



Efecto del ozono sobre la calidad postcosecha de la mora (*Rubus adenotrichos*) durante su almacenamiento*

Effect of ozone on the postharvest quality of blackberry (*Rubus adenotrichos*) during storage

Marvin Soto¹, Valeria Marín², Ana M. Pérez¹

* Recepción: 7 de junio, 2024. Aceptación: 20 de agosto, 2024. Este trabajo formó parte del proyecto de graduación de Valeria Marín presentado para optar por el grado académico de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos, Universidad de Costa Rica.

¹ Universidad de Costa Rica (UCR), Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), San José, Costa Rica. marvin.soto@ucr.ac.cr (autor de correspondencia, <https://orcid.org/0000-0003-4869-8391>), ana.perez@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0003-0940-9796>).

² Universidad de Costa Rica (UCR), Escuela de Tecnología de Alimentos, San José, Costa Rica. valeriaml_17@hotmail.com (<https://orcid.org/0009-0007-6409-6573>).

Resumen

Introducción. La mora es una fruta perecedera, debido a su piel suave y sensibilidad a patógenos fúngicos como *Botrytis cinerea* causante del moho gris. El ozono es un gas que puede prolongar la vida útil y proteger la fruta del crecimiento de *B. cinerea*. **Objetivo.** Evaluar el efecto de la aplicación de ozono gaseoso sobre las características fisicoquímicas y parámetros de calidad postcosecha de mora fresca durante su almacenamiento. **Materiales y métodos.** Este estudio se realizó en el 2016 en el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica. Se utilizó mora (*Rubus adenotrichos*) de la variedad 'Vino con espinas rojas'. Los frutos fueron inoculados con *B. cinerea* y tratados con ozono gaseoso en un rango de 50-200 $\mu\text{g L}^{-1}$ por 150 min una vez al día, durante 0, 2, 4, 7 y 10 días de almacenamiento a 2 °C. Además, se aplicó un tratamiento control (sin ozono). Se evaluaron diferentes parámetros fisicoquímicos (color, sólidos solubles totales, acidez titulable y dureza) y de calidad postcosecha (porcentaje de fruta dañada y de fruta infectada con *B. cinerea*). **Resultados.** El tiempo de almacenamiento afectó significativamente ($p < 0,05$) todos los parámetros analizados, independiente de la aplicación de ozono. No se observó efecto del ozono sobre los parámetros fisicoquímicos. Sin embargo, el tratamiento con ozono influyó el porcentaje de fruta dañada ($p = 0,0067$) y de fruta afectada por *B. cinerea* ($p < 0,0001$). Después de 10 días, los frutos tratados con ozono presentaron un menor porcentaje de fruta afectada por *B. cinerea* ($78,95 \pm 1,08 \%$) comparado con las muestras sin tratar ($96,07 \pm 2,19 \%$). **Conclusión.** La aplicación de ozono podría ser un método eficaz para mantener la calidad de la mora, prolongar el tiempo de almacenamiento y mejorar la resistencia al deterioro fúngico.

Palabras clave: fruta, desinfección, preservación, moho, *Botrytis cinerea*.

Abstract

Introduction. Blackberries are highly perishable fruits due to their soft skin and susceptibility to fungal diseases, such as gray mold caused by *Botrytis cinerea*. Ozone is a gas that can extend the shelf life and protect the fruit from



the growth of *B. cinerea*. **Objective.** To evaluate the effect of gaseous ozone application on the physicochemical characteristics and postharvest quality parameters of fresh blackberries during storage. **Materials and methods.** This study was carried out at the National Center for Food Science and Technology of the Universidad de Costa Rica in 216. Blackberries (*Rubus adenotrichos*) of the “Vino con espinas rojas” variety were used. The fruits were inoculated with *B. cinerea* and treated with gaseous ozone at a range of 50-200 $\mu\text{g L}^{-1}$ for 150 min once a day over 0, 2, 4, 7, and 10 days of storage at 2 °C. Additionally, a control treatment (without ozone) was applied. Various physicochemical characteristics (color, total soluble solids, titratable acidity, and hardness) and postharvest quality parameters (percentage of damaged fruit and fruit infected with *B. cinerea*) were evaluated. **Results.** Storage time significantly affected ($p < 0.05$) all the parameters analyzed, regardless of ozone application. No effect of ozone on the physicochemical parameters was observed. However, ozone treatment influenced the percentage of damaged fruit ($p = 0.0067$) and fruit affected by *B. cinerea* ($p < 0.0001$). After 10 days, ozone-treated fruits showed a lower percentage of fruit affected by *B. cinerea* ($78.95 \pm 1.08 \%$) compared to untreated samples ($96.07 \pm 2.19 \%$). **Conclusion.** Ozone application could be an effective method for maintaining blackberry quality, extending storage time, and improving resistance to fungal deterioration.

Keywords: fruit, disinfection, preservation, mold, *Botrytis cinerea*.

Introducción

La mora (*Rubus* spp.) es una fruta muy consumida en Costa Rica, cuya composición y potenciales efectos beneficiosos en la salud humana han sido estudiados en distintas investigaciones (Azofeifa et al., 2016; Madrigal-Gamboa et al., 2021; Montero et al., 2022; Quesada-Morúa et al., 2020). En el país, el cultivo de mora se realiza en regiones altas (1500-2300 m s.n.m.) como la zona de Los Santos, donde el cantón de Dota es el principal productor a nivel nacional, así como en el cantón de El Guarco y las áreas elevadas del cantón de Pérez Zeledón. La variedad conocida como ‘Vino con espinas rojas’ de la especie *Rubus adenotrichos* (Schltdl.) es la más comercializada en el país (Soto et al., 2019).

Los beneficios asociados al consumo de moras derivan de su composición química, ya que constituyen una excelente fuente de vitaminas, minerales y fibra dietética, además de ser ricas en flavonoides y ácidos fenólicos (Olas, 2018; Robinson et al., 2020). Entre los compuestos fenólicos presentes de manera predominante en la especie de mora *R. adenotrichos* se encuentran los elagitaninos y las antocianinas, los cuales poseen actividad antioxidante (Soto et al., 2019). Sin embargo, estos compuestos tienden a disminuir con el tiempo, por lo cual es importante un adecuado manejo postcosecha para prolongar la vida útil y preservar la calidad nutricional y sensorial de la fruta (Kårlund et al., 2014).

Los frutos de mora son muy perecederos, debido a su piel suave y su susceptibilidad a las enfermedades fúngicas. Aunque se cosechan en plena madurez, su vida útil postcosecha varía de 2 a 5 días cuando se almacenan entre 0 °C y 2 °C con una humedad relativa del 90 % al 98 %. Sin embargo, en los supermercados y establecimientos de venta, la temperatura de almacenamiento suele oscilar entre 5 °C y 7 °C, lo que acelera su deterioro (Huynh et al., 2019). Incluso con condiciones óptimas de cosecha y almacenamiento, la mora está expuesta a la putrefacción fúngica, como la pudrición causada por *Botrytis cinerea* (Park et al., 2023).

B. cinerea es un fitopatógeno que ocasiona la enfermedad conocida como moho gris o pudrición del fruto, una de las más comunes en frutos del tipo baya, como la mora (Park et al., 2023), arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.) (Jaramillo-Sánchez et al., 2019) y fresas (*Fragaria x ananassa* Duch.) (Abd-Elkader et al., 2021). *B. cinerea* sigue un ciclo de infección en varias etapas: adhesión, germinación, penetración del tejido vegetal,

muerte celular adyacente y diseminación en el tejido circundante, lo cual causa colonización y maceración rápida del tejido infectado (Dewey & Grant-Downton, 2016).

A nivel postcosecha, se emplean técnicas de desinfección para controlar fitopatógenos, como el uso de ácido peracético, agua electrolizada, luz pulsada y plasma frío, como alternativas al uso de cloro (Pérez-Lavalle et al., 2020). Estos autores sugieren que el ozono gaseoso podría ser un método postcosecha eficaz para desinfectar moras frescas. Este tratamiento permite eliminar *Botrytis* sin comprometer su calidad nutricional.

El ozono es un gas natural que se encuentra en la atmósfera y que también puede ser producido de manera sintética. Es oxígeno triatómico (O_3) y se forma cuando el oxígeno molecular (O_2) reacciona con un radical libre de oxígeno. Debido a su alta acción oxidante puede destruir diferentes estructuras en microorganismos, como la pared y membrana celular, además puede modificar el ADN y ARN de bacterias, hongos, protozoos y virus (Aslam et al., 2020; Zambelli, 2023). Desde que fue reconocido como seguro (GRAS) en los Estados Unidos, la aplicación de ozono en la industria alimentaria ha aumentado de manera significativa a nivel experimental y comercial (Aslam et al., 2020; Pandiselvam et al., 2017; Sujayasree et al., 2022).

El ozono se forma en la atmósfera a través de la irradiación ultravioleta (UV) del sol y las descargas eléctricas de los rayos. A nivel comercial, se produce mediante métodos como la descarga de corona, la absorción de luz UV y la generación electroquímica (Yan et al., 2020). Dado que el ozono es inestable y se descompone en poco tiempo en oxígeno, debe generarse *in situ* para su uso inmediato (Tzortzakis & Chrysargyris, 2017). El método más común para la producción de ozono en equipos es la descarga de corona, que implica la aplicación de una descarga de alto voltaje en una fase gaseosa que contiene oxígeno, ya sea del aire o de oxígeno purificado (Zambelli, 2023).

En el manejo postcosecha de frutas y vegetales frescos, el ozono puede aplicarse como pretratamiento del aire en la cámara de almacenamiento o del agua utilizada para desinfectar los productos. También puede suministrarse de forma continua o intermitente a la atmósfera de la sala o cámara durante todo el periodo de almacenamiento (Shezi et al., 2020). La eficacia del método y la concentración de ozono suministrada dependen del sistema de aplicación, el tipo y la fisiología de los microorganismos objetivo, las características de las superficies de los productos (como grietas, hendiduras, tendencia hidrófoba y textura), el pH y la composición del producto, el tiempo de exposición al tratamiento, la humedad relativa y la temperatura (Aslam et al., 2020).

En la actualidad, en Costa Rica, el uso principal del ozono gaseoso en alimentos se centra en la reducción de la carga microbiana en productos secos, como hojas y hierbas destinadas a la producción de té (R. Palacios, comunicación personal, febrero 16, 2016). Esta tecnología alternativa aún no ha sido explorada en el país en productos frescos como frutas o vegetales. Bajo este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de ozono gaseoso sobre las características fisicoquímicas y parámetros de calidad postcosecha de mora fresca durante su almacenamiento.

Materiales y métodos

Materia prima

Se utilizó mora fresca (*R. adenotrichos*) de la variedad 'Vino con espinas rojas' madura (fruto con color de la cáscara morado oscuro). Se seleccionaron frutos recién cosechados, los cuales se colocaron en cajas de tereftalato de polietileno (PET) tipo *Clamshell* con 5,5 cm de altura y con capacidad máxima para 200 g de fruta. Todas las cajas utilizadas en el estudio fueron desinfectadas con una solución de etanol al 70 % (v/v), mediante aspersion, y se dejaron secar durante al menos 5 min. Las cajas contaban en el fondo con una almohadilla absorbente de líquido.

Los frutos se cultivaron mediante prácticas de agricultura orgánica y se cosecharon en el mes de febrero del 2016 en una finca ubicada en La Trinidad de Dota (San José, Costa Rica, altitud= 2475 m s. n. m., latitud= 09°39'58,7"N, longitud= 083°53'32,1"O) (Soto et al., 2019). Se cosecharon tres lotes de mora, que correspondieron a tres parcelas

de la misma finca. Los frutos se transportaron el mismo día de la cosecha en hieleras con hielo hasta las cámaras de refrigeración en el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (San José, Costa Rica), donde se aplicaron los tratamientos con y sin ozono gaseoso.

Diseño del estudio

Para evaluar el efecto de la aplicación de ozono gaseoso, se realizó un diseño en bloques al azar con un arreglo factorial 2 x 5. El primer factor fue la aplicación de ozono gaseoso en los frutos (con ozono y sin ozono) y el segundo factor el tiempo de almacenamiento (0, 2, 4, 7 y 10 días). Se realizaron tres repeticiones por tratamiento que correspondieron a los tres lotes de mora utilizados.

La unidad experimental correspondió a una canasta de PET con almohadilla absorbente en el fondo con 150 g de mora inoculada con *B. cinerea*. Para el experimento se utilizaron en total treinta canastas con mora inoculada, de las cuales la mitad fueron tratadas con ozono y la otra mitad no. Todas las canastas fueron colocadas en una cámara de refrigeración a una temperatura de $2,0 \pm 0,1$ °C durante su almacenamiento.

Aislamiento y purificación de la cepa de *Botrytis cinerea*

El aislamiento e identificación de la cepa de *B. cinerea* se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC) de la Universidad de Costa Rica. Se empleó una cepa de alta capacidad reproductiva, proporcionada por el mismo laboratorio, capaz de colonizar los frutos de mora. En primer lugar, se tomó una porción de micelio de un fruto infectado con *B. cinerea* con un asa estéril y se sembró en placas de Petri estériles con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), al que se añadieron dos gotas de ácido láctico al 25 % (v/v) para favorecer el crecimiento del hongo. Estas placas se incubaron a 25 ± 1 °C para permitir su crecimiento.

Después de cinco días, el hongo se purificó con una porción del medio de cultivo fresco PDA y se dejó crecer de nuevo en placas en la incubadora a 25 °C durante otros cinco días. A partir del hongo purificado, se preparó una suspensión de conidios. Para ello, se añadió una alícuota de 1,5 mL de agua pectonada (APE) en la placa y se raspó el micelio con un asa de Drigalski para obtener una cantidad adecuada de conidios. Esta suspensión se transfirió a un tubo de ensayo estéril con una solución de APE hasta alcanzar una concentración superior a 1×10^5 conidios/mL. La concentración de conidios se verificó con un hematocitómetro o una cámara de Neubauer.

Inoculación de los frutos de mora

Los frutos se sometieron a un proceso de desinfección antes de la inoculación de las moras. Cada unidad experimental, que consistía en una canasta de PET con 150 g de moras, se sumergió en un recipiente con hipoclorito de sodio al 2 % (v/v) durante 15 min. Pasado este tiempo, las moras se retiraron y se colocaron en otro recipiente con una solución de etanol al 70 % (v/v) durante 2 min. Luego, se sacaron de la solución y se enjuagaron con 1 L de agua esterilizada antes de ser secadas a temperatura ambiente durante 1 h en una cámara de flujo laminar, para continuar con el proceso de inoculación.

Cada unidad experimental se inoculó con 3 mL de la suspensión de conidios de *B. cinerea*, la cual fue preparada de forma previa. Para ello, las moras se transfirieron a una bandeja esterilizada y se aplicó la suspensión con una micropipeta con el fin de cubrir todos los frutos y evitar que el inóculo gotease o fluyera fuera de ellos. Luego, los frutos se dejaron secar a temperatura ambiente en una cámara estéril durante 90 min y luego se volvieron a colocar en las canastas de PET. La carga de *B. cinerea* inoculada en las moras desinfectadas fue de 1×10^5 conidios/mL.

Aplicación de ozono gaseoso y almacenamiento

El sistema para aplicar el ozono constó de una cámara que funciona a 10 ± 1 °C y a la cual estaba conectado un generador de ozono de descarga de corona (modelo VMUS-4, AZCO Industries Limited) y un detector de ozono (modelo 106-L, 2B Technologies). Dentro de la cámara se encontraban las bandejas en las cuales se colocaban las canastas con los frutos a ser tratados. Además, había un ventilador que permitía distribuir de forma más homogénea el ozono gaseoso.

Todas las canastas con los frutos de mora inoculados con *B. cinerea* fueron colocadas en una cámara de refrigeración a $2,0 \pm 0,1$ °C y almacenadas durante 0, 2, 4, 7 y 10 días, según el tratamiento. A las unidades experimentales tratadas con ozono, se les aplicó todos los días de forma interrumpida este gas. Para esto, cada día se sacaban las canastas de la cámara a 2 °C, se colocaban dentro del equipo de ozono y se aplicó una concentración promedio de ozono de 125 ± 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ durante 150 min (condiciones definidas según pruebas preliminares). Transcurrido este tiempo, las canastas se sacaban del equipo y se colocaban de nuevo en la cámara de refrigeración a 2 °C.

En el caso de las muestras sin tratar con ozono gaseoso, estas fueron sacadas de igual forma cada día de la cámara a 2 °C y colocadas en otra cámara de refrigeración a 10 °C durante 150 min para simular las mismas condiciones de temperatura y tiempo al que fueron sometidas las muestras tratadas con ozono. Finalizado dicho tiempo se colocaron de nuevo en la cámara a 2 °C. En cada tiempo de muestreo, las canastas eran sacadas de la cámara de refrigeración y se procedía a realizar en los frutos el análisis de los diferentes parámetros fisicoquímicos y de calidad postcosecha. El diagrama del sistema utilizado para la aplicación de ozono se muestra en la Figura 1.

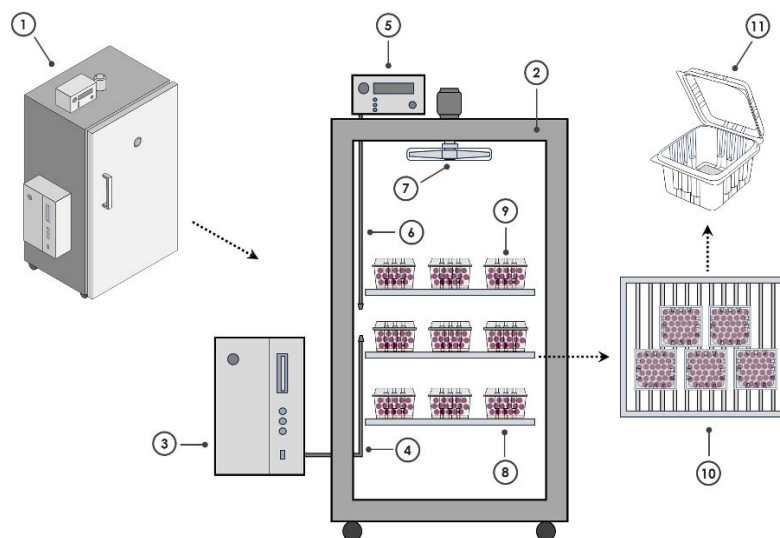


Figura 1. Diagrama del sistema de ozono utilizado para el tratamiento postcosecha de la mora fresca: (1) vista general del equipo; (2) cámara de ozono gaseoso; (3) generador de ozono (descarga de corona); (4) manguera del generador del ozono; (5) detector de ozono gaseoso; (6) manguera del detector de ozono; (7) ventilador de la cámara; (8) bandeja para colocar canastas de mora; (9) canasta con mora; (10) vista superior de la bandeja con la distribución de las canastas con mora; (11) canasta tipo *Clamshell* con tapa flexible y almohadilla absorbente. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Figure 1. Diagram of the ozone system used for postharvest treatment of fresh blackberries: (1) general view of the equipment; (2) gaseous ozone chamber; (3) ozone generator (corona discharge); (4) ozone generator hose; (5) gaseous ozone detector; (6) ozone detector hose; (7) chamber fan; (8) tray for placing blackberry baskets; (9) basket with blackberries; (10) top view of the tray with the distribution of blackberry baskets; (11) *Clamshell*-type basket with flexible lid and absorbent pad. National Center for Food Science and Technology, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Análisis fisicoquímicos

El color fue medido en la parte externa de los frutos con un colorímetro (modelo Color Flex 45/10, Hunter Lab). Para esto, diez unidades de mora se colocaron en la cubeta del equipo de manera que cubrieran la mayor cantidad posible de la placa. Los parámetros de color se expresaron en unidades CIELab (L^* , a^* y b^*) con un ángulo de observador de 10° y un iluminante D65. La diferencia de color (DE) se calculó con base en los parámetros L^* , a^* , y b^* para los frutos de mora almacenados a los diferentes tiempos y se tomó como referencia los frutos al inicio del almacenamiento ($t=0$ días), según cada tratamiento (con y sin ozono), de acuerdo con la ecuación 1.

$$DE = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (1)$$

Donde L_0^* , a_0^* y b_0^* representaron los valores de los frutos de mora al inicio del almacenamiento ($t=0$), y L^* , a^* y b^* representaron los valores de los frutos de mora, después de los diferentes días de almacenamiento ($t=2, 4, 7$ y 10 días). Los sólidos solubles totales (SST, expresados como $^\circ\text{Brix}$) se midieron en un refractómetro con termómetro digital (modelo NAT-1T, Atago Co., Ltd.) y compensación automática de temperatura. La acidez titulable total se determinó mediante el método estándar AOAC 942.15 (Association of Official Analytical Chemists, 2015) y se expresó como equivalentes de ácido málico (EAM), ya que es el principal ácido orgánico en la mora.

Para determinar la dureza, se midió la fuerza necesaria para comprimir cada fruto de mora. Se empleó un texturómetro (modelo TA. TX plus, Stable Micro Systems) bajo las siguientes condiciones: modo de prueba, compresión; velocidad de prueba, $3,00 \text{ mm s}^{-1}$; distancia de compresión, $5,00 \text{ mm}$. Se sometieron a prueba los frutos de mora ($n=20$), los cuales se colocaron de forma individual en posición vertical en la base del equipo y se presionaron con un cilindro de compresión de $2,5 \text{ cm}$ de diámetro. En cada caso, se registró la fuerza máxima de compresión correspondiente a la dureza, expresada en N.

Análisis de calidad postcosecha

La evaluación de la fruta dañada se llevó a cabo de forma cualitativa, mediante una inspección visual y táctil de todos los frutos de mora en cada caja. Se evaluó la suavidad de los frutos y la presencia de jugo, detectable por manchas en los dedos. En el caso de la fruta afectada por *B. cinerea*, se realizó una inspección visual de la superficie de todos los frutos en cada caja para identificar síntomas de pudrición y la presencia de micelio en estos. De esta manera, se contabilizaron los frutos afectados. Las ecuaciones 2 y 3 se utilizaron para determinar la cantidad de fruta dañada y la fruta afectada por *B. cinerea*, respectivamente.

$$\text{Fruta dañada (\%)} = \frac{\text{Cantidad de frutos con daños}}{\text{Cantidad total de frutos}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Fruta afectada por } B. \text{ cinerea (\%)} = \frac{\text{Cantidad de frutos con daños por } B. \text{ cinerea}}{\text{Cantidad total de frutos}} \times 100 \quad (3)$$

Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos se efectuó un análisis de varianza (ANDEVA) para evaluar el efecto de la aplicación de ozono y del tiempo de almacenamiento, además de la interacción de estos factores. En este caso el tiempo se evaluó como un factor nominal y cuando se detectaron diferencias significativas se aplicó la prueba post hoc de Tukey-HSD ($p < 0,05$). Además, se realizó un análisis de regresión lineal para evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento (factor continuo) sobre las diferentes propiedades analizadas en la mora ($p < 0,05$), según el tratamiento.

Se compararon los parámetros (m , pendiente; b , intercepto) de las regresiones lineales de las diferentes propiedades mediante la prueba t de Student para detectar diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el tratamiento con ozono y sin ozono. Los datos se presentaron como promedio \pm desviación estándar de las repeticiones ($n = 3$). Los análisis estadísticos se realizaron con Statistica 7.0 (Systat Software Inc.).

Resultados

Parámetros fisicoquímicos

De acuerdo con los resultados para los parámetros de color analizados (Figura 2), se encontró que para el parámetro L^* (luminosidad) el tiempo tuvo un efecto significativo ($p = 0,0057$). Se observó una reducción de la luminosidad en los frutos tratados con y sin ozono al transcurrir el tiempo de almacenamiento (Figura 2a). Esta reducción de L^* fue mayor al inicio del almacenamiento (0-4 días) con una estabilización a partir del día 4 y hasta el día 10 (Figura 2a).

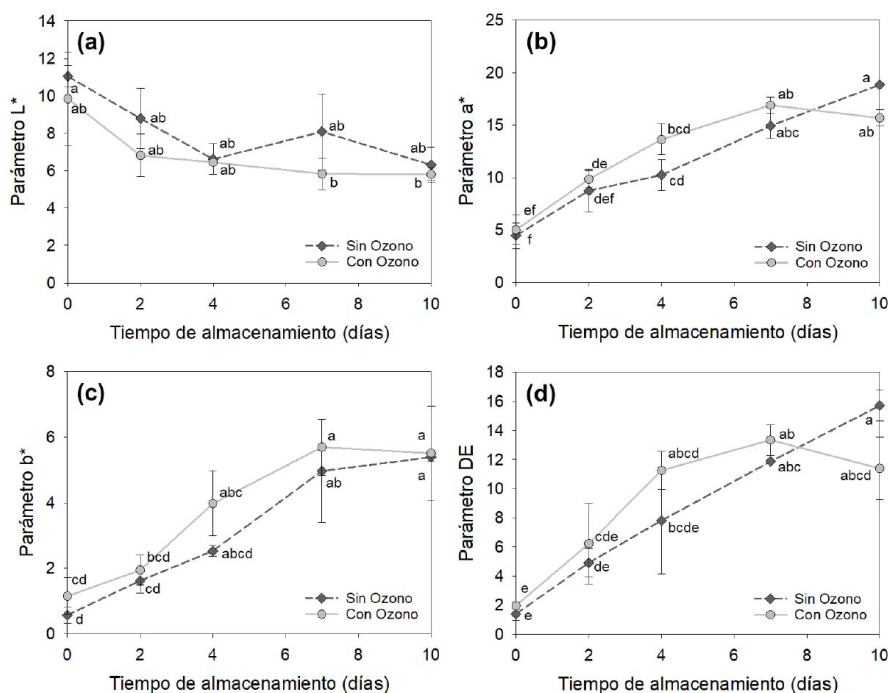


Figura 2. Parámetros de color determinados en mora fresca (*R. adenotrichos*), variedad ‘Vino con espinas rojas’, inoculada con *B. cinerea*, para evaluar el efecto de la aplicación de ozono durante el almacenamiento a 2 °C: (a) L^* , luminosidad; (b) a^* , coordenadas rojo/verde; (c) b^* , coordenadas amarillo/azul; (d) DE, diferencia de color. Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Valores expresados como promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Para cada parámetro, los valores promedio con letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

Figure 2. Color parameters determined in fresh blackberries (*R. adenotrichos*), variety ‘Vino con espinas rojas’, inoculated with *B. cinerea*, to evaluate the effect of ozone application during storage at 2 °C: (a) L^* , lightness; (b) a^* , red/green coordinates; (c) b^* , yellow/blue coordinates; (d) DE, color difference. School of Food Technology, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Values are expressed as mean \pm standard deviation ($n = 3$). For each parameter, mean values with different letters indicate significant differences (Tukey’s test, $p < 0.05$).

Se observó para los parámetros de color a^* (coordenadas de rojo/verde), b^* (coordenadas de azul/amarillo) y DE (diferencia de color), que hubo un efecto significativo del tiempo de almacenamiento. Según el ANDEVA, para estos parámetros el valor de p fue menor a 0,001. Los valores promedio de a^* , b^* y DE aumentaron conforme se acrecentaba el tiempo de almacenamiento, sin importar el tratamiento (Figuras 2b, 2c y 2d). Por otro lado, de acuerdo con el ANDEVA, para todos los parámetros de color evaluados (L^* , a^* , b^* y DE), no se encontró un efecto de la aplicación de ozono ni de la interacción del tiempo de almacenamiento con la aplicación de ozono (todos los valores de $p > 0,05$).

Con respecto al parámetro L^* , los frutos de mora que presentaron el mayor y el menor valor promedio fueron aquellos sin tratar con ozono en el día 0 ($11,05 \pm 0,58$) y los tratados con ozono en el día 10 ($5,80 \pm 0,33$), según la prueba de Tukey ($p < 0,05$), de forma respectiva (Figura 2a). En el caso de los parámetros a^* y b^* , las moras sin tratar con ozono presentaron el menor promedio al día 0, $4,45 \pm 0,33$ y $0,57 \pm 0,24$, de forma respectiva (Figura 2b y 2c). Para a^* , el mayor valor se observó al día 10 en la mora sin tratar con ozono ($18,86 \pm 0,17$) (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

Para el parámetro b^* se encontraron los mayores valores ($p < 0,05$) en los días 7 y 10 (tratamiento con ozono) y en el día 10 (tratamiento sin ozono), los valores promedios estuvieron entre $5,39 \pm 0,13$ y $5,70 \pm 0,86$ (Figura 2c). Con respecto al parámetro DE, se observó que los menores promedios se presentaron en el día 0, tanto para los frutos sin tratar con ozono ($1,39 \pm 0,45$) como para los que se les aplicó dicho gas ($1,96 \pm 0,23$). El mayor valor de diferencia de color se encontró en los frutos no tratados con ozono almacenados hasta el día 10, con un valor de $15,71 \pm 1,04$, de acuerdo con la prueba de Tukey (Figura 2d).

Otros parámetros fisicoquímicos evaluados en la mora fueron los sólidos solubles totales (SST), la acidez titulable y la dureza. Para estos tres parámetros el tiempo tuvo un efecto significativo ($p < 0,0001$). Se observó una reducción de estas variables conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento (Figura 3). Sin embargo, no se observó un efecto de la aplicación de ozono ni de su interacción con el tiempo de almacenamiento ($p > 0,05$) para dichos parámetros fisicoquímicos. Se apreció un comportamiento similar entre las curvas de los frutos tratados con ozono y sin tratar (Figura 3).

Los frutos de mora presentaron los valores máximos de contenido de SST (expresados como °Brix) en el día 0, sin importar la aplicación de ozono. Estos valores fueron $10,88 \pm 0,06$ °Brix (sin ozono) y $11,00 \pm 0,24$ °Brix (con ozono). A partir del día 4, se llegó a una meseta y los valores de SST se mantuvieron similares por el resto del almacenamiento, no encontrándose diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p > 0,05$) (Figura 3a). Los promedios de SST entre el día 4 y 10 tuvieron un rango de $6,83$ - $7,46$ °Brix (sin ozono) y $7,08$ - $7,75$ °Brix (con ozono).

Con respecto a la acidez total titulable, el mayor y menor valor se encontró en los frutos sin tratar con ozono al día 0 ($2,84 \pm 0,07$ g EAM 100 g^{-1}) y al día 10 ($2,08 \pm 0,15$ g EAM 100 g^{-1}), de forma respectiva. Los cambios de acidez total observados en la mora durante el almacenamiento a 2 °C fueron pequeños, como se observa en la Figura 3b. Después de 10 días de almacenamiento la reducción promedio de acidez fue de $0,76$ y $0,62$ g EAM 100 g^{-1} en los frutos de mora sin tratar con ozono y tratados con este gas, respectivamente.

En cuanto a la dureza de la mora, se observaron reducciones más grandes con respecto a los SST y a la acidez total. De acuerdo con la Figura 3c, al finalizar los 10 días de almacenamiento la reducción promedio de la dureza fue de $7,07$ N (sin ozono) y $6,04$ N (con ozono). Los mayores valores de dureza se encontraron en los frutos de mora al día 0, $8,65 \pm 1,89$ N (sin ozono) y $8,12 \pm 0,61$ N (con ozono), según la prueba de Tukey ($p < 0,05$). El menor valor de dureza se observó en la mora sin tratar con ozono al día 10 con un valor de $1,59 \pm 0,32$ N (Figura 3c).

Parámetros de calidad postcosecha

Se analizaron de forma visual en los frutos de mora dos parámetros postcosecha, fruta dañada y fruta afectada por *B. cinerea*, como se muestra en la Figura 4. Para estos parámetros el tiempo tuvo un efecto significativo ($p < 0,0001$),

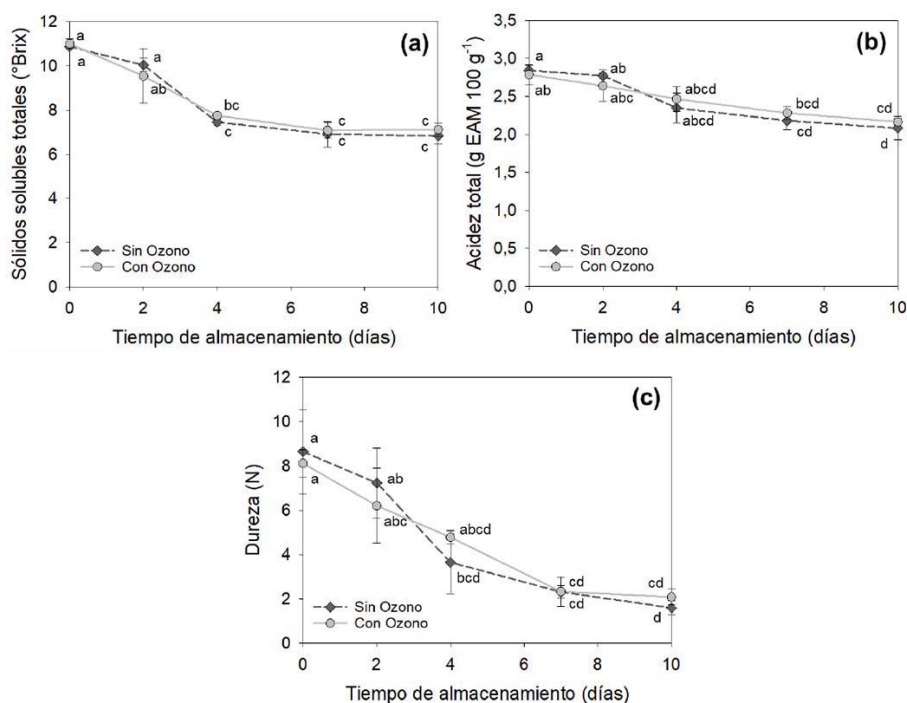


Figura 3. Parámetros fisicoquímicos determinados en mora fresca inoculada (*R. adenotrichos*), variedad ‘Vino con espinas rojas’, con *B. cinerea* para evaluar el efecto de la aplicación de ozono durante el almacenamiento a 2 °C: (a) sólidos solubles totales; (b) acidez total; (c) dureza. Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Valores expresados como promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Para cada parámetro, los valores promedio con letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey, $p < 0,05$). EAM, equivalentes de ácido málico.

Figure 3. Physicochemical parameters determined in fresh blackberries (*R. adenotrichos*), variety ‘Vino con espinas rojas’, inoculated with *B. cinerea*, to evaluate the effect of ozone application during storage at 2 °C: (a) total soluble solids; (b) total acidity; (c) hardness. School of Food Technology, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Values are expressed as mean \pm standard deviation ($n = 3$). For each parameter, mean values with different letters indicate significant differences (Tukey’s test, $p < 0,05$). EAM, malic acid equivalents.

lo cual se refleja en un aumento de los valores de estas variables conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento (Figura 4). Además, según el ANDEVA, se encontró que la aplicación de ozono tuvo un efecto sobre la fruta dañada ($p = 0,0067$) y la fruta afectada por *B. cinerea* ($p < 0,0001$). Inclusive para este último parámetro, se encontró que la interacción de aplicación de ozono con respecto al tiempo de almacenamiento fue significativa ($p = 0,0003$).

Con respecto a la fruta dañada (expresada como porcentaje), se observó que los menores valores se presentaron en los frutos en el día 0 según la prueba de Tukey ($p < 0,05$), sin importar la aplicación de ozono, $10,16 \pm 1,93$ % (sin ozono) y $9,50 \pm 1,93$ % (con ozono). Luego, al transcurrir el tiempo de almacenamiento se observó un mayor aumento de fruta dañada en la mora que no fue tratada con ozono, en particular en los días 4 y 7. Al finalizar los 10 días de almacenamiento, los frutos alcanzaron valores similares de fruta dañada (mayores al 94 %) sin importar la aplicación de ozono (Figura 4a).

En cuanto a la fruta afectada por *B. cinerea*, en la Figura 4b se puede observar que en los primeros días de almacenamiento (0-2 días) el crecimiento de *B. cinerea* fue mínimo, con valores de fruta afectada por este hongo menores al 4,80 %, sin importar el tratamiento aplicado. En estos primeros días, no se encontraron diferencias significativas entre los valores promedio de este parámetro según la prueba de Tukey ($p > 0,05$). En el día 4,

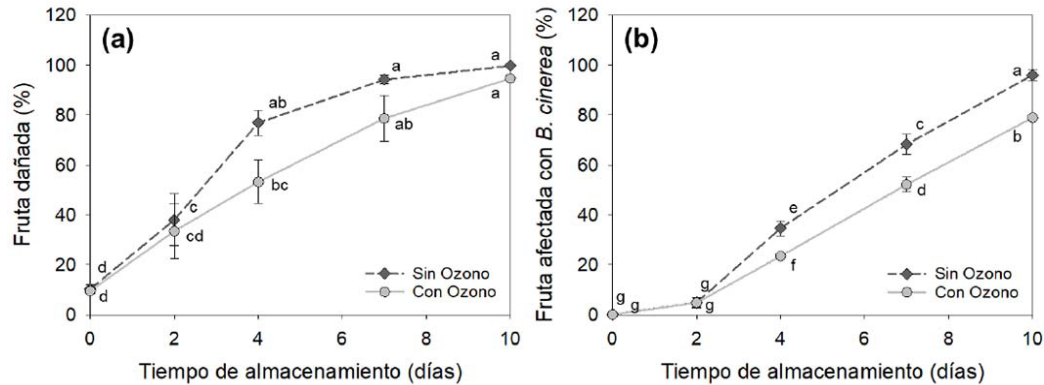


Figura 4. Parámetros postcosecha determinados en mora fresca (*R. adenotrichos*), variedad ‘Vino con espinas rojas’, inoculada con *B. cinerea* para evaluar el efecto de la aplicación de ozono durante el almacenamiento a 2 °C: (a) fruta dañada; (b) fruta afectada con *B. cinerea*. Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Valores expresados como promedio \pm desviación estándar ($n = 3$). Para cada parámetro, los valores promedio con letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey, $p < 0,05$).

Figure 4. Postharvest parameters determined in fresh blackberries (*R. adenotrichos*), variety ‘Vino con espinas rojas’, inoculated with *B. cinerea*, to evaluate the effect of ozone application during storage at 2 °C: (a) damaged fruit; (b) fruit affected by *B. cinerea*. School of Food Technology, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Values expressed as average \pm standard deviation ($n = 3$). For each parameter, mean values with different letters indicate significant differences (Tukey’s test, $p < 0.05$).

este parámetro aumentó de manera significativa en los frutos de mora, con un incremento lineal hasta el día final de almacenamiento (Figura 4b). Este comportamiento se refleja en la interacción significativa del tiempo de almacenamiento con respecto a la aplicación de ozono.

En el día 10 los frutos de mora que presentaron un mayor porcentaje de fruta afectada por *B. cinerea* fueron las muestras a las que no se aplicó el ozono gaseoso ($96,07 \pm 2,19 \%$) con respecto a las tratadas con este gas ($78,95 \pm 1,08 \%$). De hecho, a partir del día 4 se pudo observar de forma visual cómo los frutos sin tratar con ozono presentaban un mayor porcentaje de afectación por *B. cinerea* (Figura 5). Se encontró que los frutos sin ozono tuvieron una mayor presencia del hongo de color blanquecino/grisáceo sobre su superficie (Figura 5).

Al comparar los dos tratamientos, mediante un promedio de todos los días de almacenamiento, los frutos sin tratamiento con ozono presentaron un mayor porcentaje de fruta dañada y de fruta afectada con *B. cinerea* con respecto a la mora tratada con ozono (prueba de Tukey, $p < 0,05$). Los valores promedio de fruta dañada fueron de $63,82 \%$ (sin ozono) y $53,89 \%$ (con ozono). En el caso de la fruta afectada por *B. cinerea*, los valores estuvieron en $40,76 \%$ (sin ozono) y en $31,84 \%$ (con ozono). Se realizó un análisis de regresión lineal para todos los parámetros estudiados para evaluar el tiempo de almacenamiento como un factor continuo (Cuadro 1).

Según el análisis de regresión, todos los modelos fueron significativos, sin importar la aplicación de ozono ($p < 0,05$), como se observa en el Cuadro 1. Sin, embargo, se encontraron algunas variables que no tuvieron un buen ajuste. Algunos parámetros de color como L^* , a^* y DE presentaron valores de coeficiente de determinación (R^2) menores a 0,80. El resto de los parámetros analizados tuvieron valores de R^2 mayores a 0,80 e inclusive por encima del 0,90 (acidez total y fruta dañada por *B. cinerea*). Lo anterior demuestra el comportamiento lineal de las variables respuesta evaluadas en la mora con respecto al rango de tiempo de almacenamiento testeado.

Al comparar los valores de pendiente (parámetro m) e intercepto (parámetro b) de los modelos lineales obtenidos para evaluar el efecto de la aplicación de ozono, solo se encontró que hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en el parámetro m para la fruta afectada por *B. cinerea*. Se encontró un valor promedio de m menor para la mora tratada



Figura 5. Cambios postcosecha observados de manera visual en la mora fresca (*R. adenotrichos*), variedad ‘Vino con espinas rojas’, inoculada con *B. cinerea* tratada con y sin ozono durante el almacenamiento a 2 °C. Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Figure 5. Visually observed postharvest changes in fresh blackberries (*R. adenotrichos*), variety ‘Vino con espinas rojas’, inoculated with *B. cinerea* and treated with and without ozone during storage at 2 °C. School of Food Technology, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Cuadro 1. Análisis de regresión lineal de los diferentes parámetros fisicoquímicos y postcosecha evaluados en mora fresca (*R. adenotrichos*), variedad ‘Vino con espinas rojas’, inoculada con *B. cinerea* tratada con y sin ozono durante el almacenamiento a 2 °C. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

Table 1. Linear regression analysis of the different physicochemical and postharvest parameters evaluated in fresh blackberries (*R. adenotrichos*), variety ‘Vino con espinas rojas’, inoculated with *B. cinerea* and treated with and without ozone during storage at 2 °C. National Center for Food Science and Technology, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2016.

| Parámetro fisicoquímico/ postcosecha | Tratamiento | Regresión lineal | | | |
|--|-------------|------------------|----------------|---------------------------|-------------------------------|
| | | <i>p</i> | R ² | <i>b</i> | <i>m</i> (día ⁻¹) |
| L* (luminosidad) | Sin ozono | 0,0019 | 0,635 | 9,93 ± 0,51 ^a | -0,38 ± 0,10 ^a |
| | Con ozono | 0,0019 | 0,654 | 8,51 ± 1,87 ^a | -0,34 ± 0,22 ^a |
| a* (coordenadas rojo/verde) | Sin ozono | <0,0001 | 0,989 | 5,01 ± 1,10 ^a | 1,40 ± 0,10 ^a |
| | Con ozono | 0,0035 | 0,792 | 7,23 ± 0,97 ^a | 1,08 ± 0,12 ^a |
| b* (coordenadas amarillo/azul) | Sin ozono | 0,0012 | 0,959 | 0,63 ± 0,30 ^a | 0,52 ± 0,02 ^a |
| | Con ozono | 0,0037 | 0,882 | 1,41 ± 0,66 ^a | 0,49 ± 0,12 ^a |
| DE (diferencia de color) | Sin ozono | <0,0001 | 0,997 | 1,83 ± 0,07 ^a | 1,42 ± 0,13 ^a |
| | Con ozono | 0,0133 | 0,692 | 4,35 ± 0,25 ^b | 0,98 ± 0,14 ^a |
| Sólidos solubles totales (°Brix) | Sin ozono | 0,0006 | 0,810 | 10,56 ± 0,05 ^a | -0,36 ± 0,11 ^a |
| | Con ozono | 0,0005 | 0,811 | 10,29 ± 0,45 ^a | -0,39 ± 0,05 ^a |
| Acidez total (g EAM 100 ⁻¹ g) | Sin ozono | <0,0001 | 0,905 | 2,83 ± 0,04 ^a | -0,08 ± 0,01 ^a |
| | Con ozono | <0,0001 | 0,979 | 2,76 ± 0,20 ^a | -0,06 ± 0,02 ^a |
| Dureza (N) | Sin ozono | 0,0046 | 0,894 | 8,08 ± 0,51 ^a | -0,74 ± 0,18 ^a |
| | Con ozono | 0,0014 | 0,935 | 7,58 ± 1,00 ^a | -0,63 ± 0,06 ^a |
| Fruta dañada (%) | Sin ozono | 0,0047 | 0,876 | 22,10 ± 6,22 ^a | 9,07 ± 0,66 ^a |
| | Con ozono | 0,0003 | 0,980 | 14,77 ± 6,29 ^a | 8,51 ± 0,11 ^a |
| Fruta afectada por <i>B. cinerea</i> (%) | Sin ozono | 0,0009 | 0,980 | -6,51 ± 0,26 ^a | 10,28 ± 0,29 ^a |
| | Con ozono | 0,0009 | 0,980 | -6,38 ± 0,32 ^a | 8,31 ± 0,09 ^b |

Para los parámetros de la regresión lineal (*b* y *m*), los valores están expresados como promedio ± desviación estándar (n = 3). Para cada parámetro fisicoquímico y postcosecha, los valores *b* y *m* en la misma columna con letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba t-Student, *p* < 0,05). / For the linear regression parameters (*b* and *m*), values are expressed as mean ± standard deviation (n = 3). For each physicochemical and postharvest parameter, values of *b* and *m* in the same column with different letters indicate significant differences (Student’s t-test, *p* < 0.05).

con ozono con respecto a los frutos sin tratar (Cuadro 1). Esto indica que la velocidad a la que ocurrió la afectación de este hongo fue menor en los frutos de mora que fueron expuestos al ozono durante el almacenamiento.

Discusión

El color de la mora fue afectado significativamente por el tiempo de almacenamiento, debido a la reducción de la luminosidad (L^*) y al aumento del enrojecimiento (a^*) y de la tonalidad amarilla (b^*). Esto sucede por la acumulación de antocianinas y es una indicación del proceso de maduración y putrefacción en los frutos (Lawrence & Melgar, 2018). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el estudio realizado por Giuggioli et al. (2015), en el cual aplicaron ozono gaseoso ($50 \mu\text{g L}^{-1}$, 12 h) en frambuesas (*Rubus idaeus* L.) durante su almacenamiento (13 días, 20°C). Estos autores no observaron diferencia estadística en el color de los frutos tratados con y sin ozono, pero sí observaron un efecto del tiempo.

En cuanto a la diferencia de color (DE), se tomó como referencia el color de los frutos al inicio del experimento ($t = 0$). A partir del día 2, los frutos tratados con y sin ozono presentaron cambios de coloración perceptibles según lo que indica la literatura. Valores de DE mayores a 3,5 son evidentes para el ojo humano (Díaz-García et al., 2015). Al igual que en los otros parámetros de color, el tratamiento con ozono no afectó la DE en los frutos. De manera similar, no se detectó un efecto de la aplicación de ozono gaseoso ($9 \times 10^5 \mu\text{g L}^{-1}$, 3 min) en la DE en durián (*Durio zibethinus*) durante su almacenamiento (14 días, 4°C) (Sripong et al., 2022).

La disminución de los sólidos solubles totales (SST) en los frutos de mora puede explicarse por la actividad de *Botrytis*. Tras desinfectar e inocular los frutos con *B. cinerea*, el hongo se adapta al medio ambiente y consume los azúcares simples. Con el tiempo, su crecimiento incrementa, así como el consumo de estos sustratos (Dong et al., 2020). No obstante, la aplicación de ozono no afectó los SST en la mora almacenada a 2°C , lo que concuerda con los resultados obtenidos por Lopes Morais et al. (2015) en fresas (*Fragaria x ananassa* Duch.) almacenadas a 4°C durante 15 días. Estos autores observaron que el tratamiento de ozono ($1 \times 10^6 \mu\text{g h}^{-1}$ durante 20 min) no afectó el contenido de SST.

En otros estudios se han encontrado resultados diversos en cuanto al contenido de SST. Por ejemplo, se ha observado una mayor retención de sólidos solubles (glucosa y fructosa) en frambuesas rojas (*Rubus idaeus* L., cv Tulameen) tratadas con ozono gaseoso ($6000 \mu\text{g L}^{-1}$, 16 h) y almacenadas a 4°C durante 15 días, comparado con los frutos almacenados sin tratar con este gas (Pinto et al., 2020). Por otro lado, en peras (*Pyrus communis* L.) ozonizadas ($100 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$, 60 min) se observó con respecto al grupo control (sin ozono) una menor concentración de SST después de ser almacenadas a 25°C durante 6 días (Alencar et al., 2014).

La acidez titulable total mostró un patrón de reducción similar al de los SST con respecto al tiempo de almacenamiento, sin importar la aplicación de ozono gaseoso. Esta reducción en la acidez podría atribuirse al proceso de maduración de la mora, debido a su consumo durante la respiración y a la conversión de ácidos orgánicos en azúcares, lo que conduce a esta tendencia a disminuir (Mikulic-Petkovsek et al., 2015). Se ha observado que la exposición de la papaya (*Carica papaya* L. cv. Sekaki) a bajos niveles de ozono gaseoso ($1500 \mu\text{g L}^{-1}$, 96 h) durante su almacenamiento (14 días, 25°C), tiene un efecto mínimo sobre la reducción de la acidez titulable (Ali et al., 2014).

A diferencia de los resultados obtenidos en la presente investigación, se ha observado que la aplicación de ozono puede reducir la acidez total, tal como lo indica el estudio realizado por Lopes Morais et al. (2015) en fresas (*Fragaria x ananassa* Duch.) almacenadas a 4°C . Estos autores encontraron que el tratamiento con ozono ($1 \times 10^6 \mu\text{g h}^{-1}$, 20 min) generó una reducción de la acidez total con respecto a los frutos no tratados con este gas, en diferentes períodos de almacenamiento (5, 10 y 15 días). También se observó este fenómeno en morera negra

(*Morus nigra*) tratada con ozono a una concentración de $2000 \mu\text{g L}^{-1}$ y almacenada a 0°C hasta 15 días (Han et al., 2017).

La dureza de la mora se evaluó en cada unidad experimental con una muestra de veinte bayas, debido a la notable variabilidad de este parámetro en los frutos, lo que resultaba en valores muy dispares. Esta variabilidad podría atribuirse a las diferencias en el tamaño de las bayas dentro de las muestras; de forma general, las bayas pequeñas tienden a ser más firmes que las más grandes (Concha-Meyer et al., 2015). No obstante, se observó que la dureza en la mora se redujo de forma constante durante el tiempo, lo que coincide con los estudios realizados por Kim et al. (2015) y Menezes Oliveira et al. (2014), en los cuales se evaluaron distintos cultivares de mora (*Rubus* spp.).

La disminución en la dureza puede atribuirse a los cambios fisiológicos y bioquímicos que tienen lugar durante la maduración. En el fruto, estos cambios pueden incluir la pérdida de presión de turgencia, la liberación de aire extracelular y vascular, así como la pérdida de agua debido a la degradación de componentes estructurales como la pectina, celulosa y hemicelulosa, mediante procesos de hidrólisis y actividad enzimática (Horvitz et al., 2017). Otra causa de la pérdida de dureza puede ser el crecimiento de mohos, que provocan daños en la estructura de los tejidos, lo que provoca su ablandamiento (Jiang et al., 2022).

Según los resultados, el tratamiento de ozono no tuvo un impacto sobre la dureza de la mora. Esto concuerda con lo observado por Pellanda de Souza et al. (2018) en zanahorias (*Daucus carota* L.) ozonizadas (2500 y $5000 \mu\text{g L}^{-1}$, 60 min) y almacenadas a 18°C durante 5 días y por Alwi y Ali (2015) en chile dulce (*Capsicum annuum* L.) almacenado a 12°C durante 24 días (tratamiento con ozono entre 1000 y $9000 \mu\text{g L}^{-1}$ por 3 días). Sin embargo, otros estudios han encontrado que la aplicación de ozono retarda el decaimiento de la dureza en los frutos al generar un retraso en la senescencia de estos (Aday & Caner, 2014; Ali et al., 2014; García-Martín et al., 2018).

Con respecto a los parámetros de calidad postcosecha, se observó desde el inicio del estudio de almacenamiento la presencia de daños, como suavidad y pérdida de jugo, en las moras, tanto en las muestras tratadas con ozono como en las no tratadas. Este deterioro general del producto desde el día 0 de almacenamiento se puede atribuir al proceso de desinfección al que se sometieron todos los frutos para poder inocularlos con *B. cinerea*. Este proceso implicó varias inmersiones de las bayas en hipoclorito de sodio, etanol y agua destilada, lo que provocó humedecimiento de la mora y, como consecuencia, un ablandamiento del tejido y posibles rupturas de las paredes del fruto.

El deterioro general del producto después del segundo día de almacenamiento se debe a varios factores. Como se explicó antes, la pérdida de dureza es un factor importante, pero también influyen los procesos de respiración y transpiración de la fruta (Mikulic-Petkovsek et al., 2015). Además, el crecimiento de *B. cinerea* puede contribuir a este deterioro. Estos factores provocan la suavización y ruptura de los tejidos de las paredes celulares, lo que resulta en la pérdida de líquido de los frutos.

Los resultados demuestran que la aplicación de ozono redujo el porcentaje de mora dañada (más en los días 4 y 6), debido a una posible mayor inhibición del crecimiento de *B. cinerea*, lo que evita mayores pérdidas de jugo en la mora. Estos resultados coinciden con estudios previos que demuestran que el tratamiento con ozono reduce el deterioro durante el almacenamiento. Una menor pérdida de peso y salida de líquido en morera negra (*M. nigra*) tratada con ozono ($5140 \mu\text{g L}^{-1}$) a 2°C por 6 días fue observada por Tabakoglu y Karaca (2018). En naranjas (*Citrus sinensis* cv. Washington Navel) tratadas con ozono ($2,14 \mu\text{g L}^{-1}$, 30 min) y almacenadas a 5°C se observaron resultados similares (Koyuncu et al., 2023). Además, se ha estudiado que el ozono retarda la tasa de respiración e inhibe enzimas que degradan la pared celular de los frutos (Peng et al., 2024).

Se evaluó de forma visual el porcentaje de moras afectadas por *B. cinerea*. Se observó cuántas presentaban signos de este hongo (moho blanco/grisáceo) en cada canasta durante el período de almacenamiento de 10 días a 2°C . En el día 0, las muestras de ambos tratamientos (con ozono y sin ozono) fueron sometidas a desinfección y luego inoculadas con el hongo, por lo que era de esperarse que no se encontrara fruta afectada por *B. cinerea* en este día. Cabe destacar que el desarrollo visible del hongo en el fruto no ocurre en menos de 24 h, aunque este período puede variar según las condiciones ambientales, como la temperatura y la humedad relativa (Carisse, 2016).

Entre el día 4 y el día 10, se observó un mayor porcentaje de moras afectadas por *Botrytis* en el grupo de control (sin ozono) en comparación con el grupo tratado con ozono. Dadas las condiciones favorables, el ciclo completo de infección de este hongo puede completarse en 3 o 4 días (Carisse, 2016), lo que concuerda con los resultados obtenidos. La menor afectación de *B. cinerea* en los frutos de mora tratados con ozono respalda la eficacia del ozono como un método potencial de control microbiológico, a través de un efecto fungistático contra el moho gris. Sin embargo, es importante destacar que el ozono no funciona como un fungicida (Concha-Meyer et al., 2015).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con otras investigaciones que demuestran la eficacia de la exposición constante al ozono durante el almacenamiento para inhibir el crecimiento de hongos. En el estudio realizado por Cravero et al. (2016), se encontró que el recuento de mohos y levaduras en uvas (*Vitis vinifera* L. cv. Barbera) fue menor en los frutos tratados con ozono gaseoso ($32 \mu\text{g L}^{-1}$, 24 h). Otros estudios observaron la reducción de la incidencia de *B. cinerea* durante el almacenamiento de kiwi (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) (Luo et al., 2019) y moras andinas (*Rubus glaucus* Benth) (Horvitz et al., 2021) luego del tratamiento con ozono gaseoso, $79 \times 10^3 \mu\text{g L}^{-1}$ durante 1 h y $700 \mu\text{g L}^{-1}$ durante 3 min, respectivamente.

Conclusiones

El presente estudio demostró que la exposición con ozono gaseoso no afectó las características fisicoquímicas de los frutos de mora fresca (color, sólidos solubles totales, acidez titulable y dureza) durante su almacenamiento en refrigeración por 10 días. La investigación evidenció que el tratamiento con ozono retrasó de forma significativa el deterioro en la mora, así como el daño causado por *B. cinerea* (moho gris). La aplicación de ozono podría ser un método eficaz para mantener la calidad de la mora, prolongar el tiempo de almacenamiento y mejorar la resistencia al deterioro causado por *B. cinerea*. Futuros estudios deben realizarse para conocer el efecto del tratamiento con ozono a mayores concentraciones y por tiempos más prolongados en frutos no inoculados.

Agradecimientos

Este proyecto de investigación fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica (Proyecto No. 735-B2-062) y también por los fondos FS-CONARE (Proyecto: Aplicación de tecnologías innovadoras para contribuir con el desarrollo sostenible del cultivo de higo (*Ficus carica*) y mora (*Rubus* spp.) en Costa Rica). Los autores agradecen al Laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC) de la Universidad de Costa Rica por su colaboración en el aislamiento e identificación de la cepa de *Botrytis cinerea* utilizada en el estudio.

Conflicto de intereses

Los autores informan que no hay ningún posible conflicto de intereses.

Referencias

Abd-Elkader, D. Y., Salem, M. Z., Komeil, D. A., Al-Huqail, A. A., Ali, H. M., Salah, A. H., Akrami, M., & Hassan, H. S. (2021). Post-harvest enhancing and *Botrytis cinerea* control of strawberry fruits using low cost and eco-friendly natural oils. *Agronomy*, 11(6), Article 1246. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061246>

- Aday, M. S., & Caner, C. (2014). Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorine dioxide on strawberry storage life. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 344–351. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.006>
- Alencar, E. R., Faroni, L. R. A., Pinto, M. S., da Costa, A. D., & Carvalho, A. F. (2014). Effectiveness of ozone on postharvest conservation of pear (*Pyrus communis* L.). *Journal of Food Processing & Technology*, 5(4), Article 1000317. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000317>
- Ali, A., Ong, M. K., & Forney, C. F. (2014). Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chemistry*, 142, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.039>
- Alwi, N.A., & Ali, A. (2015). Dose-dependent effect of ozone fumigation on physiological characteristics, ascorbic acid content and disease development on bell pepper (*Capsicum annuum* L.) during storage. *Food Bioprocess Technology*, 8, 558–566. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1419-2>
- Aslam, R., Alam, M. S., & Saeed, P. A. (2020). Sanitization potential of ozone and its role in postharvest quality management of fruits and vegetables. *Food Engineering Reviews*, 12, 48–67. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09204-0>
- Association of Official Analytical Chemists. (2015). *Official methods of analysis of AOAC International* (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Azofeifa, G., Quesada, S., Navarro, L., Hidalgo, O., Portet, K., Pérez, A. M., Vaillant, F., Pouchet, P., & Michel, A. (2016). Hypoglycaemic, hypolipidaemic and antioxidant effects of blackberry beverage consumption in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Functional Foods*, 26, 330–337. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.007>
- Carisse, O. (2016). Epidemiology and aerobiology of *Botrytis* spp. In S. Fillinger, & Y. Elad. (Eds.), *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 127–148). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_7
- 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. *International Journal of Food Science*, 2015(1), Article 164143. <https://doi.org/10.1155/2015/164143>
- Cravero, F., Englezos, V., Rantsiou, K., Torchio, F., Giacosa, S., Río Segade, S., Gerbi, V., Rolle, L., & Coccolin, L. (2016). Ozone treatments of post harvested wine grapes: Impact on fermentative yeasts and wine chemical properties. *Food Research International*, 87, 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.031>
- Dewey, F. M., & Grant-Downton, R. (2016). *Botrytis* – biology, detection and quantification. In S. Fillinger, & Y. Elad. (Eds.), *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 17–34). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_2
- Díaz-García, M. C., Castellar, M. R., Obón, J. M., Obón, C., Alcaraz, F., & Rivera, D. (2015). Production of an anthocyanin-rich food colourant from *Thymus moroderi* and its application in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1283–1293. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6821>
- Dong, T., Zheng, T., Fu, W., Guan, L., Jia, H., & Fang, J. (2020). The effect of ethylene on the color change and resistance to *Botrytis cinerea* infection in ‘Kyoho’ grapefruits. *Foods*, 9(7), Article 892. <https://doi.org/10.3390/foods9070892>
- García-Martín, J. F., Olmo, M., & García, J. M. (2018). Effect of ozone treatment on postharvest disease and quality of different citrus varieties at laboratory and at industrial facility. *Postharvest Biology and Technology*, 137, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.015>

- Giuggioli, N., Briano, R., Girgenti, V. & Peano, C. (2015). Quality effect of ozone treatment for the red raspberries storage. *Chemical Engineering Transactions*, 44, 25–30. <https://doi.org/10.3303/CET1544005>
- Han, Q., Gao, H., Chen, H., Fang, X., & Wu, W. (2017). Precooling and ozone treatments affects postharvest quality of black mulberry (*Morus nigra*) fruits. *Food Chemistry*, 221, 1947–1953. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.152>
- Horvitz, S., Arancibia, M., Arroqui, C., Chonata, E., & Vírveda, P. (2021). Effects of gaseous ozone on microbiological quality of Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth). *Foods*, 10(9), Article 2039. <https://doi.org/10.3390/foods10092039>
- Horvitz, S., Chanaguano, D., & Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226, 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.002>
- Huynh, N. K., Wilson, M. D., Eyles, A., & Stanley, R. A. (2019). Recent advances in postharvest technologies to extend the shelf life of blueberries (*Vaccinium* sp.), raspberries (*Rubus idaeus* L.) and blackberries (*Rubus* sp.). *Journal of Berry Research*, 9(4), 687–707. <https://doi.org/10.3233/JBR-190421>
- Jaramillo-Sánchez, G., Contigiani, E. V., Castro, M. A., Hodara, K., Alzamora, S. M., García Loredó, A., & Nieto, A. B. (2019). Freshness maintenance of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during postharvest using ozone in aqueous phase: Microbiological, structure, and mechanical issues. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 2136–2147. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02358-z>
- Jiang, B., Liu, R., Fang, X., Wu, W., Han, Y., Chen, H., Xu, F., & Gao, H. (2022). Botrytis cinerea infection affects wax composition, content, and gene expression in blueberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 192, Article 112020. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112020>
- Kårlund, A., Moor, U., Sandell, M., & Karjalainen, R. O. (2014). The impact of harvesting, storage, and processing factors on health-promoting phytochemicals in berries and fruits. *Processes*, 2(3), 596–624. <https://doi.org/10.3390/pr2030596>
- Koyuncu, M. A., Kuleaşan, H., Erbaş, D., & Bodur, E. (2023). Using low dose fungicide by combining with intermittent ozone treatment to reduce fungicide residue, microbial load and quality losses in orange fruit during long term storage. *Food Control*, 144, Article 109363. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109363>
- Kim, M. J., Perkins-Veazie, P., Ma, G., & Fernandez, G. (2015). Shelf life and changes in phenolic compounds of organically grown blackberries during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 257–263. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.020>
- Lawrence, B., & Melgar, J. C. (2018). Harvest, handling, and storage recommendations for improving postharvest quality of blackberry cultivars. *HortTechnology*, 28(5), 578–583. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH04062-18>
- Lopes Morais, M., Oliveira Alvinhão, J. E., Vilela Franco, D., De Barros Silva, E., & Villalela Dessimoni Pinto, N. A. (2015). Application of ozone aiming to keep the quality of strawberries using a low cost reactor. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37(3), 559–567. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-181/14>
- Luo, A., Bai, J., Li, R., Fang, Y., Li, L., Wang, D., Zhang, L., Liang, J., Huang, T., & Kou, L. (2019). Effects of ozone treatment on the quality of kiwifruit during postharvest storage affected by *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Journal of Phytopathology*, 167(7–8), 470–478. <https://doi.org/10.1111/jph.12819>
- Madrigal-Gamboa, V., Jiménez-Arias, J., Hidalgo, O., Quesada, S., Pérez, A. M., & Azofeifa, G. (2021). Membrane processing effect of blackberry (*Rubus adenotrichos*) on cytotoxic and pro-apoptotic activities against cancer cell lines. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6), Article e15575. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15575>

- Menezes Oliveira, D., Kwiatkowski, A., Franco Rosa, C. I. L., & Clemente, E. (2014). Refrigeration and edible coatings in blackberry (*Rubus* spp.) conservation. *Journal of Food Science and Technology*, *51*, 2120–2126. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0702-3>
- Mikulic-Petkovsek, M., Rescic, J., Schmitzer, V., Stampar, F., Slatnar, A., Koron, D., & Veberic, R. (2015). Changes in fruit quality parameters of four *Ribes* species during ripening. *Food Chemistry*, *173*, 363–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.011>
- Montero, M. L., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., & Pérez, A. M. (2022). Composición nutricional, contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante hidrofílica de frutas costarricenses seleccionadas. *Agronomía Mesoamericana*, *33*(2), Artículo 46175. <https://doi.org/10.15517/am.v33i2.46175>
- Olas, B. (2018). Berry phenolic antioxidants—implications for human health? *Frontiers in Pharmacology*, *9*, Article 78. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00078>
- Pandiselvam, R., Sunoj, S., Manikantan, M. R., Kothakota, A., & Hebbar, K. B. (2017). Application and kinetics of ozone in food preservation. *Ozone: Science & Engineering*, *39*(2), 115–126. <https://doi.org/10.1080/01919512.2016.1268947>
- Park, D., Park, S.-Y., Liu, K.-H., & Ku, K.-M. (2023). Optimal allyl isothiocyanate concentration on *Botrytis cinerea* during the postharvest storage of blackberries and mechanism of blackberry color changes at high concentration of allyl isothiocyanate. *Postharvest Biology and Technology*, *199*, Article 112292. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112292>
- Pellanda de Souza, L., D'Antonino Faroni, L. R., Fernandes Heleno, F., Cecon, P. R., Carvalho Gonçalves, T. D., da Silva, G. J., & Figueiredo Prates, L. H. (2018). Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality. *LWT - Food Science and Technology*, *90*, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.057>
- Peng, X., Dong, C., Zhang, N., Zheng, P., Bai, Y., Ji, H., Yu, J., Ban, Z., Chen, C., & Hu, Y. (2024). Effect of ozone treatment on the decay and cell wall metabolism during the postharvest storage of cantaloupe. *Scientia Horticulturae*, *331*, Article 113119. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113119>
- Pérez-Lavalle, L., Carrasco, E., & Valero, A. (2020). Strategies for microbial decontamination of fresh blueberries and derived products. *Foods*, *9*(11), Article 1558. <https://doi.org/10.3390/foods9111558>
- Pinto, L., Palma, A., Cefola, M., Pace, B., D'Aquino, S., Carboni, C., & Baruzzi, F. (2020). Effect of modified atmosphere packaging (MAP) and gaseous ozone pre-packaging treatment on the physico-chemical, microbiological and sensory quality of small berry fruit. *Food Packaging and Shelf Life*, *26*, Article 100573. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100573>
- Quesada-Morúa, M. S., Hidalgo, O., Morera, J., Rojas, G., Pérez, A. M., Vaillant, F., & Fonseca, L. (2020). Hypolipidaemic, hypoglycaemic and antioxidant effects of a tropical highland blackberry beverage consumption in healthy individuals on a high-fat, high-carbohydrate diet challenge. *Journal of Berry Research*, *10*(3), 459–474. <https://doi.org/10.3233/JBR-190516>
- Robinson, J. A., Bierwirth, J. E., Greenspan, P., & Pegg, R. B. (2020). Blackberry polyphenols: Review of composition, quantity, and health impacts from in vitro and in vivo studies. *Journal of Food Bioactives*, *9*, 40–51. <https://doi.org/10.31665/JFB.2020.9217>
- Shezi, S., Magwaza, L. S., Mditshwa, A., & Tesfay, S. Z. (2020). Changes in biochemistry of fresh produce in response to ozone postharvest treatment. *Scientia Horticulturae*, *269*, Article 109397. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109397>

- Soto, M., Pérez, A. M., Cerdas, M. del M., Vaillant, F., & Acosta, Ó. (2019). Physicochemical characteristics and polyphenolic compounds of cultivated blackberries in Costa Rica. *Journal of Berry Research*, 9(2), 283–296. <https://doi.org/10.3233/JBR-180353>
- Sripong, K., Uthairatanakij, A., & Jitareerat, P. (2022). Impact of gaseous ozone on microbial contamination and quality of fresh-cut durian. *Scientia Horticulturae*, 294, Article 110799. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110799>
- Sujayasree, O. J., Chaitanya, A. K., Bhoite, R., Pandiselvam, R., Kothakota, A., Gavahian, M., & Mousavi Khaneghah, A. (2022). Ozone: An advanced oxidation technology to enhance sustainable food consumption through mycotoxin degradation. *Ozone: Science & Engineering*, 44(1), 17–37. <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1948388>
- Tabakoglu, N., & Karaca, H. (2018). Effects of ozone-enriched storage atmosphere on postharvest quality of black mulberry fruits (*Morus nigra* L.). *LWT*, 92, 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.044>
- Tzortzakis, N., & Chrysargyris, A. (2017). Postharvest ozone application for the preservation of fruits and vegetables. *Food Reviews International*, 33(3), 270–315. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175015>
- Yan, Y., Gao, Y., Zheng, H., Yuan, B., Zhang, Q., Gu, Y., Zhuang, G., Wei, Z., Yao, Z., Zhong, X., Li, X., & Wang, J. (2020). Simultaneous electrochemical ozone production and hydrogen evolution by using tantalum-based nanorods electrocatalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 266, Article 118632. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2020.118632>
- Zambelli, R. A. (2023). Chapter Two – Principles of ozonation and its equipment. In S. Mahdi Jafari, & N. Therdthai (Eds.), *Non-thermal food processing operations* (pp. 17–54). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818717-3.00006-8>