



Publicación Cuatrimestral. Vol. 7, No 3, Septiembre/Diciembre, 2022, Ecuador (p. 15-30). Edición continua

<https://revistas.utm.edu.ec/index.php/Basedelaciencia/index>

revista.bdlaciencia@utm.edu.ec

Universidad Técnica de Manabí

DOI: <https://doi.org/10.33936/revbasdelaciencia.v7i3.4654>

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PULPAS DE *PSIDIUM GUAJAVA* EN CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Marynés del Carmen Martínez Calderón¹ , Evelyn Pérez-Pérez² , Luis Sandoval³ , Ricardo Silva⁴ , Cesar Varón⁴ , Deisy Medina⁵ y Gretty Ettiene^{5*}

¹División de Estudios para Graduados. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia, Maracaibo, Zu 4002A. Venezuela. Correo electrónico: mynes831@gmail.com

²Departamento de Agronomía. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia, Maracaibo, Zu 4005. Venezuela. Correo electrónico: evelyncpp@gmail.com

³Instituto de Investigaciones Agronómicas. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia, Maracaibo, Zu 4005. Venezuela. Correo electrónico: lsandoval@fa.luz.edu.ve

⁴Facultad Experimental de Ciencias, Unidad de Investigaciones en Microbiología Ambiental (UIMA). Universidad del Zulia, Maracaibo, Zu 4005. Venezuela. Correo electrónico: uimafecluz@gmail.com, cesar.varonc@gmail.com

⁵Departamento de Química. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia, Bloque M. Maracaibo, Zu 4005. Venezuela. Correo electrónico: dmedinav@yahoo.com

*Autor para la correspondencia: gettiene@fa.luz.edu.ve

Recibido: 7-5-2022 / Aceptado: 12-12-2022 / Publicación: 26-12-2022

Editor Académico: Julio Torres

RESUMEN

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una fruta tropical muy apetecida en Venezuela, tanto para consumo fresco como procesada, por lo que su comercialización exige una calidad física, química y microbiológica para cumplir con los requerimientos normativos para su consumo. La investigación se llevó a cabo, con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante y la calidad microbiológica de pulpa de *P. guajava* almacenada, se cosecharon frutos del CESID Frutícola y Apícola (CORPOZULIA) para determinar las variables contenido de fenoles totales (método de Folin-Ciocalteu), flavonoides totales (método colorimétrico con tricloruro de aluminio), capacidad antioxidante (método ABTS), contenido de vitamina C (método de titulación 2,6-dicloroindofenol) y la calidad microbiológica (aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales, *E. coli*, *S. aureus*, hongos y levaduras, según la norma COVENIN 902, 1104, 1337 y 1292). Los tratamientos fueron dos temperaturas de conservación (0 y -10 °C) y cinco tiempos de almacenamiento (0, 15, 30, 45 y 60 días). Se aplicó un ANOVA y se realizaron pruebas de Dunnett y Tukey para la comparación de tratamientos. El contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y vitamina C disminuyó con los tratamientos, no observándose efecto sobre el contenido de fenoles. La actividad antioxidante solo se correlacionó con el contenido de fenoles totales. La carga microbiana disminuyó en condiciones de almacenamiento a -10 °C, y no se detectó la presencia de *E. coli*, *S. aureus*, hongos ni levaduras. La temperatura de -10 °C mejoró la actividad antioxidante y la calidad microbiológica de la pulpa de *P. guajava*.

Palabras clave: guayaba, microorganismos, fenoles, flavonoides, vitamina C



ANTIOXIDANT ACTIVITY AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF *PSIDIUM GUAJAVA* PULP IN STORAGE

ABSTRACT

The guava (*Psidium guajava* L.) is a very popular tropical fruit in Venezuela, both for fresh and processed consumption, so its commercialization requires physical, chemical and microbiological quality in order to comply with the regulatory requirements for its consumption. The objective was to evaluate the antioxidant activity and the microbiological quality of the pulp of *P. guajava*, fruits of the CESID Frutícola y Apícola (CORPOZULIA) were harvested, to determine the variables content of total phenols (method Folin-Ciocalteu), total flavonoids (colorimetric method with aluminum trichloride), antioxidant capacity (ABTS method), vitamin C content (2,6-dichloroindophenol titration method) and microbiological quality (mesophilic aerobes, total and fecal coliforms, *E. coli*, *S. aureus*, fungi and yeasts, according to the COVENIN 902, 1104, 1337 and 1292 standard). The treatments were two storage temperatures (0 and -10 °C) and five storage times (0, 15, 30, 45 and 60 days). An ANOVA was applied and Dunnett and Tukey tests were performed for the comparison of treatments. The content of flavonoids, antioxidant capacity and vitamin C decreased with the treatments, not observing effect on the content of phenols. The antioxidant activity only correlated with the content of total phenols. The microbial load decreased under storage conditions at -10 °C, not observing the presence of *E. coli*, *S. aureus*, fungi or yeast. The temperature of -10 °C improves the antioxidant activity and the microbiological quality of the *P. guajava* pulp.

Keys word: guava, microorganisms, phenols, flavonoids, vitamin C

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA POLPA DE *PSIDIUM GUAJAVA* ARMazenada

RESUMO

A goiaba (*Psidium guajava*) é uma fruta tropical muito desejada na Venezuela, tanto para consumo in natura quanto processada, portanto sua comercialização requer qualidade física, química e microbiológica para atender aos requisitos regulatórios para seu consumo. Para avaliar a atividade antioxidante e a qualidade microbiológica da *P. guajava* coletaram-se frutos do CESID Frutícola y Apícola (CORPOZULIA) para determinar as variáveis teor de fenóis totais (método de Folin-Ciocalteu), flavonóides totais (método colorimétrico com tricloreto de alumínio), capacidade antioxidante (método ABTS), teor de vitamina C (método de titulação de 2,6-dicloroindofenol) e qualidade microbiológica (aeróbios mesofílicos, coliformes totais e fecais, *E. coli*, *S. aureus*, fungos e leveduras, de acordo com a norma COVENIN 902, 1104, 1337 e 1292). Os tratamentos abrangeram duas temperaturas de armazenamento (0 e -10 °C) e cinco tempos de armazenamento (0, 15, 30, 45 e 60 dias). Aplicou-se um teste de ANOVA de Dunnett e Tukey para comparação dos tratamentos. O teor de flavonoides, capacidade antioxidante e vitamina C diminuíram com os tratamentos, sem efeito sobre o teor de fenóis. A atividade antioxidante foi correlacionada apenas com o teor de fenóis totais. A carga microbiana diminuiu em condições de armazenamento a -10 °C, sem presença de *E. coli*, *S. aureus*, fungos ou leveduras. A temperatura de -10 °C melhora a atividade antioxidante e a qualidade microbiológica da polpa de *P. guajava*.

Palavras chave: goiaba, microrganismos, Fenóis, flavonoides, vitamina C.

Citación sugerida: Martínez Calderón, M., Pérez-Pérez, E., Sandoval, L., Silva, R., Varón, C., Medina, D., & Ettiene, G. (2022). Actividad Antioxidante y Calidad Microbiológica de Pulpas de *Psidium Guajava* en Condiciones de Almacenamiento. *Revista Bases de la Ciencia*, 7(3), 15-30. <https://doi.org/10.33936/revbasdelaciencia.v7i3.4654>



1. INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de alimentos frescos, saludables, nutritivos y listos para comer estimuló la expansión del mercado de productos hortifrutícolas mínimamente procesados en todo el mundo (Voinea *et al.*, 2019). Entre sus atributos saludables destacan el significativo contenido de fitoquímicos que son beneficiosos para la salud, debido a que estos pueden presentar distintos mecanismos que se complementan en la neutralización de agentes oxidantes (radicales libres), por lo que tienen un efecto antioxidante (García *et al.*, 2011; Ramírez & Pacheco de Delahaye, 2011), su cuantificación es una práctica común al momento de seleccionar genotipos, etapas de maduración, condiciones de almacenamiento y de procesamiento, con el fin de obtener alimentos frescos y procesados con alto potencial de protección contra radicales libres (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013).

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una fruta tropical muy apetecida en Venezuela, tanto para consumo fresco como para materia prima en la agroindustria y dulcería casera. La aprobación de la misma se debe a sus características sensoriales, digestibilidad, valor comercial y propiedades nutricionales, tiene un aporte importante de fibra (49% base seca), es excelente fuente de vitamina A, vitamina C, tiamina, riboflavina y ácido nicotínico; así como de los minerales calcio, hierro y fósforo, además de carbohidratos (Ramírez & Pacheco de Delahaye, 2011), el fruto y las hojas poseen un contenido significativo de fenoles y flavonoides que lo hace una potencial fuente natural para la obtención de fitoquímicos antioxidantes que pueden ser utilizados para la aplicación en la industria de alimentos (Pérez-Pérez *et al.*, 2019; Pérez-Pérez *et al.*, 2014; Pérez-Pérez *et al.*, 2020).

La guayaba es un cultivar que posee un proceso de maduración muy rápido por lo cual entra en una secuencia de productos degradativos reduciendo así el periodo de conservación (García Mogollón *et al.*, 2010). Puede ser consumida como fruta fresca durante los primeros cuatro a seis días (García Mogollón *et al.*, 2010), después puede ser consumida como jugo y a partir del día siete al día diez, se recomienda que sea procesada industrialmente (Yirat Becerra *et al.*, 2009), se caracteriza por un alto contenido de humedad (84,9 %); lo que sugiere que gran parte de esa humedad se encuentra en forma disponible para el desarrollo de bacterias, hongos y levaduras propios de la microflora de la fruta, y adicionalmente, los aportados durante la cosecha provenientes del suelo y el agua, el traslado, la obtención y el procesamiento de la materia prima, el contacto con los operarios, las cajas, las bolsas, las cestas y los diversos medios de transporte (Román, 2007).

Como cualquier producto vegetal, la guayaba, luego de ser cosechada, pasa por cambios bioquímicos y microbiológicos que se incrementan con el tiempo y que traen como consecuencia la disminución de su calidad, por lo que surge la necesidad de conservarla a bajas temperaturas para mantener la calidad y reducir las pérdidas postcosecha en aras de mantener la oferta de la fruta.

Tomando en cuenta lo anteriormente planteado, el objetivo en esta investigación fue evaluar la actividad antioxidante (contenido de fenoles, flavonoides, capacidad antioxidante, vitamina C) y la calidad microbiológica (aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras) de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) en diferentes condiciones de almacenamiento (temperatura y tiempo).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Cromatografía del Instituto de Investigaciones Agronómicas en la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia. Los frutos fueron suministrados por el Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA (10°49'46.6"N 71°46'29.2"W), ubicado en el municipio Mara del estado Zulia, Venezuela, zona con condiciones de bosque muy seco tropical (Ewel *et al.*, 1976), ubicado en la altiplanicie de Maracaibo y con suelos clasificados como Typic Haplargids de textura franco arenosa (COPLANARH, 1975).

Material vegetal

El material vegetal se seleccionó de una población de 204 plantas de *Psidium guajava* L. del tipo Criolla Roja ubicadas en el banco de germoplasma del CESID-Frutícola y Apícola de CORPOZULIA. Se seleccionaron 32 kilos de frutos (madurez de consumo) al azar, recién cosechados, con ausencia de daño mecánico y de tamaño uniforme. Los frutos se trasladaron, en cestas plásticas protegidos de la luz, al laboratorio, se lavaron con agua de chorro a presión y jabón, se enjuagaron y se sumergieron en una solución de NaClO a una concentración de 1% durante 5 min, luego se enjuagaron con agua de chorro, finalmente, con agua destilada por un periodo de 2 min y se secaron en papel absorbente. Posteriormente, se procedió a homogeneizar los frutos completos (pericarpio) en un procesador de alimentos (Moulinex®), se tomaron 600 g para los análisis fitoquímicos y 400 g del homogeneizado para los análisis microbiológicos para el día 0 (día del muestreo), el resto de la pulpa se almacenó en bolsas plásticas (Ziplot®) de cierre hermético durante 15, 30, 45 y 60 días a una temperatura de 0 y -10 °C, por triplicado para los análisis fitoquímicos (Fenoles totales, flavonoides totales, capacidad antioxidante y contenido de vitamina C) y por duplicado para los análisis microbiológicos (Aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras).

Extracción de fitoquímicos

Se utilizó el método de extracción ultrasónica reportado por Kim *et al.* (2003), con ciertas modificaciones que se mencionan a continuación. Se colocaron aproximadamente 3 g de material vegetal en un matraz erlenmeyer de 25 mL y se agregaron 10 mL de la solución extractora (Metanol:agua, 80:20 % v/v), luego se procedió a realizar la extracción ultrasónica a 35 KHz (Elma® LC 130 H), durante 20 minutos, posteriormente, se filtró el sobrenadante por gravedad a través de lana de vidrio, lavando el material filtrante con 5 mL de metanol y recogiendo el filtrado en un balón volumétrico de 50 mL. Se repitió la extracción con las condiciones iniciales, uniendo finalmente los extractos, y enrasando con solución extractora. Luego el extracto, se almacenó en un frasco ámbar para la posterior determinación de fenoles totales (FT), flavonoides totales (FLT) y capacidad antioxidante (CA).

Determinación del contenido de fenoles (FT)

Para la determinación de FT, se empleó el método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteu (Folin & Ciocalteu, 1927). La determinación de fenoles totales se fundamentó en el método reportado por Kim *et al.* (2003), utilizando el método descrito por Singleton y Rossi (1965). Así, se transfirió una alícuota del extracto (1 mL), a un balón volumétrico de 25 mL que contenía previamente 9 mL de agua destilada. Luego, se adicionó 1 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck). Transcurridos 5 min, se agregaron 10 mL de carbonato de sodio (7% m/v) y se aforó con agua destilada, realizando una agitación vigorosa. Posteriormente, se almacenó durante 90 minutos en un lugar oscuro y se midió la Absorbancia (Spectronic Genesys®, USA) a una longitud de onda de 750 nm. La absorbancia de cada muestra se comparó con una curva estándar de ácido gálico (99%, Sigma). La curva se construyó realizando el mismo procedimiento utilizado para la muestra, pero se reemplazó por 1 mL de cada estándar de ácido gálico (20, 40, 60, 80, 100 mg.L⁻¹), para el blanco se usó agua destilada. El contenido de FT se expresó en mg equivalentes de ácido gálico (GAE).100 g⁻¹ de muestra.

Determinación del contenido de flavonoides totales (FLT)

La determinación de FLT, se realizó mediante el método espectrofotométrico reportado por Floegel *et al.* (2011), usando el método descrito por Zhishen *et al.* (1999), con ciertas modificaciones. Para ello, se añadió 1 mL del extracto a un balón volumétrico de 10 mL que contenía previamente 4 mL de agua destilada. Posteriormente, se agregó 0,3 mL de una solución de nitrito de sodio al 5% m/v. Transcurrido 5 min, se adicionó 0,3 mL de cloruro de aluminio al 10% m/v. Y pasados 6 min, se agregaron 2 mL de hidróxido de sodio 1 M, y se aforó con agua destilada hasta alcanzar los 10 mL. La absorbancia se midió (Spectronic Genesys®, USA) a una longitud de onda de 510 nm. Posteriormente, la absorbancia de la muestra se comparó con una curva estándar de catequina (96%, Sigma). La curva se construyó siguiendo el mismo procedimiento utilizado para la muestra, pero se

reemplazó por 1 mL de cada estándar de catequina (20, 40, 60, 80, 100 mg.L⁻¹), para el blanco se usó agua destilada. El contenido de FLT se expresó en mg equivalentes de catequina (CE).100 g⁻¹ de muestra.

Determinación de la capacidad antioxidante (CA)

Para la determinación de la CA, en primer lugar, se generó el catión ABTS^{•+} mediante la reacción entre ABTS 7 mM (19,2 mg) con persulfato de potasio 2,45 mM (3,3 mg), posteriormente la mezcla se guardó en un frasco ámbar en oscuridad a temperatura ambiente por un tiempo de 12 a 16 horas, con el fin de obtener una solución de color verde-azulada. Luego, 80 µL del ABTS se diluyó con 1.000 µL de etanol hasta obtener una absorbancia (Spectronic Genesys®, USA) de $0,70 \pm 0,02$ a 750 nm.

Para la medición, una cantidad del extracto (20 µL) se añadió a la mezcla etanol-ABTS (80 µL), se dejó reposar durante 5 min en oscuridad, para posteriormente realizar las lecturas espectrofotométricas a 750 nm (Kim *et al.*, 2003). La capacidad antioxidante se calculó, a través de una curva estándar de ácido gálico. La curva se preparó siguiendo el mismo procedimiento aplicado a la muestra, y sustituyendo la muestra por 20 µL de cada estándar de ácido gálico (10, 15, 20, 40, 60, 80 y 100 mg.L⁻¹), como blanco se utilizó etanol puro. La capacidad antioxidante del material vegetal se expresó en mg equivalente de ácido gálico (GAE).100 g⁻¹ de pulpa.

Determinación de vitamina C (AA)

El contenido de AA en la pulpa de los frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) se obtuvo usando el método volumétrico con el colorante 2,6-dicloroindofenol, especificado en la norma COVENIN 1295-82 (COVENIN, 1982). Este método se basa en la oxidación del ácido ascórbico transformándose a ácido dehidroascórbico. El punto final está determinado por la aparición de un color rosado en medio ácido, debido a la presencia en exceso del colorante sin reducir. Se realizó una modificación en la metodología, reemplazando la mezcla del ácido meta fosfórico-ácido acético por ácido oxálico al 1% m/v, con el fin de asegurar el mantenimiento adecuado de la acidez durante la extracción. Para la extracción de AA, se pesaron 20 g de la muestra, se agregaron 70 mL de ácido oxálico (1% m/v) y se colocó en planchas con agitación durante 10 minutos, el extracto se filtró por gravedad con lana de vidrio en balones volumétricos de 100 mL y se aforó con ácido oxálico (1%). Luego, se procedió a realizar la valoración por triplicado, con la solución de 2,6-DCIP, para lo cual, se tomaron 10 mL de cada muestra. Se usó como estándar una solución de ácido ascórbico (0,1 mg.mL⁻¹) y como blanco ácido oxálico. El contenido de vitamina C del material vegetal se expresó como mg de ácido ascórbico (AA).100 g⁻¹ de pulpa.

Evaluación de la calidad microbiológica

Preparación de la muestra

Se realizó de acuerdo a la norma COVENIN 1126-89 (COVENIN, 1989). Para ello, se pesaron 25 g de la pulpa de guayaba en una placa de Petri estéril, y se colocaron en un frasco con 225 mL de agua peptonada al 0,1%, el cual se homogeneizó a alta velocidad en una licuadora por un lapso de 60 seg. Posterior a la suspensión (dilución primaria), se tomó un (1) mL y se transfirió a un tubo de ensayo con 9 mL de agua peptonada al 0,1%; posteriormente, se agitó y se repitió el proceso hasta obtener soluciones decimales de hasta 10^{-4} .

Recuento de mesófilos aerobios

Se realizó según lo señalado en la norma COVENIN 902-87 (COVENIN, 1987). A partir de las diluciones realizadas, se agregaron alícuotas de 1 mL de cada dilución en placas de Petri por duplicado y se adicionaron 20 mL de ágar estándar para recuento en placas (Agar triptona glucosa levadura) previamente fundido, realizando movimientos rotatorios en forma de 8 y dejando solidificar, posterior a ello se incubó a 37 °C durante 48 horas. Una vez transcurrido el periodo de incubación, se determinó el número de unidad formadoras de colonias (UFC) por g de la muestra.

Determinación de coliformes totales, fecales, *Escherichia coli*

Se realizó, según lo establecido en la norma COVENIN 1104-1996 (COVENIN, 1996). El método consistió en realizar una prueba presuntiva, para la cual se sembró 1 mL de la muestra (homogenizada y diluida) en 3 tubos de ensayos a los cuales se les colocó un tubo de fermentación (Durham), con 10 mL del medio de cultivo (caldo lauril sulfato), y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Posteriormente, se tomaron los tubos que presentaron formación de gas y se confirmó con caldo bilis verde brillante al 2%. De cada tubo con gas obtenido del procedimiento anterior (para coliformes totales) se inoculó con un ansa a tubos que contenían caldo para enriquecimiento de coliformes (EC) y tubos de fermentación Durham. Se incubó en baño de agua a 45 °C durante 24 horas para confirmar la presencia de coliformes fecales. Posteriormente, de los tubos positivos de coliformes fecales se tomó una asada, se sembró por estrías en placas con agar Levine (EMB) y se incubaron durante 48 horas a una temperatura de 37 °C. Trascurrido el periodo de incubación se seleccionaron las colonias típicas de *E. coli* (verde metalizado) y se sembraron con un ansa en los medios de cultivo indicados para las pruebas de producción de indol, rojo metilo, Voges Proskauer y utilización del citrato (IMVIC), para su confirmación.

Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*

Se realizó la determinación de *S. aureus* de acuerdo a lo establecido en la norma COVENIN 1292:89 (COVENIN, 1989). El método consistió en realizar diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-4} . Las cuales se dispensaron en placas de Petri tomando alícuotas de 1 mL de cada dilución. Posterior a ello, se vertieron fundido 20 mL de agar manitol salado. Finalmente, se incubó a temperatura de 35 – 37 °C

y transcurrido el periodo de incubación se determinó el número de unidades formadoras de colonias por gramos de la muestra, para posteriormente realizar las respectivas pruebas bioquímicas.

Recuento de mohos y levaduras

El recuento se realizó según lo señalado en la norma COVENIN 1337-90 (COVENIN, 1990). Para ello, se colocó 1 mL de las diluciones respectivas, en placas de Petri por duplicado. Luego se añadió a cada placa 20 mL del medio de cultivo agar papa dextrosa previamente fundido y temperado a 45 °C. Se mezcló y se dejó solidificar sobre una superficie plana. Se invirtieron las placas y se incubaron en la oscuridad a una temperatura de 25 °C durante 3 a 5 días, finalizado el tiempo se realizó el recuento de mohos y levaduras por separado con una cuenta colonias y se anotó la dilución correspondiente. Los resultados se expresaron como recuento estándar por gramos de muestra.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 2x5, con tres repeticiones. Los tratamientos fueron combinaciones de dos temperaturas de conservación (0 y -10 °C) y cinco tiempos de almacenamiento (0, 15, 30, 45, 60 días) comprendidos en un periodo de tres meses cada 15 días.

Para el procesamiento de los datos, se utilizó el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS, 2003) para Windows. Se empleó el procedimiento PROC GLM para el análisis de varianza y la prueba de separación de medias se realizaron, mediante el método de Tukey y Dunnett.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de sustancias antioxidantes bajo diferentes condiciones de almacenamiento

El contenido de sustancias antioxidantes en pulpa de guayaba fresca y almacenada a 0 y -10 °C se presenta en la **tabla 1**.

Tabla 1. Contenido de sustancias antioxidantes en pulpa de guayaba fresca y almacenada a 0 y -10 °C, durante 60 días.

Día	Fenoles (mg ácido gálico.100 g ⁻¹)		Flavonoides (mg catequina.100 g ⁻¹)		Capacidad Antioxidante (mg ácido gálico.100 g ⁻¹)		Contenido de vitamina C (mg ácido ascórbico.100 g ⁻¹)	
	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C
0	100,59±12,36 ^a		87,38±1,80 ^b		68,42±8,96 ^{ab}		117,72±1,65 ^a	
15	121,52±10,76 ^a	133,97±5,09 ^a	47,29±2,52 ^c	201,24±8,49 ^a	71,14±4,14 ^{a,b}	89,19±5,00 ^{ab}	88,40±7,92 ^{a,b}	126,95±8,13 ^a
30	114,35±9,63 ^a	121,34±2,37 ^a	60,98±6,05 ^c	54,33±2,89 ^c	81,46±11,72 ^{a,b}	60,38±3,37 ^b	88,77±19,86 ^{a,b}	77,77±6,22 ^{a,b}
45	136,25±8,39 ^a	154,10±22,95 ^a	60,75±5,53 ^c	48,05±3,66 ^c	97,54±5,82 ^a	78,17±6,71 ^{a,b}	46,23±27,27 ^b	107,05±3,64 ^{a,b}
60	106,52±11,23 ^a	94,93±4,28 ^a	58,36±5,92 ^c	46,56±1,49 ^c	86,51±5,47 ^{a,b}	82,71±0,47 ^{a,b}	106,96±0,13 ^{a,b}	92,71±14,30 ^{a,b}

Los valores se muestran como la media ± EE (n=3). ^{a, b, c} Valores con letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas al 5 %.

Fuente: Elaboración propia

El contenido de fenoles en las diferentes condiciones de almacenamiento, no presentó diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los tratamientos con respecto al control (pulpa fresca). Sin embargo, el contenido de fenoles fue ligeramente superior en almacenamiento con respecto a la pulpa fresca, el mayor valor se alcanzó a los 45 días de almacenamiento a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($154,10\text{ mg AG.}100\text{ g}^{-1}$) y el menor valor a los 60 días a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($94,93\text{ mg AG.}100\text{ g}^{-1}$).

La tendencia en el aumento del contenido de fenoles en la pulpa de guayaba, durante el almacenamiento, pudiera deberse a que el fruto está metabólicamente activo, y el estrés provocado por el procesamiento, pudo haber activado la síntesis de fitoalexinas (metabolitos secundarios), como mecanismo de defensa del fruto. Resultados similares fueron reportados por Raga-Carreño *et al.* (2014) para pulpa de lechosa (*Carica papaya* L.) almacenada ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$), los autores concluyeron que la menor temperatura ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) influye positivamente sobre el contenido de fenoles.

Por otra parte, Zarate (2015), en pulpa fresca y congelada de guanábana (*Annona muricata* L.) obtuvo contenido de fenoles superiores ($193,11$ y $584,04\text{ mg AG.}100\text{ g}^{-1}$ de pulpa, respectivamente), a los registrados en la presente investigación para la pulpa fresca y congelada de guayaba ($100,59$ y $154,10\text{ mg AG.}100\text{ g}^{-1}$, respectivamente). Sin embargo, los resultados obtenidos para el contenido de fenoles en la pulpa de guayaba, son superiores al comparar con los resultados reportados por Fernández *et al.* (2016), para pulpas de lechosa (*Carica papaya*) y pomelo (*Citrus grandis*) almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 días ($36,40$ y $47,30\text{ mg AG.}100\text{ g}^{-1}$, respectivamente). Según Márquez *et al.* (2014), el contenido de fenoles totales depende de varios factores como son la variedad, la estacionalidad, el índice de madurez, las condiciones vegetativas del cultivo (especialmente del contenido de nutrientes y de la intensidad de la radiación solar), el estado de sanidad de la fruta, los métodos de almacenamiento, entre otros.

Con relación al contenido de flavonoides en pulpa de guayaba (tabla 1), se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre la pulpa fresca (control) y los tratamientos de almacenamiento. Así mismo, se observó que sólo hubo diferencias significativas ($p \leq 0,05$) a los 15 días entre las temperaturas de almacenamiento ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$), con el mayor valor para $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($201,24\text{ mg CE.}100\text{ g}^{-1}$), no así entre los demás tratamientos de almacenamiento. Adicionalmente, se observa una tendencia general hacia la disminución de la concentración de los flavonoides durante el periodo de almacenamiento con respecto a la pulpa fresca, con el menor valor para 60 días de almacenamiento a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($46,56\text{ mg CE.}100\text{ g}^{-1}$), lo que pudiera demostrar que esta variable se ve influenciada por el tiempo y las temperaturas de almacenamiento. Los resultados de esta investigación concuerdan con los obtenidos por Raga-Carreño *et al.* (2014) para pulpa de lechosa (*Carica papaya* L.) almacenada ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$), ellos observaron durante los tres meses de evaluación, una tendencia hacia la disminución del contenido de flavonoides. Sin embargo, los resultados obtenidos, difieren con los reportados por Jagtap *et al.* (2010), en frutos de *Artocarpus heterophyllus* almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$,

obteniendo valores de flavonoides de hasta 120 mg CE.100 g⁻¹ de pulpa. Sin embargo, son superiores a los señalados por Lima Dantas *et al.* (2013), quienes reportaron contenidos de flavonoides en pulpas de guayaba fresa (*Psidium* sp.) en diferentes estados de madurez almacenadas a -85 °C.

Con respecto a la capacidad antioxidante, no se observaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre la pulpa fresca (día 0) y los tratamientos, así como entre las temperaturas de almacenamiento (0 °C y -10 °C), excepto entre la pulpa almacenada por 45 días a 0 °C y la almacenada por 30 días a -10 °C (97,54 y 60,38 mg GAE.100 g⁻¹, respectivamente).

La capacidad antioxidante pudo haberse incrementado debido a una fuerte tendencia de los fenoles a las reacciones de polimerización. Esa tendencia se observó en un estudio realizado por Zarate (2015), con pulpas de guanábana almacenadas a 0 °C y -10 °C durante 45 días y por Domínguez-Guadarrama (2018) con pulpas de guayaba de diferentes variedades, almacenadas a -20 °C. Raga-Carreño *et al.* (2014), reportaron un comportamiento contrario en pulpas de lechosa (*Carica papaya* L.) almacenada (0 °C y -10 °C), cuya tendencia observada en la capacidad antioxidante fue hacia la disminución en función del tiempo de almacenamiento.

El contenido de ácido ascórbico (AA), mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) sólo entre la pulpa fresca (control) y la pulpa almacenada por 45 días a 0 °C, no así entre la pulpa fresca y el resto de los tratamientos, con el mayor contenido de AA (126,95 mg AA.100 g⁻¹) para la pulpa almacenada por 15 días a temperatura -10 °C. El contenido de AA descendió de los 15 a los 45 días principalmente en la pulpa almacenada a 0 °C. A partir de éste momento se observó un aumento tal que al final del periodo, y en el caso de los frutos a 0 °C, los valores observados no se diferenciaron de los obtenidos al inicio. La disminución inicial registrada podría ser debida al hecho de que el AA es un compuesto antioxidante que participa en los mecanismos de defensa frente al estrés de los productos vegetales. En este sentido, con base en lo señalado por Smirnoff (1996), este pudo haber sido utilizado por los frutos para protegerse del daño oxidativo generado por esa situación de estrés inicial causado por la refrigeración.

En un estudio realizado por Zarate (2015), se observó el efecto significativo de las temperaturas 0 °C y -10 °C sobre el contenido de AA en pulpas de guanábana almacenadas durante 45 días, siendo la temperatura de 0 °C la que tuvo mayor influencia en la disminución del valor de esta variable, estos resultados son similares a los descritos para la pulpa de guayaba, sin embargo, los valores de AA en guayaba tanto en pulpa fresca como en almacenamiento son superiores a los registrados para guanábana. Del mismo modo, el estudio desarrollado por Domínguez-Guadarrama (2018), en diferentes variedades de guayaba sobre el contenido de AA bajo almacenamiento a -20 °C durante 16 días, demostraron la influencia de las bajas temperaturas en el mantenimiento de esta variable, ya que se observa aumento con respecto a la pulpa fresca, resultados que no concuerdan con los obtenidos en este estudio, en el cual a lo largo del almacenamiento el contenido de AA en general disminuyó,

además existen diferencias en el contenido de AA ($383,67 \text{ mg AA.100 g}^{-1}$), reportado por Domínguez-Guadarrama (2018) y los obtenidos en esta investigación donde se encontraron valores máximos de $126,96 \text{ mg AA.100 g}^{-1}$.

Los valores de vitamina C reportados en esta investigación son inferiores a los señalados en la Tabla de Composición de Alimentos del Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela (2001), donde se reportan valores de hasta $1.454,6 \text{ mg AA.100 g}^{-1}$ para pulpas de guayaba.

Relación de la actividad antioxidante y el contenido de fenoles, flavonoides y vitamina C

El análisis de correlación de Pearson, indicó que existe una relación directa, de débil a moderada para fenoles ($r= 0,4700$) y débil para flavonoides ($r= 0,2715$) y la actividad antioxidante, sin embargo no se observan diferencias significativas para flavonoides mientras que si las hay para fenoles ($p < 0,01$), todo lo contrario ocurre en vitamina C, donde existe una relación inversa y muy débil ($r= -0,0656$) con la actividad antioxidante. Los resultados descritos, se asemejan a los reportados por Contreras-Calderón *et al.* (2011), en pulpas de 24 frutas exóticas determinados por el método ABTS, ya que los fenoles contribuyen de manera significativa en la actividad antioxidante. Raga-Carreño *et al.* (2014), en pulpas de lechosa (*Carica papaya*) almacenada ($^{\circ}\text{C}$ y -10°C) obtuvieron resultados similares de correlación entre fenoles totales y capacidad antioxidante (directa, aunque débil a moderada con un $r= 0,5106$), sin embargo, observaron una relación fuerte y directa ($r=0,8897$) entre la capacidad antioxidante y el contenido de vitamina C ($p<0,01$), diferentes a los obtenidos en este trabajo. A este respecto, Domínguez-Guadarrama (2018) indicó que la actividad antioxidante en pulpa de guayaba congelada estuvo correlacionada positivamente con el contenido de compuestos fenólicos totales, mientras que no existió relación alguna entre el contenido de vitamina C con la capacidad antioxidante, estos resultados se asemejan a los obtenidos en este trabajo.

Calidad microbiológica a diferentes condiciones de almacenamiento

Para todas las variables estimadas los mayores recuentos de microorganismos se observaron en el tratamiento control (pulpa fresca), existiendo diferencias significativas entre la pulpa fresca y los tratamientos ($p < 0,05$). Los resultados (**tabla 2**) indicaron que hubo una reducción del conteo de microorganismos en las pulpas en almacenamiento en comparación con el grupo control (pulpa fresca).

Los microorganismos que presentaron mayor conteo tanto en la pulpa fresca como en la almacenada fueron los mesófilos aerobios, sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las temperaturas evaluadas (0°C y -10°C), mientras que para coliformes totales y fecales si hubo diferencias significativas ($p < 0,05$), observándose una mayor disminución de los microorganismos para la temperatura de -10°C .

Tabla 2. Mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en pulpa de guayaba almacenada a 0 y -10 °C, durante 60 días.

Microorganismos						
Tiempo (días)	Mesófilos Aerobios (UFC mesófilos.100 g ⁻¹)		Coliformes Totales (Log 10 NMP coliformes.100 g ⁻¹)		Coliformes Fecales (Log 10 NMP Coliformes.100 g ⁻¹)	
0	4,60		3,04		3,04	
	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C
15	3,89	3,46	2,17	0,95	1,96	0,84
30	3,30	3,00	1,63	0,95	1,63	0,60
45	3,17	2,60	1,36	0,47	1,36	0,47
60	2,60	2,30	0,47	0,47	0,47	0,47

Los valores indican las medias. Log 10 NMP Coliformes.100 g⁻¹ de pulpa. Log 10 UFC mesófilos.100 g⁻¹ de pulpa.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos de la calidad microbiológica indicaron que las muestras analizadas para los diferentes tratamientos cumplieron con los estándares para mesófilos aerobios, ya que, el límite máximo establecido por COVENIN (1996) es de 1×10^4 , no así para pulpa fresca.

En lo que respecta a coliformes totales y fecales, según la norma NTE INEN 2337 (2008), las muestras de guayaba no cumplieron con los parámetros normativos (< 3 NMP) para la pulpa fresca, sin embargo, las poblaciones analizadas disminuyeron con el tratamiento de almacenamiento por 45 y 60 días a -10 °C, cumpliendo así con los estándares de calidad.

El estudio realizado por Farfán Rodríguez (2018), en pulpas de chirimoya (*Annona cherimola*) almacenadas a -18 °C, reportó una disminución significativa en el número de mesófilos y la no presencia de coliformes totales ni fecales, estos resultados difieren de los reportados en esta investigación.

Con respecto a los microorganismos patógenos, *E. coli*, *S. aureus*, mohos y levaduras, no se observó su presencia en ninguna de las muestras analizadas a las diferentes condiciones de almacenamiento (tabla 3).

Los niveles de mohos y levaduras se mantuvieron ausentes en la pulpa fresca y los tratamientos, lo cual difiere de lo reportado por Concha-Meyer *et al.* (2015); Gutiérrez *et al.* (2017) y Kyng y Ali (2016); quienes señalan que con el almacenamiento se logra la reducción inicial de mohos y levaduras pero que en muchos casos al final del almacenamiento se alcanzan poblaciones similares a muestras control de diferentes productos frutihortícolas.

Tabla 3. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras en pulpa de guayaba almacenada a 0 y -10 °C.

Microorganismos								
Tiempo (días)	<i>Escherichia coli</i> (NMP)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC)		Hongos (UFC)		Levaduras (UFC)		
0	Ausente	Ausente		0		0		
	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C	0 °C	-10 °C
15	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	0	0	0	0
30	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	0	0	0	0
45	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	0	0	0	0
60	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

Los resultados indicaron que las muestras analizadas para los diferentes tratamientos cumplieron con los estándares para mohos y levaduras, debido a que el límite máximo establecido por COVENIN (1996), es de 1×10^4 , no así para pulpa fresca. Igualmente cumplen con los estándares para microorganismos *E. coli* y *S. aureus*, ya que estuvieron ausentes.

El estudio realizado por Farfán Rodríguez (2018), en pulpas de chirimoya (*Annona cherimola*) almacenadas a -18 °C, reportó que no se detectó el crecimiento de *E. coli*, hongos y levaduras, ni en pulpa fresca ni bajo tratamiento, concordando con lo obtenido en pulpas de guayaba en este estudio. Al igual que estudios realizados por Coelho Barros *et al.* (2020), sobre la vida anaquel de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Tommy Atkins mínimamente procesado y almacenado a 5 °C y 12 °C, reportando que a 5 °C no se encontraron colonias de bacterias lácticas durante 15 días de evaluación.

4. CONCLUSIONES

Las condiciones de almacenamiento bajo refrigeración es un método de conservación efectivo para reducir el crecimiento de microorganismos en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) asegurando la calidad microbiológica del producto sin alterar su calidad fitoquímica, excepto para el contenido de vitamina C y flavonoides que tuvieron una disminución significativa a 0 °C.

La actividad antioxidante que presenta la pulpa de guayaba tiene correlación con la cantidad de fenoles totales, no así con el contenido de vitamina C ni el contenido de flavonoides.

Los niveles de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales disminuyeron en condiciones de almacenamiento, por lo que las temperaturas afectaron el crecimiento microbiano, especialmente a temperatura de -10 °C. Los microorganismos patógenos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, ni los microorganismos alterantes como hongos y levaduras estuvieron presentes.

5 DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS DE LOS AUTORES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

6 REFERENCIAS

- Coelho Barros, A., Figueiredo Neto, A., Tenório Nunes, M., de Oliveira Villar, S., Cardoso Viana, A., & Simão de Assis, J. (2020). Determinação da vida de prateleira de manga minimamente processada por parâmetros microbiológicos preditivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 21(1).
- Comisión Venezolana de Normas Industriales, COVENIN (1982). Norma 1295-82. Alimentos. Determinación de ácido ascórbico (vitamina C). Primera revisión.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales, COVENIN (1987). Norma 902-87. Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri. Segunda revisión.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales, COVENIN (1989). Norma 1292-89. Alimentos. Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*. Primera revisión.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales, COVENIN (1990). Norma 1337-90. Alimentos. Método para recuento de mohos y levaduras. Primera revisión.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales, COVENIN (1996). Norma 1104:1996. Determinación del Número Más Probable de Coliformes, Coliformes Fecales y de *Escherichia coli*. Segunda revisión. 15 p.
- Concha-Meyer, A., Eifert, J. D., Williams, R. C., Marcy, J. E., & Welbaum, G. E. (2015). Shelf life determination of fresh blueberries (*Vaccinium corymbosum*) stored under controlled atmosphere and ozone. *Inertational Journal of Food Science*, 2015, 164143. <https://dx.doi.org/10.1155/2015/164143>
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel, and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44(7), 2047-2053. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.003>
- COPLANARH. (1975). *Atlas Inventario Nacional de Tierras. Región Lago de Maracaibo*. Tecnicolor S. A.
- Domínguez-Guadarrama, A. A. (2018). Variación nutrimental y funcional de pulpa de guayaba en respuesta a diferentes temperaturas de almacenamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 19(1).
- Ewel, J., Madriz, A., & Tosi, J. (1976). Zonas de vida de Venezuela. Memoria explicativa sobre el Mapa Ecológico (2^{da} ed.). MAC-FONAIAP.
- Farfán Rodríguez, L. (2018). Efecto del pelado semiautomatizado sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de pulpa de chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). [Tesis profesional. Universidad Nacional Agraria La Molina].
- Fernández, N. L., Montenegro, S. B., Yamul, D. K., & Navarro, A. S. (2016). Parámetros fisicoquímicos de calidad y textura de frutos del noreste argentino sometidos a almacenamiento congelado. En *VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (Córdoba, 2016)*.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane, Determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73(2), 627-650. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84277-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84277-6)
- García Mogollón, C., Cury Regno, K., & Dussán Sarria, S. (2010). Evaluación poscosecha y estimación de vida útil de guayaba fresca utilizando el modelo de Weibull. *Acta Agronómica*, 59(3), 347-355.
- García, J. R., De la Rosa, L. A., González-Barrios, A. G., Herrera-Duenez, B., López-Díaz, J. A., González-Aguilar, G. A., Ruíz-Cruz, S., & Álvarez-Parrilla, E. (2011). Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. *Tecnociencia Chihuahua*, 5(2), 67-75.
- Gutiérrez, D. R., Chaves, A. R., & Rodríguez, S. D. C. (2017). Use of UV-C and gaseous ozone as sanitizing agents for keeping the quality of fresh-cut rocket (*Eruca sativa* Mill.). *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), 1-13. e12968. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12968>



- Instituto Nacional de Nutrición (INN) (2001). Tabla de Composición de los alimentos para uso práctico. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Dirección Técnica. Revisión 1999. Publicación N° 54. Serie Cuadernos Azules. Caracas, Venezuela.
- Jagtap, U. B., Panaskar, S. N., & Bapat, V. A. (2010). Evaluation of antioxidant capacity and phenol content in Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) fruit pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(2), 99-104. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0155-7>
- Kim, D. O., Jeong S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00423-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00423-5)
- Kying, O. M., & Ali, A. (2016). Effect of ozone exposure on microbial flora and quality attributes of papaya (*Carica Papaya* L) fruit. *Journal of Agronomy and Agricultural Aspects*, 2016, JAAA-104.
- Lima Dantas, A., De Melo Silva, S., Coelho de Lima, M., Lima Dantas, R., & Nunes Mendonça, R. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity during maturation of strawberry guava fruit. *Revista Ciência Agronômica*, 44(4), 805-814.
- Márquez, C., Otero, C., Rojano, B., & Osorio, J. (2014). Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en poscosecha. *Temas Agrarios*, 19(2), 173-184. <https://doi.org/10.21897/rta.v19i2.732>
- Norma Técnica Ecuatoriana, NTE INEN 2337. (2008). Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos.
- Pérez-Pérez, E., Saavedra-Guillén, M., Ortega Fernández, J., Sandoval-Sánchez, L., Medina-Lozano, D., Ramírez-Villalobos, M., & Ettiene-Rojas, G. (2019). Flavonoides en frutos de guayabo criolla roja (*Psidium guajava* L.). *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 53(3), 236-249.
- Pérez-Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa-Padrón, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L., & Medina, D. (2014). Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 31(1), 60-77.
- Pérez-Pérez, E., Castillo Pirela V.V., Ortega-Fernández, J., Sandoval-Sánchez, L., Medina-Lozano, D., Ramírez-Villalobos, M., & Ettiene-Rojas, G. (2020). Catequina y epicatequina en hojas de guayabo criolla roja. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 37(3), 262-279.
- Raga-Carreño, J., Ettiene, G., Pérez-Pérez, E., Sandoval, L., & Casas, J. (2014). Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante del mesocarpio homogeneizado y troceado de lechosa (*Carica papaya* L.). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 15(2), 135-144.
- Ramírez, A., & Pacheco de Delahaye, E. (2011). Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*, 36(1), 71-75.
- Román, J. (2007). *Efecto del tratamiento sobre la calidad microbiológica de pulpa de guayaba (Psidium guajava L.)* [Tesis de Maestría, Universidad del Zulia]
- Sánchez-Rangel, J., Benavides, J., Basilio Heredia, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. (2013). The Folin-Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 21(5), 5990-5999. <https://doi.org/10.1039/C3AY41125G>
- Singleton V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Smirnoff, N., (1996). The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of Botany*, 78(6), 661-669. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0175>
- Statistical Analysis Software, SAS (2003). SAS User's Guide: Statistic (9.0). Institute, Inc.
- Voinea, L., Vrănceanu, D.M., Filip, A., Popescu, D.V., Negrea, T.M., & Dina, R. (2019). Research on food behavior in Romania from the perspective of supporting healthy eating habits. *Sustainability*, 11(19), 5255. <https://doi.org/10.3390/su11195255>
- Yirat Becerra, M., García Pereira, A., Hernández Gómez, A., Calderín García, A., & Camacho Anaya, N. (2009). Evaluación de la calidad de la guayaba, variedad enana roja EEA-1-23, durante el almacenamiento a temperatura ambiente. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 18(2), 70-73.
- Zarate, Y. (2015). Crecimiento microbiano y actividad antioxidante en pulpa de guanábana (*Annona muricata*) bajo diferentes condiciones de almacenamiento. [Tesis de Maestría, Universidad del Zulia].

Zhishen, J., Mengcheng T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Contribución de autores	
Autor	Contribución
Marynés Martínez	Metodología, revisión, búsqueda bibliográfica
Evelyn Pérez-Pérez	Concepción, diseño del artículo y redacción
Luis Sandoval	Diseño experimental y análisis estadístico
Ricardo Silva	Metodología y análisis microbiológicos
Cesar Varón	Metodología y análisis microbiológicos
Deisy Medina	Búsqueda bibliográfica, revisión
Gretty Ettiene	Concepción, diseño del artículo y redacción