

Efecto de la Irradiación Ultravioleta en la Actividad Enzimática de la Polifenoloxidasas y Peroxidasas y las Propiedades Físicoquímicas del Jugo de dos Variedades de Naranja (*Solanumquitoense*Lam).

Samaniego E*, Ibarz A **, Ruales J*

*Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB), Quito, Ecuador
e-mail:jenny.ruales@epn.edu.ec

** Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària, Xarxa-UTPV, Agrotecnio Center, Universitat de Lleida, Lleida-España.

Resumen: Se estudió la influencia de la irradiación ultravioleta emitida por una lámpara de mercurio de 500 W de potencia nominal con un rango de emisión de 250 a 740 nm, sobre las propiedades físicoquímicas del zumo de naranja: pH, color, contenido de sólidos solubles (^oBrix), compuestos fenólicos totales, azúcares y, contenido de vitamina C; así como sobre la actividad enzimática de la polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasas (POD) de las variedades Híbrida y Dulce en 480 min de irradiación. El pH, ^oBrix, vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad de POD no se vieron alterados por el proceso de irradiación en ninguna de las dos variedades. El contenido de azúcares totales aumentó 88,5 % y 30 % en el jugo de las variedades Híbrida y Dulce, respectivamente. Con respecto al color, el valor de L disminuyó 14 % en el jugo de la variedad Híbrida, los parámetros a y b de color no se vieron alterados por el proceso en ninguna de las dos variedades del jugo de naranja. La actividad enzimática de la PPO disminuyó 45,8 % en 270 min y 34,8 % en 150 min de exposición a irradiación en el jugo de las variedades Híbrida y Dulce, respectivamente.

Palabras clave: Luz UV, actividad de enzimas, PPO, POD, compuestos solubles fenólicos totales, azúcares, color, vitamina C.

Abstract: In this work, it was studied the effect of UV radiation produced by a Hg lamp of 500 W, nominal power with the emission range between 250 to 740 nm, on the physico-chemical properties of orange juice: pH, colour, ^oBrix, total soluble phenolic compounds, sugars, vitamin C, as well as on the enzymatic activity of polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD) of two varieties Híbrida and Dulce, at 480 min of radiation. The pH, ^oBrix, vitamin C, total soluble phenolic compounds and POD activity this not change due to the radiation process in both varieties. The content of sugars increased 88,5 % and 30 % in the juice of Híbrida and Dulce, respectively. Regarding to the colour, the L value decreased 14 % in orange juice of Híbrida variety. The other color parameters a and b, were not affected by the radiation treatment. The enzymatic activity of PPO decreased 45,8 % after 270 min and 34,8 % after 150 min of radiation on the juice of both varieties, Híbrida and Dulce, respectively.

Keywords: UV-light, enzymatic activity, PPO, POD, total soluble phenolic compounds, sugars, colour, vitamin C.

1 INTRODUCCION

Debido a la tendencia de los consumidores a adquirir alimentos frescos, mínimamente procesados y sin aditivos químicos, tecnologías emergentes han surgido en el procesamiento de los alimentos y entre ellas, por ejemplo, el uso de irradiación UV, se encuentran en su apogeo. Esta técnica es ambientalmente amigable, económicamente aceptable y fácil de aplicar, tomando en cuenta las debidas precauciones [1].

Para que el proceso de irradiación tenga éxito, es necesario que el flujo del líquido a tratarse sea turbulento. Esto aumenta la probabilidad de que los rayos UV incidan sobre la superficie del mismo, ya que la luz UV posee baja capacidad de penetración. En agua destilada pierde 30 % de su intensidad a 40 cm de la superficie, en agua de mar pierde la misma cantidad a 10 cm de la superficie [1] y en los jugos la

penetración es de 1 mm para el 90 % de su absorción [2]. Para que el proceso produzca los efectos deseados, no deben existir sólidos en suspensión que atenúen la irradiación [3].

La principal aplicación de la irradiación UV en la industria alimenticia, se enfoca en su poder germicida, especialmente a longitudes de onda entre los 220 y 300 nm. El tratamiento de bebidas alimenticias posee ciertas diferencias con el tratamiento de aguas. Al trabajar con jugos se debe tener en cuenta que la transmitancia de los mismos es baja en comparación con la del agua [4].

En zumos de frutas, la irradiación UV se aplica con la ventaja de que se pueden conservar los contenidos de vitaminas A, B, C y E, que cuando se aplica un tratamiento térmico [1, 3].

Los datos cinéticos de la variación de las propiedades físicoquímicas del líquido a tratarse han sido utilizados para desarrollar modelos cinéticos, y para el diseño apropiado del equipo de tratamiento UV. Las propiedades físicas del zumo,

como la densidad y viscosidad, afectan la configuración del fluido. Los autores de las referencias [4, 5, 6] demostraron que el pH, la temperatura y los °Brix de los jugos, por sí solos no afectaron el proceso de irradiación UV en la inactivación de *E. coli* utilizando un reactor de flujo laminar. Los autores de [7] concluyeron que la eficacia del proceso de irradiación UV no se ve afectada por condiciones como temperatura, pH y materia orgánica reactiva, pero influyen en las propiedades ópticas del fluido. Dichas propiedades son termo-dependientes, por lo cual la temperatura tiene especial influencia sobre ellas [4].

Existen relativamente pocos estudios acerca de la influencia de la irradiación UV en la actividad enzimática en los zumos de frutas. El pardeamiento enzimático es un mecanismo en donde enzimas, principalmente polifenoloxidasas (PPO), son liberadas después de modificar físicamente al alimento, y las enzimas al entrar en contacto con el oxígeno y los sustratos fenólicos de la matriz alimentaria, reaccionan para formar compuestos rojos, pardos y negros [8].

La peroxidasa (POD) en las plantas es una respuesta de defensa al estrés que estas puedan sufrir. Esta enzima reduce el peróxido de hidrógeno en presencia de un electrón donador, el cual puede ser un compuesto fenólico o un ascorbato que actúe como donador de protones. Si el donador de protones es un compuesto fenólico se obtienen quinonas, que reaccionan para obtener polímeros pardos. Si el donador de protones es ascorbato no se obtiene pardeamiento, por lo cual, dependiendo del donador de protones se obtiene o no coloración [9, 10].

La naranjilla es una fruta de sabor y aroma especial, y muy aceptada por adultos, jóvenes y niños, originaria de los países Andinos, específicamente del sur de Colombia, Ecuador y Perú. La misma está considerada como una fruta tropical que no ha logrado ser exportada exitosamente; sin embargo, tiene un valor económico muy prometedor, a pesar de varios intentos sin lograr el éxito esperado. Se ha tratado de enlatar su jugo, pero con pérdidas significativas de sus propiedades sensoriales. Por otro lado, su cultivo está severamente limitado por su requerimiento climático y su susceptibilidad al ataque de hongos [11, 12, 13].

La variedad tradicional de naranjilla en el Ecuador es la "dulce", la misma que posee excelente aroma y sabor, pero lamentablemente es altamente perecible. La pulpa de la fruta se pardea extremadamente rápido, es por ello que el consumo del jugo de naranjilla se reduce a un mercado interno, por lo cual se hace necesario buscar una forma de reducir estos factores para crear la posibilidad de exportación [14].

La naranjilla contiene compuestos fenólicos y carotenoides que son de interés para la salud de los consumidores [15].

El objetivo del presente trabajo es estudiar la inactivación de las enzimas PPO y POD de jugos de naranjilla de las variedades Híbrida y Dulce utilizando un tratamiento de radiación UV-visible. Asimismo, se estudia el efecto que este tipo de tratamiento produce en otros parámetros de estos jugos, tales como pH, contenido en sólidos solubles, vitamina C, compuestos fenólicos y parámetros colorimétricos.

2 . METODOLOGÍA

2.1 Obtención y procesamiento del zumo

El zumo se obtuvo a partir de dos variedades de naranjillas (Híbrida y Dulce) provenientes de supermercados locales de Quito-Ecuador, a las cuales se retiró el pedúnculo y se realizó un lavado con agua potable a 18 °C. Luego se procedió a triturarlas en una licuadora Oster a 12000 rpm durante 3 min. A continuación se separaron los sólidos en suspensión utilizando un filtro con tamaño de poro de 1 mm de diámetro, luego de lo cual, con el fin de clarificar el zumo, se procedió a realizar una centrifugación del zumo filtrado, a 4 °C en un equipo ThermoScientific IEC CL31R Multispeed a 8000 rpm durante 30 min.

Posterior a la centrifugación, se tomó el sobrenadante para realizar la irradiación. El jugo clarificado fue almacenado en porciones de 1 L para cada variedad y conservado en congelación a -17 °C en recipientes de polietileno hasta ser irradiado.

El jugo fue descongelado manteniéndolo a 4 °C durante 8 h. El proceso de irradiación se llevó a cabo durante 480 min en un fotorreactor plano (Fig. 2) de metacrilato negro, cuyas medidas fueron 50×80×40 cm.

El zumo se colocó en una celda de metacrilato transparente de 25×20×5 cm. El sistema estaba provisto de lámpara de mercurio de presión media de marca UshioAmerica Inc. MHL 12", de 500 W de potencia nominal misma que equivale a la Philips HPM-12, que se ubicó a una altura de 22,4 cm de la superficie del jugo a irradiar. El intervalo de longitud de onda de la lámpara fue de 250 a 740 nm, cuyo espectro de emisión se muestra en la Fig. 1.

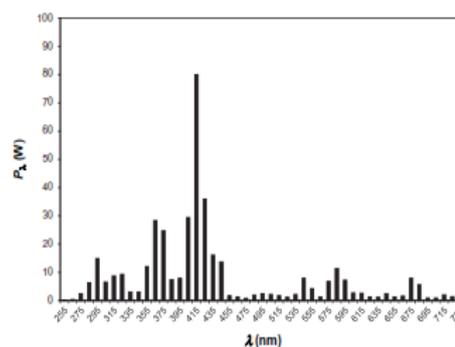


Figura 1.- Espectro de emisión de la lámpara Philips HPM-12 (equivalente a UshioAmerica Inc. MHL 12"). P_{λ} es la potencia de emisión a la longitud de onda λ .

[16]

La altura del líquido en la celda fue de 2 cm, la temperatura fue mantenida a 25 °C con ayuda de un serpentín de cobre para el enfriamiento, a través del cual se hizo circular agua fría (4°C). El jugo permaneció en régimen agitado, a la máxima turbulencia posible, para que la concentración de componentes del jugo sea uniforme en toda la masa del fluido, con ayuda de un sistema múltiple de agitación de

cinco puntos, conformado por agitadores magnéticos de diámetro igual a 0,034 m y a una velocidad de rotación de 175,43 rpm. El intervalo del tiempo de irradiación del jugo se estableció de 0 a 480 min, evaluándose periódicamente el grado de inactivación enzimática, cada 30 minutos, para observar el comportamiento enzimático conforme el aumento del tiempo de irradiación y así establecer un valor óptimo de tiempo de procesamiento

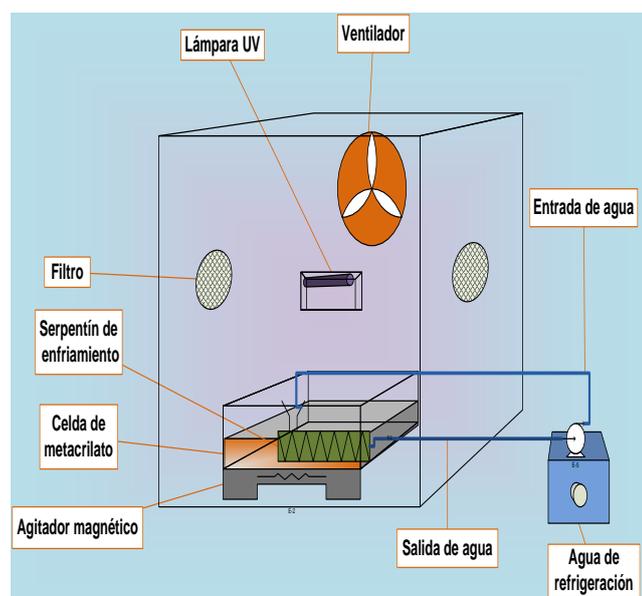


Figura 2. Esquema del fotorreactor plano para irradiación UV.

Una vez introducida la muestra en el fotorreactor se tomaron alícuotas de 20 mL del jugo, antes, durante y después del proceso de irradiación, para realizar los análisis requeridos. Las alícuotas se tomaron cada 30 min, desde los 0 min hasta los 480 min.

2.2 Análisis físicoquímicos y cuantificación de actividad enzimática

Los análisis físicoquímicos se realizaron en tres experimentos, y cada uno de ellos se realizó por triplicado.

El pH fue medido con un pHmetro WTW.

El color fue determinado con un colorímetro MINOLTA en parámetros de: *L*, que representa luminosidad, un valor de *L* bajo indica colores opacos, y por el contrario, un valor de *L* alto muestra colores claros; *a*, que indica la posición entre rojo y verde, valores negativos indican tono verde, y valores positivos indican color rojo; y *b*, que muestra el color entre amarillo y azul, valores negativos tienden la muestra hacia el azul y valores positivos hacia el amarillo. Para la determinación del color se tomaron 10 mL de muestra, que fue introducida en vaso de precipitación de 50 mL apoyado sobre el blanco de calibración del equipo. Sobre la superficie del vaso se colocó la punta del colorímetro y se realizó la medida.

El contenido de sólidos solubles se evaluó con base en el método 932.12[17], con un refractómetro ATAGO HSR-500 que posee una escala °Brix de 0,0 a 90,0 %, con precisión de 0,1 °Brix. Los compuestos fenólicos totales fueron evaluados mediante el método de Folin[18]

El contenido de azúcares totales y reductores se analizaron usando el ácido dinitrosalicílico aplicando el método descrito por [19].

El contenido de vitamina C se evaluó mediante yodometría[20]. Los análisis enzimáticos son el resultado de diez experimentaciones, cada una de ellas se realizó por duplicado.

Para determinar la actividad enzimática de la polifenoloxidasas (PPO) se adicionó en un tubo de ensayo 0,3 mL de una solución de 4-metilcatecol 0,1 M y 9,6 mL de una solución buffer de pH 6, 0,2 M, se estabilizó la temperatura a 30 °C y se colocó 1 mL de extracto enzimático, se colocó la mezcla rápidamente en un espectrofotómetro UV-VIS Labomed Inc. y se midió la absorbancia a 420 nm cada 3 s durante 3 min. La actividad enzimática en [U/mL] se definió como la cantidad de enzima que causa el incremento de una unidad de absorbancia a 420 nm en 3 min[21].

Para determinar la actividad enzimática de la peroxidasa (POD) se adicionó en un tubo de ensayo 2 mL de agua destilada, 0,32 mL de buffer pH 6, 0,1 M, 0,32 mL de una solución de pyrogallol 0,1 M y 0,16 mL de una solución de peróxido de hidrógeno 0,5 % (p/p). Se estabilizó la temperatura de la mezcla en un baño maría a 20 °C para luego adicionar 1 mL de extracto enzimático. Se realizó la lectura de la absorbancia a 420 nm cada 3 s durante 3 min, en un espectrofotómetro UV-VIS Labomed Inc. Una unidad [U/mL] fue definida como la cantidad de enzima que forma 1 mg de purpurogallina a partir de pyrogallol en 3 min [16]

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Propiedades físicoquímicas

El proceso de irradiación provocó una concentración del jugo del 49,4 % para la variedad Híbrida y del 22,7 % para la Dulce, lo cual se evidencia en el contenido de sólidos solubles (°Brix), tal como se puede observar en la Fig. 3. Dicha concentración puede deberse a la evaporación del agua presente en el zumo, ya que las condiciones a las que se da el proceso de irradiación la favorecen.

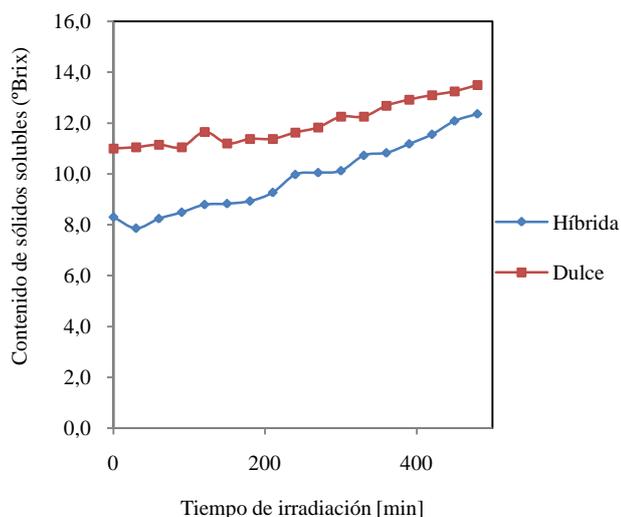


Figura 3. Contenido de sólidos solubles en el zumo de naranjilla de las variedades Híbrida y Dulce en función del tiempo de irradiación (n=3)

El pH, y los compuestos fenólicos totales no se vieron afectados por el proceso en ninguna de las dos variedades del jugo, lo cual se evidencia con los valores mostrados en la Tabla 1. Esto concuerda con los resultados obtenidos por [16] en zumo de manzana.

El proceso de irradiación provoca una pérdida de luminosidad (*L*) del 14 % en el jugo de variedad híbrida, lo cual difiere de los resultados obtenidos para el zumo de manzana, en donde este parámetro aumentaba conforme lo hacía el tiempo de irradiación. Los otros parámetros de color *a* y *b* no fueron afectados por la irradiación en ninguna de las dos variedades, lo cual se observa en la Fig.4 y se ratifica con los valores de *p* obtenidos mediante el método LSD, con 95 % de confianza, mostrados en las leyendas de dicha figura.

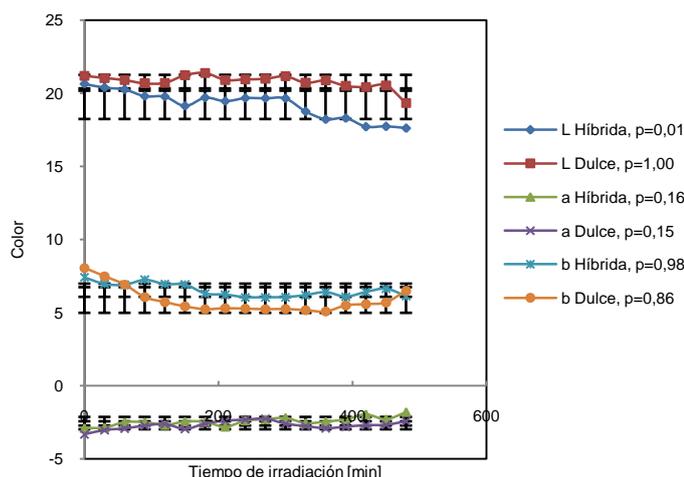


Figura 4. Valores de *p* y color en parámetros de *L*, *a*, *b* del zumo de naranjilla en función del tiempo de irradiación

En el trabajo realizado por [16], se observó un decremento de vitamina C al aumentar el tiempo de irradiación, lo cual no ocurre en el presente trabajo, ya que no se observó una variación estadísticamente significativa de este parámetro

durante los 480 min de irradiación, debido a que el valor de $p > 0,05$ (método LSD, 95 % de confianza) para vitamina C, presentado en la Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del jugo de naranjilla en función del tiempo de irradiación

Variedad de naranjilla	Híbrida		Dulce		
	t irrad [min]	0	480	0	480
pH		3,19±0,21	3,03±0,11	2,87±0,07	2,77±0,01
°Brix		8,3±0	12,4±1,41	11,0±0	13,5±0,14
Polifenoles solubles totales [mg ácido gálico/g de zumo]		17,52±1,97	16,91±1,50	22,02±2,74	21,85±3,26
Vit. C [mg/L]; $p > 0,05$		291,71±0	318,85±1,43E-2	429,32±0	549,94±5,34E-03
Azúcares totales (% aumento)		88,5		30	

Promedio ± desviación estándar (n=3)

Esto puede deberse al hecho de que el zumo de naranjilla posee pigmentos que absorben radiación en la misma longitud de onda que la vitamina C (260 nm), provocando un efecto fotoprotector sobre este parámetro.

El contenido de azúcares totales aumentó 88,5 % y 30 % en el jugo de la variedad Híbrida y Dulce, respectivamente. Esto puede deberse a que la irradiación degrada los polisacáridos del zumo como fructosa, celulosa, pectina, lignina y almidón en azúcares simples como glucosa, además de que el zumo sufre una concentración durante el proceso de irradiación lo cual se evidenció en la determinación de los °Brix, por lo tanto, es de esperar que este parámetro aumente debido a que se tiene un zumo concentrado 49,4 % para la variedad Híbrida y 22,7 % en la variedad Dulce

3.2 Actividad Enzimática

La actividad de la peroxidasa (POD) no fue afectada por el proceso hasta los 480 min de irradiación UV, pierde sentido el seguir realizando el proceso a un tiempo mayor debido a que las propiedades sensoriales del zumo se encuentran deterioradas y el principal objetivo de la experimentación fue inactivar las enzimas de manera que las propiedades organolépticas del jugo se vean mínimamente afectadas. Aunque la irradiación UV tiene un efecto positivo en la inactivación del zumo de manzana. La matriz que compone un zumo es diferente en cada uno de ellos, por esta razón no se observó inactivación en el de naranjilla, pero es probable que se pueda utilizar el mismo procedimiento en otra fruta.

Se debe tomar en cuenta que el zumo sufre un proceso de concentración, por lo cual es probable que la actividad enzimática medida se encuentre concentrada. Los valores tomados en el zumo de naranjilla de ambas variedades sin

tomar en cuenta el factor de concentración se muestran en la Fig.5.

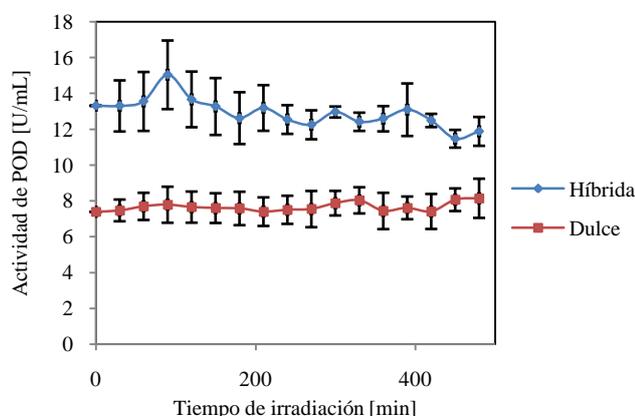


Figura 5. Actividad promedio de POD de 10 irradiaciones en función del tiempo de irradiación en zumo de naranjilla Híbrida y Dulce

Los resultados obtenidos en cuanto a la actividad de POD difieren de los encontrados por [16], en donde se inactivó dicha enzima a los 15 min de irradiación en el zumo de manzana. En el presente estudio no se logra la inactivación enzimática de POD después de 480 min de irradiación UV. La posible causa puede ser que la actividad de POD en el jugo de naranjilla es 190 veces más alta que la del jugo de manzana, en la variedad Híbrida, y 106 veces en la Dulce. Hay que tomar en cuenta que el comportamiento enzimático es diferente para cada fruta, ya que éste depende de la matriz que conforma el alimento en sí.

En el trabajo presentado por [16] se inactiva la PPO después de 100 min de irradiación UV. En el presente estudio se logra inactivar la PPO en el zumo de naranjilla Híbrida hasta el 45,8 % en 270 min de irradiación, y en el de naranjilla Dulce hasta el 34,8 % en 150 min de irradiación, después de lo cual no se logra inactivar más la enzima hasta los 480 min de irradiación. Esto se puede observar en la Fig. 6.

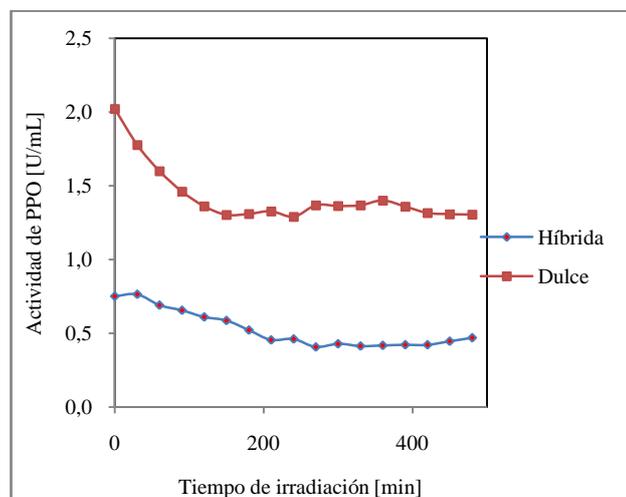


Figura 6. Actividad promedio de PPO de 10 irradiaciones en función del tiempo de irradiación en zumo de naranjilla híbrida y dulce

De la Fig. 6 se determinaron las ecuaciones de la actividad enzimática de PPO en función del tiempo de irradiación mediante una regresión lineal. La ecuación 1 determina el comportamiento de PPO en función del tiempo para el jugo de naranjilla Híbrida, y la ecuación 2 del zumo de naranjilla Dulce.

$$PPO = 0,77 - 1,40^{-3} \times tiempo \quad (1)$$

$$PPO = 1,94 - 4,70^{-3} \times tiempo \quad (2)$$

Los valores del coeficiente de determinación R^2 fueron 0,97 y 0,95 para las ecuaciones 1 y 2 respectivamente.

4 CONCLUSIONES

El proceso de irradiación ultravioleta ocasionó una concentración del zumo de naranjilla del 49,4 % en la variedad Híbrida y del 22,7 % en la Dulce, lo cual se evidencia en el contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix). El proceso no fue efectivo en la inactivación enzimática de la POD y PPO en el zumo de naranjilla. La POD no se vio alterada en 480 min de irradiación. La PPO se inactivó 45,8 % en 270 min de irradiación en el zumo de naranjilla Híbrida y 34,8 % en 150 min de irradiación en el zumo de naranjilla Dulce. El contenido de sólidos solubles, vitamina C, pH y polifenoles solubles totales no se vieron afectados por el proceso de irradiación. El contenido de azúcares totales aumentó, presentando una variación de 88,5 % y 30,0 % en el jugo de naranjilla Híbrida y Dulce respectivamente. La luminosidad L disminuyó 14 % en el zumo de naranjilla Híbrida.

5 REFERENCIAS

- [1] T. Bintsis, E. Litopoulou-Tzanetaki and R. Robinson, "Existing and potential applications of ultraviolet light - a critical review," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 80, no. 1, pp. 637-643, 2000.
- [2] J. Guerrero and G. Barbosa, "Review: Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light," *Food Science and Technology International*, vol. 10, no. 1, pp. 137, 138, 2004.
- [3] E. Ortega, *Non-thermal Food Engineering Operations*, Chihuahua: Springer New York Dordrecht Heidelberg London, 2012, pp. 212,219, 222-227.
- [4] T. Koutchma, "Advances in Ultraviolet Light Technology for Non-thermal Processing of Liquid Foods," *Food Bioprocess Technol*, vol. 2, no. 1, pp. 141, 143, 144, 145, 147, 148, 2009.
- [5] M. S. J. C. B. Ngadi, «Kinetics of ultravioletlight inactivation of Escherichia coli O157:H7 in liquid foods,» *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 83, pp. 1551-1555, 2003.

- [6] E. J. L. M. K. S. B. Murakami, «Factors affecting the ultraviolet inactivation of *Escherichia coli* K12 in apple juice and a model system,» *Journal of Food Process Engineering*, vol. 29, pp. 53-71, 2006.
- [7] W. A. M. B. E. F. M. G. J. Hijnen, «Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water:», *Water Research*, pp. 3-22, 2006.
- [8] N. El-Shimid, "Control of enzymatic browning in apple slices by using ascorbic acid under different conditions," *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 43, 1993.
- [9] Y. Gómez, C. Narváez and L. Sánchez, "Inhibición De Lesiones Por Frío De Pitaya Amarilla (*Acanthocereus* Pitajaya) A Través Del Choque Térmico: Catalasa, Peroxidasa Y Polifenoloxidasa," *Acta biol. Colomb.*, vol. 13, no. 1, p. 97, 2008.
- [10] S. Kwak, S. Kim, M. Lee, K. Jung, I. Park and J. Liu, "Acidic Peroxidases from Suspension-Cultures of Sweet Potato," *Phytochemistry*, vol. 39, no. 5, p. 981, 1995.
- [11] C. Heiser, "Ethnobotany of the Naranjilla (*Solanum quitoense*) and its Relatives," *Economic Botany*, vol. 39, 1985.
- [12] R. Hendrix, R. Litz and K. Bruce, "In vitro organogenesis and plant generation from leaves of *Solanum candidum* Lindl., *S. quitoense* Lam (naranjilla) and *S. sessiliflorum* Dunal.," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.*, vol. 11, 1987.
- [13] IICA, Guía práctica de manejo agronómico, cosecha, poscosecha y procesamiento de naranjilla, Managua: Funjides, 2007, pp. 5, 11, 13, 32, 34.
- [14] CONCOPE Consorcio de Gobiernos autónomos Provinciales del Ecuador, «CONCOPE,» 2001. [En línea]. Available: http://www.concope.gov.ec/Ecuaterritorial/paginas/Apoyo_Agro/Tecnologia_ininnovaci/Agricola/Cultivos_No_Tradicionales/naranjilla/index_naranjilla.htm. [Último acceso: 15 Octubre 2011].
- [15] A. Gance, P. Alter, C. Dhuique-Mayer, J. Ruales and F. Vaillant, "Identifying carotenoids and phenolic compounds in naranjilla (*Solanum quitoense* Lam var. Puyo híbrido), an Andean fruit," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 56, no. 24, pp. 11892-11899, 2008.
- [16] V. Falguera, J. Pagán and A. Ibarz, "Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties," *Food Science and Technology*, vol. 44, no. 1, pp. 115-119, 2011.
- [17] AOAC Official Methods of Analysis of AOAC International, Fruits and Fruit Products, 18 ed., Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, 2007.
- [18] K. Slinkard and V. Singleton, "Total Phenols Analysis: Automation and comparison with Manual Methods," *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 28, no. 1, p. 49, 1977.
- [19] G. L. Miller, "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar," *Analytical Chem.*, vol. 31, no. 12, p. 426, 1959.
- [20] L. Suntornsuk, W. Gritsanapun, S. Nilkamhank and A. Paochom, "Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 28, no. 1, p. 851, 2002.
- [21] F. Ülker, O. Arslan, S. Sinan, N. Gencer and Ö. Özensoy, "Characterization Of Polyphenoloxidase From Wild Pear (*Pyrus elaeagnifolia*)," *Journal of Food Biochemistry*, vol. 32, no. 1, pp. 368-383, 2008.