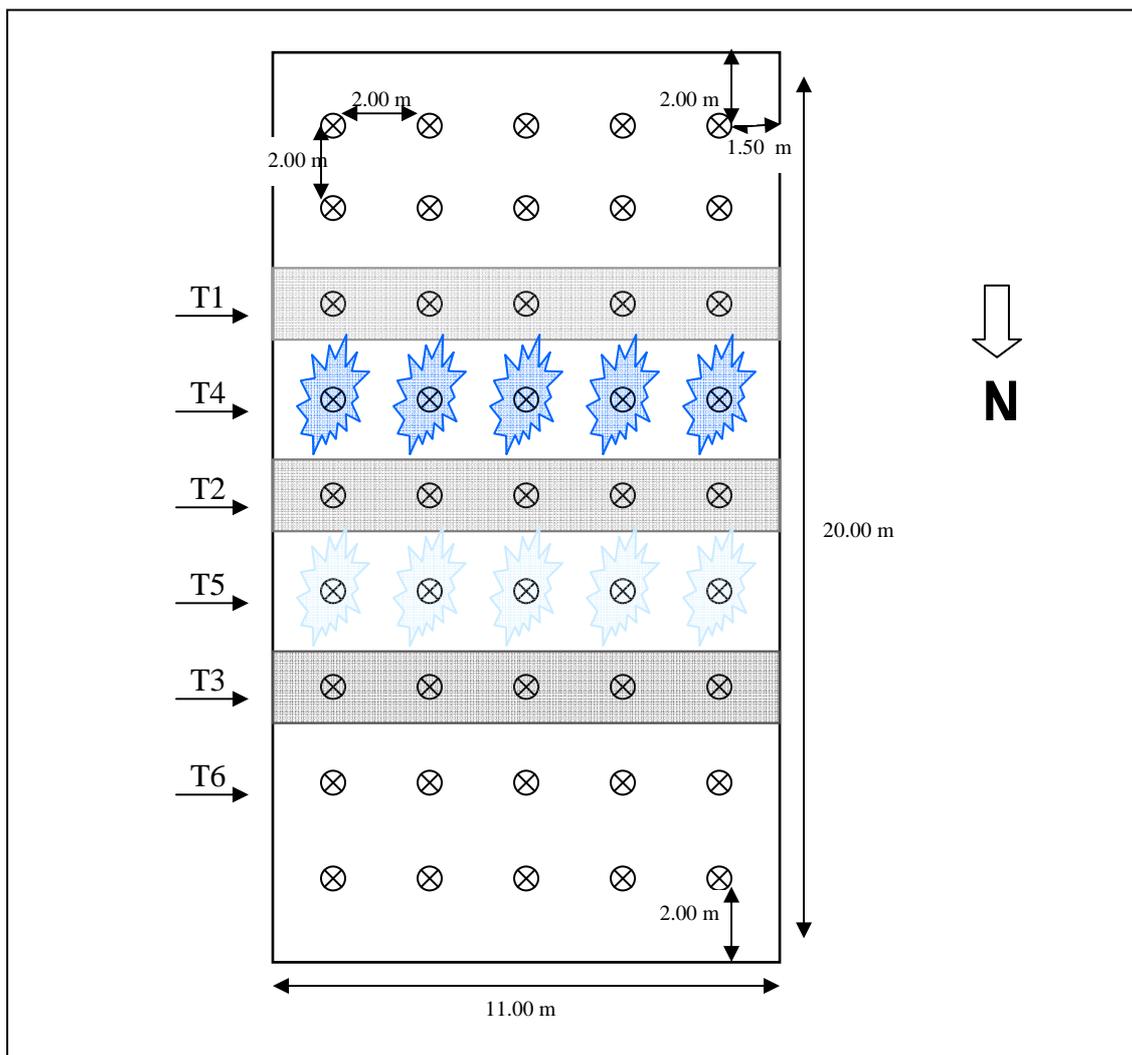


Figura 13. Esquema de la ubicación de los tratamientos en la plantación de tomate de árbol genotipo anaranjado gigante.

Caracterización físico-química en poscosecha

Para la caracterización físico-química en poscosecha se evaluó: *Peso Inicial*, se determinó el mismo día de la cosecha, usando una balanza electrónica (BODECO, modelo BBA51) para pesar en gramos (g). *Longitud de la fruta*, con un calibrador pie de rey DRION-K se determinó en centímetros (cm) la longitud de cada fruta tomando sus extremos sobresalientes. *Diámetro de la fruta*, en la parte más ancha se determinó en centímetros (cm) con un calibrador pie de rey DRION-K. *Volumen de la fruta*, se registró el volumen de cada fruta sumergiéndola en un recipiente con agua y midiendo el volumen de agua que desplaza en mililitros (ml). Además se realizó un análisis de *Textura*, retirando la cáscara, se midió la fuerza de penetración en Newton (N) con la

ayuda de un penetrómetro manual (McCormick, modelo FT 327) provisto de un punzón de 6 mm, fijado en un pedestal, en la periferie de mayor diámetro de cada fruta. Se realizaron 5 medidas por cada una (7). Para los análisis de acidez, pH y sólidos solubles, se extrajo la pulpa, licuando 40 gramos de tomate de árbol en 200 ml de agua destilada por 1 minuto, luego se filtró el jugo para retirar las semillas. Para la determinación de la *Acidez Titulable*, se utilizó el método descrito en AOAC, 942.15, 37.1.37. Se diluyó 5 ml de pulpa en 50 ml de agua destilada, más 0.3 ml de fenoftaleína. Luego se tituló con una solución de NaOH 0.1 N, hasta que la solución se tornó de color rosado persistiendo así por 30 segundos. La acidez titulable se reporta como porcentaje de ácido cítrico (7). Los *Sólidos Solubles*, se determinaron usando el método descrito por AOAC, 37.1.15 (7). En un brixómetro manual (C&B, modelo RHB-32) se colocaron dos gotas del jugo preparado, midiendo directamente el valor de sólidos solubles totales (grados brix), el valor obtenido se multiplica por el factor de dilución 6. Para determinar el *pH*, se usó el método de AOAC, 981.312, 42.1.04 (7). Empleando un pHmetro electrónico (Onion, modelo 210a, se determinó la concentración de iones de hidrógeno presentes en el jugo preparado de tomate de árbol.

Determinación del Porcentaje de Humedad de la Pulpa.

Se determinó por triplicado para cada tratamiento, empleando el método descrito por la AOAC Official Methods 920.151, 37.1.12 (7), para materia soluble. Se colocaron ~20 g de fruta fresca licuado en cajas petri previamente taradas y se pesó. Estas muestras se secaron en una estufa de vacío (Heraeus, modelo RVT-360) a 70 °C con una presión de 13 332 Pa hasta peso constante.

Determinación de la Tasa de Respiración.

La tasa de respiración fue determinada en función de la producción de CO₂, medido en un analizador de gases *Post Harvest Research* provisto de un detector infrarrojo Horiba para CO₂ modelo VIA-510. Las muestras fueron tomadas cada semana por triplicado a la entrada y salida de la cámara de respiración, con jeringuillas plásticas de 10 ml de volumen.

Extracción de Compuestos Fenólicos.

El método de extracción es una modificación del método desarrollado por Määttä *et al.*, 2001 (8, 9). Se pesó 0.5 g de muestra liofilizada y se añadió 20 ml de metanol:agua

destilada (50:50; v/v). La muestra fue tapada y agitada durante una hora a temperatura ambiente, protegida de la luz. Luego se centrifugó a 1519 gravedades por 10 minutos. El sobrenadante fue colocado en matraces aforados de 50 ml y en el residuo se añadió 20 ml de solución acetona:agua destilada (70:30; v/v), y se agito por una hora más, bajo las mismas condiciones que la primera agitación. Los solventes usados fueron de grado HPLC de J. T. Baker. Se centrifugó por 10 minutos a 1519 gravedades y el sobrenadante fue colocado en los mismos matraces. Se aforó con agua destilada y se homogenizó la muestra, la misma que finalmente se colocó en un tubo ámbar con tapa y se mantuvo en refrigeración (4 °C) hasta el análisis.

Determinación de Polifenoles Solubles Totales.

Empleando el método de Folin-Ciocalteu (10), se prepararon soluciones de 50, 100, 150 y 200 ppm de ácido gálico, de Sigma, que sirvieron para elaborar la curva de calibración. En un matraz de 25 ml se colocó 0.5 ml de la muestra extraída, de la solución de ácido gálico (estándares) o agua destilada (reactivo blanco), se añadió 0.5 ml del reactivo Folin-Ciocalteu 2 N, de Sigma (F-9252) y se agitó. Luego de 3 minutos se añadió 10 ml de carbonato de sodio, granular de J.T. Baker (3604-01) y se aforó enseguida con agua destilada. Se homogenizó la muestra y se dejó por 1 hora a temperatura ambiente protegiéndola de la luz. Posteriormente se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (Shimadzu, modelo UV-160A) a una longitud de onda de 750 nm usando como blanco agua destilada en celdas de cuarzo de 1 cm. Los datos se reportan en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de fruta fresca (FF).

Determinación de Capacidad Antioxidante.

La capacidad antioxidante se determinó usando el método del DPPH (5). En una celda cuarzo de 1 cm se colocó 3.9 ml de solución DPPH:metanol (0.025 gL^{-1}) y se añadió 0.1 ml del extracto. Se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu, modelo UV-160^a) a tiempo 0 y cada 10 segundos hasta que la reacción se estabilizó. La capacidad antioxidante está reportada en μM de trolox/100 g de FF. Para la curva de calibración se emplearon soluciones estándar de trolox de Sigma, desde 0.3 a 2.5 mM diluído con etanol. Se usó como blanco metanol grado HPLC de J. T. Baker.

Determinación de Ácidos Fenólicos.

Se pesó ~1 g de muestra liofilizada y se adicionó 10 ml de metanol al 30%. Esta suspensión fue agitada durante 5 minutos para posteriormente filtrarla. Se tomó una alícuota del extracto y se filtró a través de una membrana de 0.45 μm hacia un vial para HPLC. La identificación y cuantificación de ácidos fenólicos se lo realizó utilizando un equipo de HPLC HP Hewlett Packard Series 1050, provisto de una columna de separación de fase reversa Lichrosphere C18 (5 μm de tamaño de partícula). Las condiciones de la fase móvil fueron las mismas empleadas por Ramamurthy *et al.* (11); A: ácido acético:agua desionizada (2:98, v:v) y B: ácido acético:acetonitrilo:agua desionizada (2:30:68, v:v). Se corrió a una velocidad de 1.5 ml min^{-1} . El gradiente del solvente fue programado de 10 a 100% de B en A en 30 minutos y el detector UV programado a 280 nm. El volumen de inyección fue de 20 μl . Se identificaron los compuestos por comparación de ácidos fenólicos comerciales, usando ácido gálico, ácido ferúlico y vainillina de Sigma; ácido caféico y (-)-epicatequina de ICN Biomedicals Inc., en concentraciones desde 0.29–1 mg ml^{-1} disueltos en metanol 30%. Para comprobar la presencia del compuesto, una vez corridas las muestras se empleó la Técnica de Adición de Estándar o Técnica de Spiking (12, 13) con los respectivos estándares comerciales.

Análisis Sensorial.

Con una Prueba de Comparación Múltiple, de acuerdo a lo descrito por Witting (14), se midió la diferencia de aroma, dureza, sabor, dulzor y acidez en base a 6 muestras, correspondientes a los 5 tratamiento y el testigo. Se le informó al panelista cual era el testigo y se le pidió que señale si cada muestra es o no diferente al testigo, indicando también el grado de diferencia, de acuerdo a una escala continua de 1 a 10.

Análisis Estadístico.

Los resultados fueron analizados utilizando el análisis de varianza ANOVA ONE WAY, con la prueba de Tukey con límites de confiabilidad del 95%. Se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS Plus para Windows versión 5.1 (Statistical Graphics Corp.).

Resultados y Discusión

Los datos de la caracterización física de los frutos sometidos a estrés de luz y el testigo se encuentran en la Tabla 2. En general, se observó que los frutos que crecieron bajo sombra, disminuyeron sus características, observándose diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre los datos obtenidos para los tratamientos y el testigo. Similar comportamiento se observó en un estudio realizado en China con frutos de cereza dulce utilizando diferentes niveles de sombra (15). La textura de los frutos no se vio afectada por el estrés de luz. Estos datos obtenidos son menores a los reportados por León, *et al.* (16) con valores de textura (firmeza) en mismo genotipo correspondientes a 22 N, en frutos que presentan tamaños de alrededor de 118 g. Comparando el porcentaje de humedad en la pulpa, se observa que el tratamiento 3 (70% de sombra) es el que mayor cantidad de humedad tuvo, siendo diferente estadísticamente a los otros tratamientos de estrés y al testigo. Todos estos valores son similares a los encontrados en la literatura, donde se reportan humedades entre 81– 87% (2, 17, 18).

Tabla 2. Caracterización poscosecha de los 3 tratamientos de estrés de luz y testigo del tomate de árbol anaranjado gigante.

Variable	TESTIGO	TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2	TRATAMIENTO 3
	Sin Sombra	45% Sombra	60% Sombra	70% Sombra
Peso ¹ (g)	76 ± 22a	70 ± 16ab	56 ± 17b	56 ± 15b
Diametro ¹ (cm)	5 ± 1a	5 ± 0.4a	5 ± 0.6ab	4 ± 0.3b
Alto ¹ (cm)	6 ± 1a	5 ± 0.5a	5 ± 0.7a	5 ± 0.4a
Volumen ¹ (ml)	74 ± 20a	68 ± 16ab	55 ± 18b	53 ± 13b
Textura ¹ (N)	12 ± 4a	14 ± 3a	14 ± 7a	13 ± 3a
Humedad Pulpa ² (%)	85.88 ± 0.34b	85.54 ± 0.07b	86.00 ± 0.20b	86.83 ± 0.13a

¹Media ± DE (n=10)

²Media ± DE (n=3)

Valores en la misma fila seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$).

Los datos de la Tabla 3, corresponden a la caracterización poscosecha de tomate de árbol sometido a tratamientos de estrés de agua y un testigo. El testigo presentó los valores más altos de tamaño de la fruta, el tratamiento 5 causó frutos con menor peso, diámetro, alto y volumen. Estos valores son menores a los reportados por León, *et al.* (16), que indica que el tomate de árbol anaranjado gigante tiene valores de 118 g, 7 cm

y 6 cm de peso, alto y ancho, respectivamente. Los valores obtenidos durante la caracterización para textura en la pulpa, se encuentran entre 12 N del testigo el mas bajo y 13 N de fuerza para el tratamiento 4, el más alto, sin embargo al hacer el análisis estadístico no existió diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los dos tratamientos de estrés de agua y el testigo; pero son menores comparado con los valores reportados por León, *et al.* (16), en un estudio realizado al mismo genotipo. El porcentaje de humedad en la pulpa de los 2 tratamientos y del testigo, es de ~86%, valor que se encuentra dentro de los rangos encontrados en la literatura para ésta fruta (18).

Tabla 3. Caracterización poscosecha de los 2 tratamientos de estrés de agua y testigo del tomate de árbol anaranjado gigante.

Variable	TRATAMIENTO 4	TESTIGO	TRATAMIENTO 5
	9 – 11 cb	15 – 20 cb	Hasta 70 cb
Peso ¹ (g)	50 ± 22b	76 ± 22a	34 ± 9c
Diametro ¹ (cm)	4 ± 1 b	5 ± 1a	4 ± 0.4c
Alto ¹ (cm)	5 ± 1a	6 ± 1a	4 ± 1b
Volumen ¹ (ml)	50 ± 23b	74 ± 20a	27 ± 18c
Textura ¹ (N)	13 ± 3a	12 ± 4a	13 ± 3a
Humedad Pulpa ² (%)	86.50 ± 0.23a	85.88 ± 0.34 a	85.99 ± 0.13a

¹Media ± DE (n=10)

²Media ± DE (n=3)

Valores en la misma fila seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$)

De los datos analizados en este trabajo (Tabla 4), el pH de la pulpa presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre el tratamiento 1 y el tratamiento 3, pero ninguna diferencia con el tratamiento 2 y el testigo. Dentro de los sólidos solubles se observaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre el tratamiento 2 y el testigo, mientras que el tratamiento 1 y tratamiento 3 no presentaron diferencia significativa entre el testigo y el tratamiento 2. En los datos analizados de acidez titulable, se observó el mismo comportamiento que el de pH. Como era de esperarse, se observó un comportamiento inverso entre el pH y el porcentaje de acidez, ya que el tratamiento que reportó mayor pH es el que presentó menor porcentaje de ácido cítrico. En el estudio del comportamiento fisiológico del tomate de árbol durante la poscosecha, se presenta la misma relación inversa, a medida que la concentración de ácidos disminuye el pH presenta una ligera tendencia de aumento (19).

Tabla 4. Características físico-químicas del tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 3 tratamientos de estrés de luz y testigo.

Variable	TESTIGO	TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2	TRATAMIENTO 3
	Sin Sombra	45% Sombra	60% Sombra	70% Sombra
pH ¹	3.84 ± 0.11ab	3.70 ± 0.10b	3.80 ± 0.01ab	3.89 ± 0.13a
Sólidos Solubles Totales ¹ (°Brix)	12 ± 1a	11 ± 1ab	10 ± 2b	11 ± 0.3ab
Acidez ¹ (% ácido cítrico)	0.2 ± 0.02bc	0.2 ± 0.02a	0.2 ± 0.02ab	0.2 ± 0.02c

¹Media ± DE (n=9)

Valores en la misma fila seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente (p<0.05)

Los datos de la caracterización físico – química de la pulpa de tomate de árbol de frutos sometidos a 2 procesos de estrés de agua y un testigo se encuentran en la Tabla 5. Existió diferencia estadística significativa entre el tratamiento 4, tratamiento 5 y el testigo en referencia al valor de pH, siendo el testigo el que mayor valor presentó. Los datos para pH de este genotipo reportados en otras investigaciones se encuentran entre 3.2 – 3.8 (17). El análisis del porcentaje de sólidos solubles para los tratamientos de estrés de agua determinó que el tratamiento 4 tiene menor °Brix, presentando diferencia estadísticamente significativa (p<0.05) con el testigo, que es el que mayor °Brix presentó. El °Brix de éstas muestras son menores a los reportados por León, *et al.* (16), de 13,2 °Brix en la pulpa de tomate de árbol anaranjado gigante. El tratamiento 5 no presentó diferencia estadística con ninguno los otros tratamientos.

Tabla 5. Características físico-químicas del tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 2 tratamientos de estrés de agua y testigo.

Variable	TRATAMIENTO 4	TESTIGO	TRATAMIENTO 5
	9 – 11 cb	15 – 20 cb	Hasta 70 cb
pH ¹	3.74 ± 0.02b	3.84 ± 0.11a	3.58 ± 0.01c
Sólidos Solubles Totales ¹ (°Brix)	10 ± 1b	12 ± 1a	11 ± 1ab
Acidez ¹ (% ácido cítrico)	0.2 ± 0.01b	0.2 ± 0.02a	0.2 ± 0.01a

¹Media ± DE (n=9)

Valores en la misma fila seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente (p<0.05)

En las Figuras adjuntas, se encuentran los datos que corresponden a la tasa de respiración del tomate de árbol sometido a 3 tratamientos de estrés de luz (1, 2 y 3), 2 tratamientos de estrés de agua (4 y 5) y el testigo. De acuerdo al comportamiento observado durante el análisis, se confirma que es una fruta no climatérica, ya que con el paso de los días se observó una producción decreciente del dióxido de carbono. Los tratamientos de estrés no afectaron la tasa de respiración.

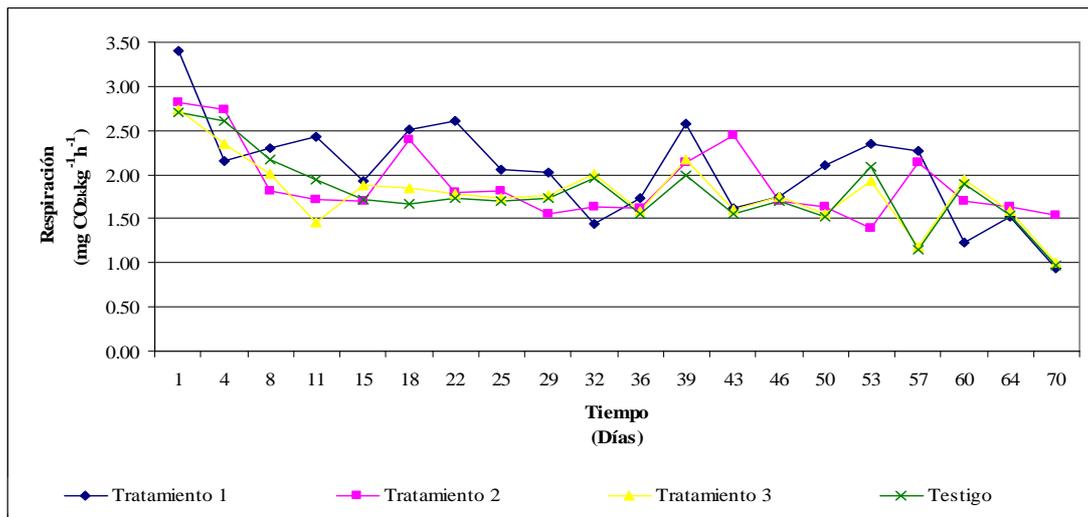


Figura 14. Tasa de respiración de tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 3 tratamientos de estrés de luz y testigo.

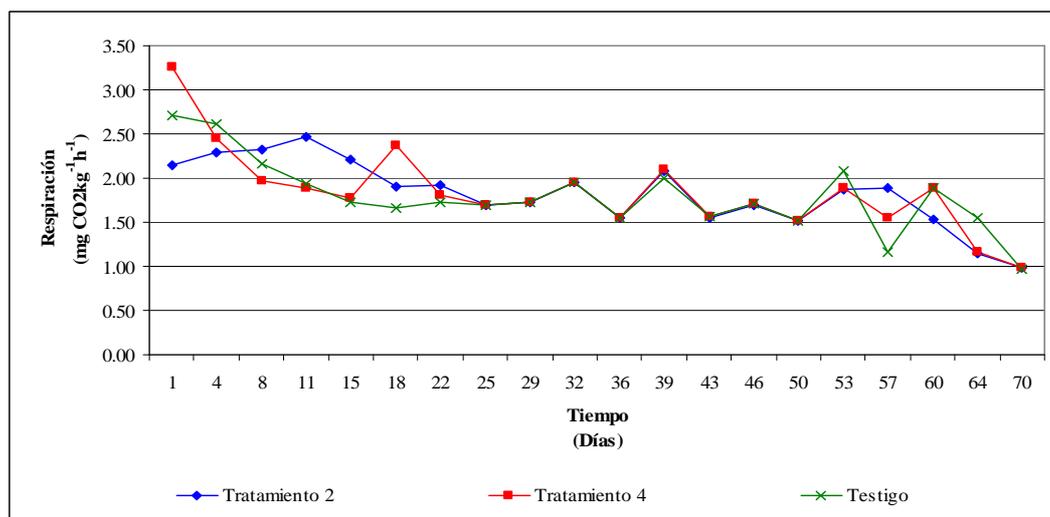


Figura 15. Tasa de respiración de tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 2 tratamientos de estrés de agua y testigo.

El contenido de polifenoles solubles totales, expresados como equivalentes de ácido gálico, disminuye con el incremento de sombra; los frutos del tratamiento 3 se vieron afectados por éste factor pues es estadísticamente diferente ($p < 0.05$) que el testigo. Aunque no se tienen datos sobre el tomate de árbol en referencia a este estrés, si se tiene en otra solanácea como el tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.), donde la luz solar UV, tuvo influencia significativa incrementando en el contenido de compuestos fenólicos (20, 21). Así mismo la cereza dulce china (*Prunus avium* cv. Hongdeng) sometida a procesos de sombra del orden del 11, 30, 48 y 70% reduce su contenido fenólico (15); otro dato con el mismo comportamiento se observó en frutos de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) sometidas a 32% de sombra (22).

La capacidad antioxidante de las muestras de los diferentes tratamientos, también fue afectada por la luz, se observó la tendencia de que a medida que aumentaba la sombra en las plantas existía menor capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos. Los resultados del radical de DPPH• remanente y el porcentaje de inhibición, tienen relación directa con la capacidad antioxidante, así los frutos con mayor capacidad antioxidante tienen menor porcentaje remanente del radical pero mayor porcentaje de inhibición. Estos resultados mostraron una relación lineal con el contenido de los compuestos fenólicos totales observándose una correlación de 0.9 para los tratamientos de luz.

Tabla 6. Contenido de Polifenoles Solubles Totales y parámetros de la Capacidad Antioxidante de tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 3 tratamientos de estrés de luz y testigo.

Tratamiento	Polifenoles Solubles Totales (mg EAG/100 g FF)	Capacidad Antioxidante ($\mu\text{mol Trolox} / \text{g FF}$)	Tiempo (min)	DPPH• remanente (%)	Inhibición (%)
Tratamiento 1 45% sombra	65.69 \pm 3.35 ab	4.50 \pm 0.22 ab	5.64 \pm 0.42 a	84.83 \pm 0.59 bc	15.17 \pm 0.59 ab
Tratamiento 2 60% sombra	65.33 \pm 1.04 ab	4.06 \pm 0.21 b	6.36 \pm 0.19 a	85.79 \pm 0.49 b	14.21 \pm 0.49 b
Tratamiento 3 70% sombra	61.25 \pm 1.57 b	3.42 \pm 0.23 c	4.64 \pm 0.25 b	87.30 \pm 0.55a	12.70 \pm 0.55 c
Testigo Sin sombra	67.40 \pm 1.83 a	4.78 \pm 0.15 a	5.47 \pm 0.48 ab	84.13 \pm 0.41 c	15.87 \pm 0.41 a

Media \pm DE (n=3)

Valores en la misma columna seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$)

Como se puede observar en la Tabla 7, el contenido de polifenoles solubles totales se vio afectado significativamente por el estrés hídrico drástico (tratamiento 5), donde la planta tuvo que soportar valores cercanos a 70 cb a nivel de la raíz, el contenido polifenólico aumentó, lo que no sucedió con el tratamiento 4, donde la planta estuvo recibiendo agua con valores en el tensiómetro de 9-11 cb, valor cercano a la saturación. En estudios hechos con el tomate riñón se observó que la concentración de licopeno, un pigmento de éste vegetal, con propiedades antioxidantes aumentó progresivamente con tratamientos de estrés hídrico (20), así mismo, en frutos de aceitunas (*Olea europaea* L. cv. Ascolana tenera), la deficiencia de agua aumentó el contenido fenólico (23).

La fruta del tratamiento 5 presentó una capacidad antioxidante ligeramente mayor frente al tratamiento 4 y al testigo, no existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre ellos. Lo mismo se observó con el tiempo necesario para reducir los radicales libres, el porcentaje de radical DPPH• remanente y de inhibición.

En resultados obtenidos con estudios de estrés hídrico en las plantas en general se observó que existe una tendencia de incremento de micro y macronutrientes, azúcares y sustancias antioxidantes cuando el estrés hídrico que se aplica da un período de sequía a la planta (24-26). Los resultados de los tratamientos de agua, mostraron una correlación lineal de 0.9 entre los análisis de DPPH• y el contenido de polifenoles solubles totales.

Tabla 7. Contenido de Polifenoles Solubles Totales y parámetros de la capacidad antioxidante de tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 2 tratamientos de estrés de agua y testigo.

Tratamiento	Polifenoles Solubles Totales (mg EAG/100 g FF)	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Trolox / g FF}$)	Tiempo (min)	DPPH• remanente (%)	Inhibición (%)
Tratamiento 4 9-11 cb	65.00 \pm 1.23 b	4.62 \pm 0.33 a	6.19 \pm 1.39 a	84.58 \pm 0.78 a	15.42 \pm 0.78 a
Tratamiento 5 Menos 70 cb	71.27 \pm 1.33 a	4.94 \pm 0.33 a	6.25 \pm 0.50 a	83.74 \pm 0.78 a	16.26 \pm 0.78 a
Testigo 15 – 20 cb	67.40 \pm 1.83 b	4.78 \pm 0.15 a	5.47 \pm 0.48 a	84.13 \pm 0.41 a	15.87 \pm 0.41 a

Media \pm DE (n=3)

Valores en la misma columna seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$)

La determinación de compuestos fenólicos de acuerdo al método de Ramamurthy, *et al.* (11) en la pulpa de frutos de tomate de árbol sometidos a estrés de luz y el testigo se observa en la Tabla 8. El único ácido que se detectó bajo estas condiciones en el HPLC es el ácido gálico, siendo los niveles de los demás estándares no detectables por este sistema. El mayor contenido de ácido gálico se observó en el testigo por lo que el contenido de ácidos fenólicos, al menos del ácido gálico se vio influenciado negativamente por la sombra. No se tiene referencia del comportamiento de los compuestos fenólicos específicos en frutas tratadas con estrés de luz, pero si se tiene en otras partes de la planta expuestas a la luz como las hojas, donde se ha determinado que la baja intensidad de luz puede influenciar el contenido de niveles de compuestos fenólicos (26).

Tabla 8. Compuestos Fenólicos presentes en tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 3 tratamientos de estrés de luz y testigo

Tratamiento	Ácido Gálico (mg / 100 g FF)	Ácido Ferúlico (mg / 100 g FF)	Ácido Caféico (mg / 100 g FF)	Epicatequina (mg / 100 g FF)	Vainillina (mg / 100 g FF)
Tratamiento 1 45% sombra	2.01 ± 0.02 b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tratamiento 2 60% sombra	1.97 ± 0.003 c	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tratamiento 3 70% sombra	1.94 ± 0.01 c	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Testigo Sin sombra	2.13 ± 0.02 a	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Media ± DE (n=3)

n.d. no detectado

Valores en la misma columna seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente (p<0.05)

En la tabla 9 se puede observar el efecto del estrés hídrico sobre los compuestos fenólicos; al igual que al aplicar el estrés de luz, con el sistema de HPLC se ha detectado únicamente un compuesto que se presume es el ácido gálico, ya que al aplicar la técnica de la Adición de Estándar a la muestra, el pico aumenta de tamaño y se presenta al mismo tiempo de retención 2.4 ± 0.04 minutos. El ácido gálico, es un compuesto fenólico que se encuentra principalmente en la nuez, hojas de te, corteza de robles y se deriva de los taninos hidrolizables (27), actúa como antioxidante y ayuda a proteger las células contra daños oxidativos, mostrando tener citotoxicidad contra células cancerígenas, sin dañar células saludables (27, 28); de éste ácido además se

derivan las turgorinas, reguladores vegetales que puede intervenir en el movimiento estomatal de las hojas pero que además aumenta la resistencia al estrés en las plantas (29). El resto de compuestos se encuentran por debajo del límite detectable por el equipo. En función de lo que se observó con el tratamiento 5 aumentó la concentración de éste compuesto fenólico y antioxidante. Se han reportado datos de otros compuestos fenólicos, como ácido clorogénico y cumárico, que se encuentra en la pulpa del tomate riñón, que aumentaron bajo condiciones de reducción de agua en el suelo (20).

Tabla 9. Compuestos Fenólicos presentes en tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 2 tratamientos de estrés de agua y testigo

Tratamiento	Ácido Gálico (mg / 100 g FF)	Ácido Ferúlico (mg / 100 g FF)	Ácido Caféico (mg / 100 g FF)	Epicatequina (mg / 100 g FF)	Vainillina (mg / 100 g FF)
Tratamiento 4 9-11 cb	1.93 ± 0.01 c	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Testigo 15 – 20 cb	2.13 ± 0.02 b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tratamiento 5 Menos 70 cb	2.28 ± 0.02 a	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Media ± DE (n=3)

n.d. no detectado

Valores en la misma columna seguidos por una misma letra no son diferentes estadísticamente (p<0.05)

Análisis Sensorial

El análisis sensorial se hizo con la participación de 10 panelistas semi-entrenados con el método de comparación múltiple, en el cual tuvieron que comparar las diferentes variables frente al testigo, que tenía un valor de referencia de 5 en una escala de 1 a 10.

Tabla 10. Resultados de la comparación múltiple de análisis sensorial de tomate de árbol anaranjado gigante sometido a 5 tratamientos de luz y agua.

Tratamiento	Descripción	Aroma	Dureza	Sabor	Dulzor	Acidez
1	45% sombra	4.84 ± 1.66	4.88 ± 1.24	5.37 ± 0.65	5.64 ± 1.96	4.40 ± 0.77
2	60% sombra	4.74 ± 1.53	4.77 ± 1.35	4.52 ± 1.85	5.40 ± 1.48	3.98 ± 1.53
3	70% sombra	3.23 ± 1.38	5.79 ± 1.35	4.61 ± 1.69	4.59 ± 1.22	6.20 ± 1.34
4	9 – 11 cb	4.96 ± 2.04	4.90 ± 0.89	5.03 ± 0.64	5.61 ± 1.07	4.57 ± 0.70
5	Menos 70 cb	4.68 ± 1.31	5.84 ± 1.62	4.66 ± 1.10	4.65 ± 2.32	4.13 ± 1.33

Media ± DE (n=10)

Como se puede observar en la Tabla 10, los panelistas al probar las diferentes muestras, no detectaron diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) para ninguno de los atributos analizados en esta comparación. Se observó así que el estrés aplicado no produjo ningún cambio en los atributos sensoriales característicos del tomate de árbol anaranjado gigante.

Conclusiones

Los factores de estrés de luz y agua no influyeron sobre las características organolépticas de los frutos de tomate de árbol, pero sí sobre las características físicas, sobretodo con el estrés de extremo de sombra y las condiciones de sequía, que afectaron negativamente el rendimiento y producción de la plantación. El uso de sombra redujo la concentración de compuestos fenólicos, mientras que al disminuir la cantidad de agua en el suelo éstos compuestos aumentaron. La luz sí influyó en el contenido fenólico y en la capacidad antioxidante de la planta, sobretodo en las partes expuestas, ya que las que estuvieron bajo sombra mostraron menor contenido fenólico y capacidad antioxidante. Al saturar el suelo con agua de riego se redujo el contenido fenólico de los frutos, pero al someter a la planta a condiciones de sequía se incrementó. Con éste tratamiento se obtuvieron los mayores valores de contenido fenólico y capacidad antioxidante. De todos los ácidos fenólicos analizados, solamente se detectó ácido gálico. La genética, las condiciones ambientales y la manipulación de técnicas agrícolas son las principales determinantes para la acumulación de compuestos fenólicos con capacidad antioxidante, que en el caso del tomate de árbol, podrían acumularse en la cáscara y hojas, ya que la capacidad antioxidante de la pulpa de ésta fruta es baja frente a otras, por lo que sería importante realizar estudios con la cáscara y sus posibles formas de consumo.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación fue realizado gracias al Proyecto de la Unidad Europea, FP6-2003-INCO-DEV-2 “Producing added value from under-utilized tropical fruit crops with high commercial potential” (PAVUC). Los autores agradecen las facilidades prestadas por el INIAP – Tumbaco en especial al Ing. Juan León para la aplicación de los tratamientos de estrés; y a la Ing. Elena Coyago del DECAB por la asistencia técnica prestada en el análisis de ácidos fenólicos por HPLC.

Referencias

1. INIAP *Manual del Cultivo de Tomate de Árbol (Solanum betaceum Cav.) Proyecto IQCV 008: Generación y Difusión de alternativas tecnológicas para mejorar la productividad del tomate de árbol y babaco en la sierra ecuatoriana*; Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Programa de Fruticultura. PROMSA: Quito, 2004; p 51.
2. Eroski, F., Tamarillo. En *Frutas sabrosas, saludables, imprescindibles*, Vizcaya, 2005; p 5.
3. Reyes, R.; Sanabria, O. Tomate de Árbol *Cyphomandra betacea (Cav) Sendtn.* <http://www.ibiologia.unam.mx/jardin/gela/page13.html>.
4. Rizzo, P. Tomate de Árbol. 2000. Servicio de Información y Censo Agropecuario (SICA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador (MAG) http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/ing%20rizzo/nuevos%20exportables/tomate_arbol.htm.
5. Sánchez-Moreno, C.; Larrauri, J. A.; Saura-Calixto, F., A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of Science Food Agriculture* 1998, 76, 270-276.
6. Wong, F. Identificación, Desarrollo, Manejo y Diseminación de Nuevas Técnicas Agronómicas para la Bioacumulación del Principio Activo en Plantas Medicinales de Exportación. <http://www.mag.gov.ec/promsa/Resumen%20AG-Ct-020.htm>.
7. Horwitz, W., *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17a. ed.; Maryland, 2000; Vol. II.
8. Määttä, K.; Kamal-Eldin, A.; Törrönen, R., Phenolic Compounds in Berries of Black, Red, Green and White Currants (*Ribes* sp.). *Antioxidants & Redox signaling*. 2001, 3, (6), 981-993.
9. Vasco, C. *Qualitative and Quantitative Analysis of Phenolic Compounds with Antioxidant Capacity in a Selection of Fruits and Vegetables Cultivated in Ecuador*. Escuela Politécnica Nacional. Chalmers University of Technology, Quito-Ecuador. Gothemburg-Suecia, 2005.
10. Folin, O.; Ciocalteau, V., On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. Biol. Chem.* 1927, 73, 627-650.

11. Ramamurthy, M.; Maiti, B.; Thomas, P.; Nair, M., High performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing *J. Agric. Food Chem.* 1992, 40, (4), 569-572.
12. Anónimo. Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela. Métodos Cualitativos de Análisis empleados EAA y EAA con llama. Universidad Central de Venezuela. Escuela de Química: Caracas, 2003; p 6.
13. Organización Panamericana de la Salud. *Apéndice M. Glosario*; O.P.S.: Washington, 2007; p 9.
14. Witting, E., *Evaluación Sensorial Una metodología actual para tecnología de alimentos*. Talleres Gráficos USACH Santiago, 1994; p 134.
15. LanKun, W.; WeiDong, H.; JiCheng, Z., Effects of low light intensity on sweet cherry fruit setting and quality. *Journal of China Agricultural University* 2006.
16. León, J.; Viteri, P.; Cevallos, G., *Manual del Cultivo de Tomate de Árbol*. INIAP - PROMSA Quito, 2004; Vol. 61, p 51.
17. Prohens, J.; Nuez, F., *The Tamarillo (Cyphomandra betacea): A Review of a Promising Small Fruit Crop*. The Haworth Press, Inc.: Valencia, 2000; Vol. 1, p 43-67.
18. MAG; IICA Identificación de Mercados y Tecnología para Productos Agrícolas Tradicionales de Exportación. Tomate de Árbol. 2000. Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura: http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/Convenio%20MAG%20IICA/productos/tomate_arbol_mag.pdf.
19. Márquez, C. J.; Otero, M.; Misael, C., Cambios Fisiológicos, Texturales, Físicoquímicos y Microestructurales del Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en Poscosecha. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 2008, 14, 1-11.
20. Dumas, Y.; Dadomo, M.; Lucca, G. D.; Grolier, P., Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2003, 83, 369-382.
21. Luthria, D.; Mukhopadhyay, S.; Krizek, D., Content of total phenolics and phenolics acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Chemistry and Analysis* 2006, 19, 771-777.

22. Anttonen, M.; Hoppula, K.; Nestby, R.; Verheul, M.; Karkalainen, R., Influence of Fertilization, Mulch Color, Early Forcing, Fruit Order, Planting Date, Shading, Growing Environment, and Genotype on the Contents of Selected Phenolics in Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006, 54, 2614-2620.
23. Marsillo, V.; d'Andria, R.; Lanza, B.; Russi, F.; Iannucci, E.; Lavini, A.; Morelli, G., Effect of irrigation and lactic acid bacteria inoculants on the phenolic fraction, fermentation and sensory characteristics of olive (*Olea europaea* L. cv. Ascolana tenera) fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2006, 86, 1005-1013.
24. Marques, Isabel María, Effects of water stress on the proximate composition and mineral contents of seeds of two lupins (*Lupinus albus* and *Lupinus mutabilis*). *Journal of Food Quality* 2005, 28, 325-332.
25. Baher, Z. F.; Mirza, M.; Ghorbanli, M.; Rezaii, M. B., The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavour and Fragrance Journal* 2002, 17, 275-277.
26. Abreu, I.; Mazzafera, P., Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry* 2005, 43, 241-248.
27. Macheix, J.-J.; Fleuriet, A.; Billot, J., *Fruit Phenolics*. CRC Press, Inc: Boca Ratón, Florida, 2000; p 378.
28. Wikipedia Gallic Acid. http://en.wikipedia.org/wiki/Gallic_acid. Wikipedia Foundation Inc. 2009.
29. Schildknecht, H., Turgorins, Hormones of the Endogenous Daily Rhythms of Higher Organized Plants - Detection, Isolation, Structure, Synthesis, and Activity *Angewandte Chemie International* 2003, 22, (9), 695-710.