



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**“EFECTO DE BAJAS TEMPERATURAS SOBRE
ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS
RELACIONADOS CON LOS SÍNTOMAS DE DAÑO
POR FRÍO EN MANGO (*Mangifera Indica*, L.)”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS
P R E S E N T A :
GUADALUPE RAMÍREZ VILLATORO

ASESOR: DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2005

m. 344907



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVANZADA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Efecto de bajas temperaturas sobre aspectos fisiológicos
y bioquímicos relacionados con los síntomas de daño por
frío en mango (Mangifera indica, L.)"

que presenta la pasante: Guadalupe Ramírez Villatoro
con número de cuenta: 09656594-4 para obtener el título de :
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 6 de Diciembre de 2004.

PRESIDENTE Dr. Francisco Montiel Sosa

VOCAL Dra. Susana Patricia Miranda Castro

SECRETARIO Dra. María Andrea Trejo Márquez

PRIMER SUPLENTE IA. María Guadalupe López Franco

SEGUNDO SUPLENTE MC. María de la Luz Zambrano Zaragoza

AGRADECIMIENTOS.

A mi **Madre**, por todo lo que hace y ha hecho por mí, por procurarme todo lo que necesito, por esa tenacidad para hacer de mí la persona que soy, por estar siempre conmigo en todos los momentos de mi vida y por el simple hecho de ser mi madre.

A mi **Padre**, por estar conmigo compartiendo mis logros y mis desdichas, además de nunca abandonarme por equivocadas que hayan sido mis decisiones.

A **Pigüi** por su cariño, apoyo y preocupación incondicional, además de su paciencia al soportar mis malos ratos.

A **Ivan** por todos sus tan acertados consejos que me ha dado para no cometer tantos errores en mi vida, además por animarme a aventurarme en todos mis proyectos.

A **Israel** y **Daniel** por compartir conmigo gran parte de su vida y momentos tan inolvidables que han contribuido a mi persona.

A la **Dra. Andrea Trejo** por ser más que mi asesora sino una persona que he llegado a estimar, además por su apoyo, preocupación, dedicación y empeño para la realización de este trabajo y por llevar esa preocupación a la realización de un nuevo proyecto.

A la **MC. Norma Camacho**, por el apoyo brindado, así como sus observaciones y colaboración para llevar a cabo la realización de este trabajo.

A **Edna** por todo el apoyo recibido durante la realización de este trabajo, además por recibir de su persona una amistad incondicional se que perdurará por siempre, también por haberme brindado la confianza para compartir con ella una parte importante de mi vida.

A **Hugo, Maricela y Elizabeth** mis compañeros del laboratorio postcosecha por haber hecho más amena y grata mi estancia durante la planeación, realización y culminación de este trabajo.

A los alumnos que participaron en la estancia de *iniciación hacia la investigación 2004* organizada por la cátedra de laboratorio postcosecha de productos vegetales, en especial a **Alma Adela Lira**, por su entusiasta colaboración para la realización del trabajo experimental.

A **César** por su ayuda con las fotografías presentadas en la tesis, además de encontrar en él un apoyo incondicional y su amistad que siempre perdurará.

Al **Ing. Benito Cruz** por su apoyo, colaboración y consejos durante mi estancia en el CAT, además de encontrar en él a un buen amigo.

Se agradece a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) UNAM, mediante el proyecto PAPIIT IN211301-2 "*Efecto de tratamiento térmicos en la fisiología, bioquímica y microbiota natural del mango*" por el apoyo financiero para la realización del presente trabajo.

CONTENIDO.

	Página
Resumen.	ix
1. Introducción.	1
2. Antecedentes.	4
2.1 Generalidades del mango.	4
2.1.2 Variedades que se cultivan en México.	4
2.1.3 Importancia económica.	7
2.1.3.1 Situación actual.	7
2.1.3.2 Producción nacional.	7
2.1.4 Fisiología y Bioquímica.	9
2.1.4.1 Composición química y valor nutricional.	9
2.1.4.2 Cambios durante la maduración.	10
2.1.5 Pérdidas postcosecha.	18
2.1.6 Desordenes fisiológicos.	18
2.2 Daño por frío (Chilling Injury).	20
2.2.1 Definición.	20
2.2.2 Importancia.	22
2.2.3 Síntomas.	22
2.2.4 Respuestas fisiológicas y bioquímicas de los frutos al estrés por frío.	24
2.2.4.1 Alteraciones de la membrana.	24
2.2.4.2 Estimulación de la producción de etileno.	25
2.2.4.3 Cambios en la respiración.	25
2.2.4.4 Producción y uso de la energía.	26
2.2.4.5 Cambios en las proteínas y la actividad enzimática.	26
2.2.4.6 Efecto en flujo protoplásmico.	26
2.2.4.7 Incremento en la permeabilidad y fuga de solutos.	27
2.2.4.8 Reducción de la fotosíntesis.	27
2.2.4.9 Otras respuestas.	27
2.2.5 Teorías del mecanismo.	28
2.2.6 Control de los daños por frío.	29
2.2.7 Daño por frío en mango.	32
2.3 Pardeamiento enzimático.	35

2.3.1 Descompartimentación celular y oxidación enzimática.	35
2.3.3 Mecanismo de oxidación.	36
2.3.3.1 Reacción.	37
2.3.3.1.1 Etapa enzimática.	37
2.4 Generalidades de Polifenol oxidasa y Peroxidasa.	38
2.4.1 Polifenol oxidasa.	38
2.4.1.1 Propiedades.	38
2.4.1.2 Mecanismo de reacción.	38
2.4.1.3 Sustratos más importantes.	40
2.4.1.4 Condiciones de actividad óptima.	40
2.4.1.5 Inhibidores.	41
2.4.2 Peroxidasa.	41
2.4.2.1 Propiedades.	42
2.4.2.2 Mecanismo de reacción.	42
2.4.2.3 Sustratos más importantes.	43
2.4.2.4 Condiciones de actividad óptima.	43
2.4.2.5 Inhibidores.	44
2.4.3 Polifenol oxidasa y Peroxidasa en mango.	44
3. Objetivos.	46
3.1 Objetivo general	46
3.2 Objetivos particulares	46
4. Materiales y métodos.	47
4.1 Secuencia metodológica.	47
4.2 Material biológico.	48
4.3 Tratamientos de los frutos.	48
4.4 Evaluación de las características físicas, químicas y de calidad de diferentes variedades de mangos.	49
4.5 Caracterización cinética de Polifenol oxidasa [PPO] y Peroxidasa [POD] de mango 'Manila'.	49
4.5.1 Caracterización de PPO.	49
4.5.1.1 Efecto del pH.	49
4.5.1.2 Efecto de la temperatura.	50
4.5.1.3 Efecto de la concentración del sustrato.	50
4.5.1.4 Estabilidad térmica.	50
4.5.2 Caracterización de POD.	50
4.5.2.1 Efecto del pH.	50
4.5.2.2 Efecto de la temperatura.	51

4.5.2.3 Efecto de la concentración del sustrato.	51
4.5.2.4 Estabilidad térmica.	51
4.6 Evaluación de la relación entre los cambios en los compuestos fenólicos presentes en el mango con los síntomas de daño por frío que presentan las diferentes variedades.	52
4.7 Evaluación de la relación de las actividades de PPO y POD con los síntomas de daño por frío que se desarrollan en mangos de diferentes variedades cultivadas en México.	52
4.8 Evaluación del efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento en los diferentes parámetros fisiológicos y parámetros de calidad de mangos de diferentes variedades cultivadas en México.	53
4.9 Métodos analíticos.	53
4.9.1 Actividades enzimáticas.	53
4.9.1.1 Preparación de los Extractos Crudos.	53
4.9.1.2 Determinación de la Actividad de Polifenol Oxidasa.	54
4.9.1.3 Determinación de la Actividad de Peroxidasa.	54
4.9.2 Índice de Daño por Frío.	55
4.9.3 Determinación de Fenoles Totales.	55
4.9.3.1 Obtención de los extractos.	55
4.9.3.2 Cuantificación de Fenoles Totales.	56
4.9.4 Características físicas y fisiológicas.	56
4.9.4.1 Determinación de la Firmeza.	56
4.9.4.2 Determinación de la Pérdida de Peso.	57
4.9.4.3 Determinación del Color.	57
4.9.4.4 Determinación de la Respiración.	57
4.9.5 Características fisicoquímicas y químicas.	58
4.9.5.1 Determinación de la Acidez Total.	58
4.9.5.2 Determinación de los Sólidos Solubles.	58
4.9.5.3 Determinación del pH.	59
4.9.5.4 Determinación del Contenido de Humedad.	59
4.9.5.5 Determinación del Contenido de Proteína.	59
4.9.5.6 Determinación del Contenido de Carbohidratos.	59
4.9.5.7 Determinación del Contenido de Grasa.	60
4.9.5.8 Determinación del Contenido de Cenizas Totales.	60
4.9.5.9 Determinación del Contenido de Fibra Cruda.	60

4.10	Análisis estadístico.	60
5.	Resultados y discusión.	61
5.1	Evaluación de las características físicas, químicas y de calidad de diferentes variedades de mangos.	61
5.2	Caracterización Cinética de Polifenol Oxidasa [PPO] y Peroxidasa (POD) de mango 'Manila'.	68
5.2.1	Efecto de pH.	68
5.2.2	Efecto de la temperatura.	70
5.2.3	Estabilidad térmica.	72
5.2.4	Efecto de la concentración del sustrato.	76
5.3	Contenido de fenoles totales.	78
5.4	Índice de daño por frío.	81
5.5	Cambios en la actividad de Polifenol oxidasa y Peroxidasa.	86
5.5.1	Cambios en la Actividad de PPO.	86
5.5.2	Cambios en la Actividad de POD.	89
5.6	Relación de la actividad de PPO y POD, contenido de compuestos fenólicos y los síntomas desarrollados de daño por frío.	91
5.7	Efecto de la temperatura de almacenamiento en la calidad de mangos durante la maduración de tres variedades cultivadas en México.	93
5.7.1	Parámetros fisiológicos	93
5.7.1.1	Respiración.	93
5.7.2	Parámetros de calidad	95
5.7.2.1	pH y Acidez.	95
5.7.2.2	Sólidos solubles.	99
5.7.2.3	Firmeza.	101
5.7.2.4	Pérdida de peso.	104
5.7.2.5	Color.	106
5.8	Evaluación de la susceptibilidad al almacenamiento a bajas temperaturas en diferentes variedades cultivadas en México.	109
6.	Conclusiones.	113
7.	Recomendaciones.	115
8.	Referencias.	116
	Abreviaturas.	125

ÍNDICE DE TABLAS.

Número	Leyenda	Página
1	Características de las principales variedades de mango cultivadas en México.	5
2	Composición Química y nutricional de mango variedad 'Kent'	10
3	Cambios en algunos de los principales componentes químicos durante la maduración del mango.	11
4	Cambios en las actividades enzimáticas durante la maduración del mango.	17
5	Principales desórdenes fisiológicos que presentan los frutos del mango.	19
6	Principales tratamientos aplicados a mangos, para el control de los daños por frío.	30
7	Características de Polifenol oxidasa de mango.	45
8	Características físicas de frutos de mango de tres variedades cultivadas en México.	63
9	Características químicas, fisicoquímicas y bioquímicas de pulpa mango de diferentes variedades en estadio postclimaterico.	64
10	Tiempo de vida media de Polifenol oxidasa de extractos crudos de mango 'Manila'.	74
11	Tiempo de vida media de Peroxidasa de extractos crudos de mango 'Manila'.	75
12	Actividad y Parámetros Cinéticos sobre diferentes sustratos de la Polifenol oxidasa de piel y pulpa de mango 'Manila'.	77
13	Actividad y Parámetros Cinéticos sobre diferentes sustratos de la Peroxidasa de piel y pulpa de mango 'Manila'.	77
14	Índice de daño por frío de mangos de diferentes variedades almacenados 25 días a 5° C.	83
15	Principales síntomas de daño por frío en mangos de diferentes variedades almacenados durante 25 días a 5° C.	85

ÍNDICE DE FIGURAS.

Número	Leyenda	Página
1	Frutos del mango.	4
2	Distribución de la producción mundial de mango en el 2004.	7
3	Distribución de la exportación mundial de mango en el 2003.	B
4	Distribución de la producción de mango en México en el 2003.	B
5	Esquema de las respuestas del fruto al estrés por frío.	21
6	Diversos síntomas de Daño por frío en mango. Picado de piel, pardeamiento interno.	34
7	Diversos síntomas de Daño por frío en mango. Color opaco, maduración desigual.	34
8	Etapas del pardeamiento enzimático.	37
9	Mecanismo de hidroxilación de monofenoles a α -difenoles por la Polifenol oxidasa.	39
10	Mecanismo de oxidación de α -difenoles a α -quinonas por la Polifenol oxidasa.	39
11	Producción de CO ₂ de mangos durante la maduración a 20° C.	66
12	Efecto de pH y temperatura sobre la actividad relativa de Polifenol oxidasa en extractos crudos de piel y pulpa de mango 'Manila'.	70
13	Efecto de pH y temperatura sobre la actividad relativa de Peroxidasa en extractos crudos de piel y pulpa de mango 'Manila'.	72
14	Efecto en de la temperatura en la estabilidad térmica de Polifenol Oxidasa en extractos crudos de piel y pulpa de mango 'Manila'.	73
15	Efecto en de la temperatura en la estabilidad térmica de Polifenol Oxidasa en extractos crudos de piel y pulpa de mango 'Manila'.	74
16	Cambios en el contenido de fenoles totales en la piel de diferentes variedades de mangos almacenados a 20° y 5° C durante 4 estadios de maduración.	7B
17	Cambios en el contenido de fenoles totales en pulpa de diferentes variedades de mangos almacenados a 20° y 5° C durante 4 estadios de maduración.	80

18	Aspecto de la pulpa de mangos de diferentes variedades de mangos almacenados a 20° C y 5° C.	81
19	Cambios de coloración externa de mangos 'Keitt' almacenados 20° C y 5° C.	82
20	Cambios de coloración externa de mangos 'Kent' almacenados 20° C y 5° C.	84
21	Cambios de coloración externa de mangos 'Manila' almacenados 20°C y 5° C.	84
22	Cambios en la actividad de Polifenol oxidasa durante 4 etapas de maduración en piel y pulpa de mangos almacenados a 20°C y 5° C.	87
23	Cambios en la actividad de Peroxidasa durante 4 etapas de maduración en piel y pulpa de mangos almacenados a 20°C y 5° C.	90
24	Producción de CO ₂ de mangos, almacenados a 5° C durante 25 días después colocados a 20° C.	94
25	Efecto de la temperatura de almacenamiento en el pH durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C y 5°C	96
26	Efecto de la temperatura de almacenamiento en la acidez durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C y 5° C.	98
27	Efecto de la temperatura de almacenamiento en los sólidos solubles durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C y 5° C.	100
28	Efecto de la temperatura de almacenamiento en la textura durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C y 5°C.	102
29	Porcentaje de pérdida de peso en mangos de tres variedades almacenados a 20° C y por 25 días a 5° C , después colocados a 20°C.	105
30	Cambios de color en la piel de mangos de diferentes variedades almacenados a 20° C y 5° C durante 4 etapas de maduración.	107

RESUMEN.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento sobre las actividades de polifenol oxidasa [PPO] y peroxidasa [POD] y su relación con los síntomas de daño por frío que desarrollan diferentes variedades de mangos cultivados en México.

Para seleccionar las condiciones óptimas de actividad (pH, temperatura y tipo de sustrato) de PPO y POD se utilizó la variedad 'Manila'. Se evaluó la cinética de reacción para estas enzimas, extractos de piel y pulpa de mangos en madurez comercial. En la caracterización de PPO se encontró que su actividad máxima se presentó a pH 8.5 y 40° C en la piel y a pH de 7.5 y 40° C en pulpa, los valores de Km fueron de 0.477 mM en la piel y de 0.801 mM en la pulpa, utilizando dopamina hidrociorada como sustrato. La actividad máxima de POD fue encontrada a pH 5.0 y 60° C en piel y a pH 5.0 y 30° C en pulpa, los valores de Km fueron de 16.37 mM en la piel y 7.41 mM en la pulpa, utilizando *p*-fenilendiamina como sustrato donador. Las dos enzimas resultaron ser relativamente termosensibles ya que pierden cerca del 100% de su actividad en la piel a 80° C en 30 minutos.

En mangos 'Keitt', 'Kent' y 'Manila' fueron evaluados el índice de daño por frío, el contenido de fenoles totales, los cambios en las actividades de PPO y POD, y los cambios en parámetros fisiológicos y de calidad de los frutos durante su maduración en almacenamiento a 5° durante 25 días y posteriormente transferidos a 20° C.

Se encontró que el índice de daño por frío esta directamente relacionado con la actividad de PPO en la piel de todas las variedades: 'Kent' ($r = 0.937$), 'Keitt' ($r = 0.648$) y 'Manila' ($r = 0.900$). También se encontró una alta correlación entre el contenido de fenoles en la piel y la actividad de PPO en mangos 'Kent' ($r = 0.957$) y 'Keitt' ($r = 0.876$). En la pulpa se encontró correlación en mangos 'Keitt' pero no en mangos 'Kent'. Además no se encontró relación alguna entre los síntomas de daño por frío con la actividad de POD. Por lo que el daño por frío está relacionado con la variedad, la actividad de PPO y los cambios en el contenido de fenoles.

1. INTRODUCCIÓN.

El mango (*Mangifera indica*, L., familia *Anacardiaceae*) es una de las frutas tropicales mas antiguas y de mayor consumo fresco en el mundo (Jagtiani *et al.*, 1988). Originario de la India, fue introducido a México por los españoles en el año de 1779, procedente de la isla de Barbados, extendiéndose su cultivo por todo el territorio nacional (Galán-Sauco, 1999).

En la actualidad India, China, Tailandia y México se encuentran entre los principales países productores. En México, es uno de los frutos tropicales económicamente más importantes, la superficie cultivada en el 2004, fue de 173 837 hectáreas con una producción anual de 1 503 010 MT de frutos (FAO, 2005). México fue el mayor exportador de mangos en el 2003, colocando 216 316 MT, lo que representa una cuarta parte del comercio mundial de mango (FAO, 2005). Las variedades exportadas son: 'Kent', 'Ataulfo', 'Haden', 'Keitt' y 'Tommy Atkins' (Velasco, 2003).

Actualmente las bajas temperaturas son el método más ampliamente utilizado para preservar la calidad y controlar la rápida maduración de los mangos, sin embargo como muchos otros frutos tropicales y subtropicales los mangos son susceptibles a desórdenes fisiológicos durante el manejo postcosecha y almacenamiento. Estos desórdenes pueden disminuir la calidad y el valor en el mercado o la pérdida total del fruto (González-Aguilar, 2001a). Uno de los principales problemas en mangos almacenados a bajas temperaturas es la aparición del desorden fisiológico, conocido bajo el nombre genérico de daño por frío "*Chilling injury*". El mango es susceptible al daño por frío, cuando es expuesto a temperaturas por debajo de los 10° C (Mitra y Baldwin, 1997; Paul, 1990; Mohammed y Brecht, 2002). Este desorden fisiológico es debido a cambios físicos en los lípidos y proteínas de las membranas celulares que provocan los síntomas visibles característicos del daño por frío en mango los cuales incluyen la formación de depresiones del tejido por debajo de la piel "pitting", decoloraciones en la piel, incapacidad para desarrollar una coloración uniforme, reducción en el nivel de carotenoides, incremento de la respiración y de la producción de etileno, maduración desigual, aumento de la susceptibilidad al ataque por patógenos, pardeamiento ocasionado por polifenol oxidasas o cambios de coloración en la pulpa, pérdida de agua, pobre desarrollo de sabor y aroma y degradación de la estructura celular; estos

síntomas se incrementan cuando los frutos son trasladados a temperaturas más altas que conllevan a una pérdida global de la calidad con lo que ya no es posible su comercialización (Paull, 1990; Mohammed y Brecht, 2002; González-Aguilar, 2001a; Chhatpar *et al.*, 1971).

Los daños por frío en el mango representa uno los mayores problemas en el manejo postcosecha ya que son responsables de importantes pérdidas desde la cosecha hasta su comercialización, principalmente durante el almacenamiento y transporte (Vela *et al.*, 2003). Algunos de los cambios bioquímicos que ocurren durante el almacenamiento a bajas temperaturas en frutos relacionan la acumulación de ácido cloragénico y fenoles, el descenso en ácido ascórbico y los cambios en las actividades de la peroxidasa (POD) y polifenoloxidasa (PPO) (Wang, 1982). El pardeamiento es uno de los síntomas más notables del daño por frío, que se manifiesta tanto en la piel como en la pulpa (Vela *et al.*, 2003), por lo que posiblemente el daño por frío puede estar relacionados con el oscurecimiento enzimático provocado por las actividades de polifenol oxidasa y peroxidasa (Zauberman, 1988).

Por otro lado, el mango es rico en compuestos fenólicos, su concentración decrece durante la maduración del fruto (Selvaraj y Kumar, 1989). Además los compuestos fenólicos se incrementan cuando los frutos son sometidos a estrés (Tomás-Barberán y Espín, 2001). También se ha observado que existe una relación inversa entre el contenido de fenoles, la actividad de PPO y POD con el grado de daño en la piel de mango (Saby *et al.*, 2002).

La presencia de polifenol oxidasa y su relación con el pardeamiento se ha estudiado ampliamente en diversos frutos tales como aguacate (Espín *et al.* 1997), manzana (Barret *et al.* 1997), plátano (Gooding *et al.* 2001), níspero (Dincer *et al.* 2002), en mango (Arogba *et al.* 1998; Park *et al.* 1984), también se ha estudiado la relación de la actividad de PPO y POD en daño por látex en mango (Saby *et al.*, 2002; Robinson *et al.*, 1993). Sin embargo, se han llevado a cabo pocas investigaciones que relacionen este desorden fisiológicos con los cambios en las actividades enzimáticas de PPO (Vela *et al.* 2003) y POD con el pardeamiento causado por el estrés en mango almacenado a bajas temperaturas, por lo que este trabajo se enfoca a caracterizar estas enzimas y a

evaluar el efecto del almacenamiento a bajas temperaturas sobre las actividades de PPO y POD en diferentes variedades de mango cultivadas en México.

Este trabajo pretende ampliar nuestro conocimiento en relación a este desorden fisiológico con algunas modificaciones del metabolismo de los frutos, mediante los estudios propuestos se generará el conocimiento que permita profundizar en las bases de la fisiología y bioquímica de los síntomas de daño por frío en mangos, lo cual es indispensable para tener mejores herramientas que permitan controlar el proceso y desarrollar métodos de control, que reduzcan la aparición de los síntomas de daño por frío en mangos, durante su almacenamiento a bajas temperaturas, evitando así considerables pérdidas postcosecha.

2. ANTECEDENTES.

2.1 GENERALIDADES DEL MANGO.

El mango (*Mangifera indica*, L. familia *Anacardiaceae*), está considerado dentro de los principales frutos tropicales, debido a su producción, popularidad y propiedades nutricionales (Jagtiani *et al.*, 1988).



Figura 1. Frutos del mango.
Fuente: Campbell (1992).






Es un cultivo de clima tropical y subtropical, su distribución se encuentra entre los Trópicos de Cáncer y Capricornio; requiere una temperatura óptima de 24 a 27° C y un área cuya precipitación pluvial anual exceda de los 750 mm³, con una estación seca de 4-5 meses entre noviembre y marzo. Suelos bien drenados, profundos y fértiles; crece a altitudes menores a 600 metros (Jagtiani *et al.*, 1988).

Es originario de Asia, específicamente de la región Indo-Birmánica, donde es cultivado desde hace 4 000 a 6 000 años (Mukherjee, 2000). Fue introducido a nuestro país a través de los españoles, en el año de 1779, quienes trajeron las primeras variedades de las Islas Filipinas. En México el mango ocupa el tercer lugar en superficie cosechada con el 16.49 % del total nacional y primer lugar de exportación de productos frutícolas. Desde el punto de vista nutricional, es una fuente de vitaminas A y C (Claridades agropecuarias, 1996).

2.1.2 VARIEDADES QUE SE CULTIVAN EN MÉXICO.






Existen centenares de variedades de mango cultivadas alrededor del mundo, pero solamente algunas de ellas son cultivadas a escala comercial (Shaw *et al.*, 1999). Las principales variedades cultivadas en México son: 'Ataulfo', 'Haden', 'Irwin', 'Kent', 'Keitt', 'Manila', 'Palmer', 'Sensation', 'Tommy Atkins' y 'Van Dyke' (Mukherjee, 2000) cuyas características se describen la tabla 1.

Tabla 1. Características de las principales variedades de mango cultivadas en México.

Variedad	Tipo y época de recolección	Hábito de crecimiento	Características fruto	Sensibilidad			Otros comentarios
				Ant.	Frío	E.A.	
 Ataulfo ^a	P Temprana	Vigoroso, copa compacta y densa.	Forma alargada con color amarillo-naranja, piel gruesa, firme, resistente al manejo postcosecha. Lenticelas pequeñas y escasas. Pulpa firme y muy poca fibra. Peso promedio 350 g. Semilla pequeña. Calidad gustativa excepcional.	MR	S	R	Larga vida comercial. Sensibilidad a aborto de embrión baja.
 Haden ^b	M Temprana	Copa redonda alargada Gran crecimiento.	Forma oval con color de piel amarillo y chapas naranja. Numerosas lenticelas blancas que le dan una apariencia muy atractiva. Pulpa con algo [poca] fibra y jugosa. Peso entre 400-650 g. Semilla pequeña. Calidad gustativa buena	MS	MS	MS	Larga vida comercial Sensibilidad al aborto de embrión alta.
 Irwin ^c	M Temprana-media	Porte extendido y de escaso crecimiento.	Forma alargada ovoide. Color amarillo naranja con chapa roja, lenticelas pequeñas y blancas. Pulpa sin fibra. Peso entre 300-450 g. Semilla pequeña. Calidad gustativa muy buena.	S	R	R	Larga vida comercial. Sensibilidad a aborto de embrión media-alta.
 Keitt ^d	M Muy tardía	Muy típico, con largas ramas arqueadas y peculiar aspecto abierto.	Forma ovoide pero ancha. Color de fondo amarillo-verdoso con un ligero tinte rosa. Lenticelas numerosas, pequeñas y de color amarillo-naranja. Pulpa jugosa, con escasa fibra. Peso entre 800-1,000 g. Semilla pequeña. Calidad gustativa buena.	S	MS	R	Se considera la mejor de las variedades tardías. Sensibilidad a aborto de embrión baja.
 Kent ^e	M Tardía	Erecto de vigor moderado.	Forma ovoide pero ancha, con color de fondo verde-amarillo a naranja con chapa de color rojo y numerosas lenticelas pequeñas y amarillas. Pulpa sin fibra y jugosa. Peso entre 600-800 g. Semilla pequeña. Calidad gustativa excelente.	S	R	S-R	Larga vida comercial. Sensibilidad a aborto de embrión baja a media.

M = Monoembriónico; P = Poliembriónico; Ant. = Antreconosis; E. A= Enfermedades de almacenamiento; R= Resistente, S= Sensible, MS = muy sensible, MR= Muy resistente

Tabla 1. Características de las principales variedades de mango cultivadas en México [Continuación].

Variedad	Tipo y época de recolección	Hébito de crecimiento	Características fruto	Sensibilidad			Otros comentarios
				Ant	Frio	E.A.	
 Manila	P Temprana	Vigoroso, copa densa y grande	Forma alargada, de base redonda; color verde-amarillo. Lenticelas pequeñas y verdosas. Pulpa con escasa fibra. Peso entre 180-350 g. Semilla pequeña. Calidad gustativa buena-excepcional.	R-S	S	R	Corta vida comercial. Sensibilidad a aborto de embrión alta
 Palmer	M Tardía	Extendido y de moderado crecimiento	Forma alargada. Color de fondo naranja-amarillo con chapa roja y lenticelas grandes y numerosas. Pulpa con poca fibra. Peso entre 700-900 g. Semilla mediana. Calidad gustativa aceptable.	S	S	R	Corta vida comercial. Sensibilidad a aborto de embrión media.
 Sensation	M Tardía	Porte algo extendido con escaso crecimiento	Forma oval. Color de fondo amarillo brillante a naranja con chapa roja casi violeta que a veces cubre la totalidad del fruto. Lenticelas abundantes, pequeñas, amarillo pálidas con escasa fibra. Peso entre 250-350 g. Semilla mediana. Calidad gustativa aceptable.	S	R	R	Corta vida comercial. Sensibilidad a aborto de embrión variable según años.
 Tommy Atkins	M Temprana-tardía	Copa redonda con buen crecimiento	Forma ovoide a alargada. Color desde naranja a rojo intenso. Piel muy gruesa y resistente a daños mecánicos. Textura firme. Pulpa algo fibrosa. Peso entre 500-750 g. Semilla pequeña. Calidad gustativa aceptable	R	R	R	Larga vida comercial. Sensibilidad a aborto de embrión baja.
 Van Dyke	M Media	Vigor medio, copa abierta.	Forma oblongo-oval. Color rojo- amarillo. Pulpa con algo (media) fibra. Peso entre 250-400 g. Semilla mediana. Calidad gustativa buena.	R	R	R	Sensibilidad a aborto de embrión baja

Datos recopilados de: Galán-Saucá [1999]; Galán-Saucá [1990] y PROEXANT [1993]. Figuras recopiladas de: *Campbell (1992); ** Pine Island Nursery tropical fruits (2003); *Dave's Garden (2004); *DPIF Queensland Australia (2004) y *South African mangoes on line (2003).

2.1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA.

El mango es el tercer fruto tropical en cuanto a producción e importación a nivel mundial, además de que se cultiva en numerosos países, debido a esto, es posible proveer mangos a los mercados mundiales durante todo el año, siendo el periodo de septiembre a octubre el de menor producción mundial [Galán-Saúco, 1999].

2.1.3.1 SITUACIÓN ACTUAL.

La producción mundial de mangos en el 2004 fue de 26 286 255 MT (FAO, 2005). Como se muestra en la figura 2, dentro de los mayores productores se encuentran India como el principal país productor con cerca del 50 por ciento del total mundial, seguido a gran distancia por: China, Tailandia, México, Pakistán y Brasil .

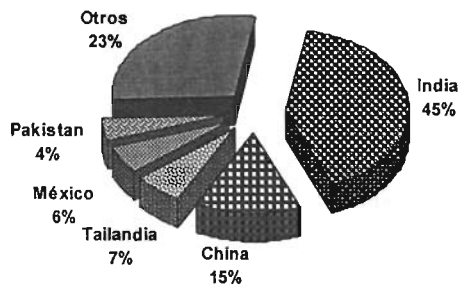


Figura 2. Distribución de la producción mundial de mango en el 2004.
Fuente: FAO/Faostat, (2005).

2.1.3.2 PRODUCCIÓN NACIONAL.

En México en el 2004, la superficie cultivada fue de 173 837 hectáreas y se produjeron 1 503 010 MT de frutos (FAO, 2005). México fue el mayor exportador de mangos en el 2003, colocando 216 316 MT, cubriendo con esto el 24% de las exportaciones mundiales (Fig. 3). El destino para los mangos mexicanos fue: Estados Unidos (91.8%), Canadá (6%) Francia (1.2%), Japón (0.7%) y otros (0.3%) [Crane *et al.*, 2000].



El período de producción es de enero a octubre, alcanzando su nivel máximo en los meses de mayo a junio [Galán-Saúco, 1999]. Sin embargo la temporada de exportación de mango se inicia en febrero y se concluye en septiembre. Dentro de las variedades que son exportadas se encuentran: 'Kent', 'Ataulfo', 'Haden', 'Keitt', 'Manila' y 'Tommy Atkins' [Velasco, 2003].

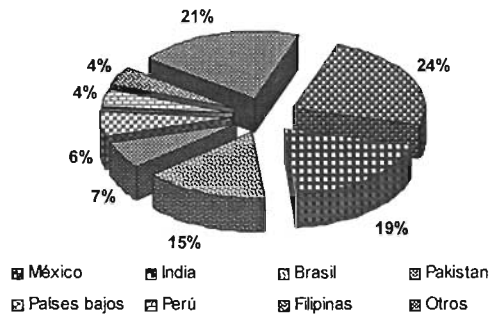


Figura 3. Distribución de la exportación mundial de mango en el 2003.
Fuente: FAO / Faostat [2005].

La producción nacional se concentra en los estados de Guerrero, Sinaloa, Veracruz, Nayarit, Michoacán y Oaxaca. La principales variedades cultivadas en el 2003, fueron 'Manila', 'Haden', 'Ataulfo', 'Tommy Atkins' entre las cuales se concentra el 60 por ciento de la producción total del 2003 (Fig. 4) [FAO, 2005].

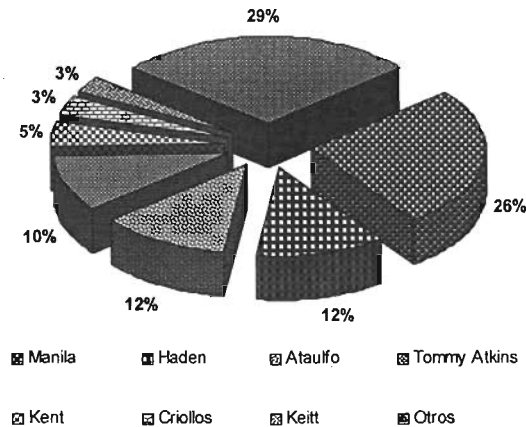


Figura 4. Distribución de la producción de mango en México en el 2003.
Fuente: SIAP /SAGARPA (2004).

La producción comercial de mangos depende principalmente de las variedades: 'Ataulfo', 'Manila', 'Haden', 'Tommy Atkins', 'Kent' y 'Keitt'. En menor cantidad se producen las variedades 'Zill', 'Irwin', 'Sensation', 'Diplomático', 'Oro' y 'Criollos' [Crane *et al.*, 2000].

El mango 'Ataulfo' se ha empezado a exportar en pequeñas cantidades a Estados Unidos, Latinoamérica y Oriente. La variedad 'Manila' es la preferida de los consumidores nacionales. La variedad 'Tommy Atkins' es la que más se exporta a Estados Unidos. La variedad 'Haden' es la segunda más importante para el mercado de exportación, le sigue la variedad 'Kent', en estas variedades se obtienen los mejores precios en el Mercado estadounidense, debido a su temporada, disponibilidad y calidad del fruto. La variedad 'Keitt' es la cuarta más importante para la exportación. [Crane *et al.*, 2000].

2.1.4 FISIOLÓGIA Y BIOQUÍMICA.

2.1.4.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL.

El mango contiene carbohidratos, ácidos grasos, minerales, ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos, polifenoles y vitaminas. El fruto inicialmente es ácido, astringente y rico en ácido ascórbico (vitamina C), en mangos maduros el contenido de vitamina C es bajo, pero son ricos en pro vitamina A y vitaminas B₁ y B₂ [Mukherjee, 2000].

Tiene un alto contenido de azúcar [15-20%] y una acidez baja [0.2- 0.5%]. Sin embargo, su composición varía dependiendo de la variedad, condiciones climáticas y de cultivo, estado de maduración y almacenamiento del fruto [Shaw *et al.*, 1998].

La composición física varía también con la variedad, la piel constituye del 8 al 22%, la porción comestible de un 55 hasta 75% y la semilla de 7 a 23 % [Jagtiani *et al.*, 1988]. En la tabla 2 se muestra la composición química y nutricional promedio del mango variedad 'Kent'.

La composición química del mango depende en gran medida de la variedad y el grado de maduración. Los principales componentes químicos del mango son carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y aminoácidos, pigmentos, sustancias pécticas, polifenoles, vitaminas, ácidos grasos y componentes volátiles.

Tabla 2. Composición Química y nutricional de mango variedad 'Kent'

g / 100 g		mg / 100 g	
Agua	81.85	Ácido ascórbico	20.05
Grasa	0.08	Riboflavina	0.06
Cenizas	0.32	Niacina	0.42
Acidez*	0.24	Tiamina	0.06
Proteína	0.46	Calcio	8.73
Almidón	0.74	Fósforo	10.18
Azúcar	12.36	Hierro	0.16
		Sodio	0.84
Caroteno (IU/ 100g)	5 169	Potasio	115.00

Fuente: Jagtiani *et al.* (1988).

* Calculado como g de ácido cítrico/ 100g

2.1.4.2 CAMBIOS DURANTE LA MADURACIÓN.

La maduración se manifiesta generalmente por un cambio de color, por la adquisición de un sabor particular, por el desarrollo de un aroma característico y por la modificación de la textura que conduce a un ablandamiento. Esta evolución es consecuencia de transformaciones bioquímicas que tienen lugar de forma simultánea (Tirill y Bourgeois, 2002).

La maduración del mango implica grandes cambios en la fisiología y bioquímica de este, como la alteración de la respiración, producción de etileno, cambios en el sabor, la textura, el aroma y valores nutricionales dando como resultado frutos de calidad aceptable (Ketsa *et al.*, 1999 b). Estos cambios ocurren en un lapso de 7 a 10 días a

temperatura ambiente, dependiendo de la variedad y el estado de madurez a la cosecha [Shaw *et al.*, 1998].

En general los procesos metabólicos relacionados con el proceso de maduración involucran cambios degradativos y de biosíntesis. En la tabla 3, se resumen algunos de los cambios que ocurren en los principales componentes químicos durante la maduración del mango.

Tabla 3. Cambios en algunos de los principales componentes químicos durante la maduración del mango.

Componente	Inmaduro	Parcialmente maduro	Maduro
Almidón (%) ^a	10.7	N.D.	0.43
Celulosa (%) ^a	4.92	2.0	1.12
Pectina (%) ^a	0.81	0.65	0.35
Azúcares Totales (%) ^a	6.66	8.16	10.73
Sacarosa (%) ^b	3.8	4.03	7.07
Glucosa (%) ^b	1.03	0.41	0.39
Fructuosa (%) ^b	1.83	2.97	3.27
Acidez (%) ^a	2.71	1.4	0.41
Ácido málico (mEq/100g) ^a	0.86	0.76	0.91
Ácido cítrico (mEq/100g) ^b	5.51	6.52	0.44
Ácido ascórbico (mEq/100g) ^b	1.97	1.25	1.22
Lípidos totales (%) ^a	0.2-0.26	N.D.	0.6-0.8
Ácidos grasos (%) ^a	0.096-0.14	N.D.	0.432-0.57
Carotenos (%) ^a	0.04	0.15	0.31
Taninos (%) ^a	11.38	8.64	6.56

Fuente: Datos recopilados de: ^aDoreyappa *et al.* (2001); ^bMedlicott *et al.* (1986b); ^cSelvaraj y Kumar (1989); ^dAshraf *et al.* (1981); ^ePantástico *et al.* (1987).
N.D. = no determinado

RESPIRACIÓN.

La respiración es el proceso fisiológico fundamental después de la cosecha de los frutos, debido a que se produce la energía necesaria para desarrollar los mecanismos de síntesis y mantener la integridad celular [Lamúa, 2000].

En los frutos climatéricos se alcanza un mínimo en la producción de CO₂ durante la etapa de madurez fisiológica (preclimaterio), posteriormente empieza a aumentar (inicio del climaterio) hasta alcanzar su máximo (máximo climaterio) que generalmente coincide con la madurez de consumo. El descenso final de la respiración [postclimaterio] coincide con la fase de senescencia y muerte celular [Lamúa, 2000].

El mango es un fruto climatérico y por lo tanto, se caracteriza por un aumento en la respiración a medida que maduran y se presenta un levantamiento de esta, que coincide con el comienzo de la maduración [Salunkhe *et al.*, 1984; Gómez-Lim, 2000]. Junto con la respiración climatérica, se incrementa la actividad de la catalasa y peroxidasa [Mitra y Baldwin, 1997]. Los patrones respiratorios y el comportamiento postcosecha de los frutos varía ampliamente de acuerdo con la variedad, las condiciones climáticas y el lugar de cultivo [Lakshimnarayana y Subramanyam, 1970]. En mangos variedad 'Alphonso', el pico respiratorio se observó después de 5 días de la cosecha y estos maduraron en un periodo de 7 a 8 días, con una producción de 126 mg de CO₂ / Kg*h [Mitra y Baldwin, 1997].

CARBOHIDRATOS.

En general los cambios bioquímicos más importantes que tienen lugar en la maduración de los frutos se dan en los carbohidratos. El contenido de azúcares aumenta invariablemente debido a la hidrólisis que experimentan los polisacáridos, los azúcares formados son utilizados para la respiración. La degradación de los polisacáridos contenidos en las membranas celulares ejerce una importante contribución sobre el aumento del contenido de azúcares [Primo, 1998].

Los mangos sin madurar contiene cantidades almacenadas de almidón el cual es hidrolizado durante la maduración, este fenómeno es más evidente en los cloroplastos donde los gránulos de almidón se hacen más pequeños conforme avanza la maduración

(Gómez-Lim, 2000). La primera consecuencia de la hidrólisis del almidón es el incremento en los azúcares totales (Gómez-Lim, 2000). En mangos 'Keitt', los azúcares totales se incrementan de 4 al 9% después de la cosecha (Medlicott y Thompson, 1985).

Durante la maduración del mango el contenido de sacarosa se incrementa de 3 a 4 veces. Este incremento se atribuye a la hidrólisis del almidón (Medlicott y Thompson, 1985). La sacarosa predomina en el mango maduro, sin embargo durante el período postclimaterico el aumento en el contenido de azúcares reductores se hace a expensas de la sacarosa (Gómez-Lim, 2000).

PIGMENTOS.

Los frutos inmaduros son verdes debido a la abundancia de clorofila, la cual está localizada en los cloroplastos, además contienen otros pigmentos; xantofilas (amarillos) y carotenos (anaranjados). La maduración se caracteriza por una degradación de la clorofila, al mismo tiempo que se desenmascara el color de xantofilas y carotenos. Dependiendo de la abundancia de los pigmentos, el color del fruto maduro varía de naranja a amarillo (Tirill y Burgoeis, 2002).

La piel del mango maduro muestra desde verde hasta verde-amarillo, rojo, violeta y amarillo, siendo los principales pigmentos que se encuentran clorofila, carotenos, xantofilas y antocianinas, los cuales son sintetizados por la vía de los terpenoides o la de fenilpropanoides (Gómez-Lim, 2000). Durante la maduración de mangos 'Tommy Atkins', la clorofila se degrada rápidamente mientras que las antocianinas son acumuladas conforme avanza la maduración al mismo tiempo se detecta un incremento en los carotenoides totales (Medlicott *et al.*, 1986a).

Los tratamientos térmicos (50-55° C) a menudo resaltan la intensidad del color de la piel y se detecta un incremento en los carotenoides totales, sin embargo los tratamientos térmicos prolongados y a altas temperaturas provocan la pérdida del desarrollo del color (Gómez-Lim, 2000).

SUSTANCIAS PÉCTICAS.

En el fruto los compuestos pécticos formados por largas cadena de ácido galacturónico mantienen estrechamente unidas las paredes de las células contiguas y aseguran la firmeza de los tejidos. Estos compuestos son hidrolizados progresivamente durante la maduración formando una especie de gelatina cada vez más abundante. Las células se separan más o menos unas de otras por lo que el fruto se transforma en jugoso y acuoso (Primo, 1998).

Uno de los cambios más notorios que experimentan los frutos al madurar consiste en su ablandamiento, que va asociado con la solubilización progresiva y despolimerización de las sustancias pécticas. Las pectinas solubles son modificadas y despolimerizadas bajo la acción de dos enzimas: las pectinoesterasas y las poligalacturonasas. Los cambios que experimentan los productos pécticos se encuentran íntimamente ligados con los procesos respiratorios (Shaw *et al.*, 1998).

La degradación de las sustancias pécticas, se acelera después de la maduración, el contenido de pectatos y pectinatos solubles aumenta, mientras que disminuye el contenido total de sustancias pécticas. En mango a medida que cambia la pectina, la firmeza de los frutos disminuye (Pantástico *et al.*, 1987). El mango 'Harumanis' tarda 4.5 días en perder el 50% de su firmeza. Además el contenido total de pectinas decrece debido a que estas se hacen hasta un 340% más soluble, lo que conlleva a una pérdida del 130% de las pectinas totales (Ali *et al.*, 2004).

LÍPIDOS.

Los lípidos representan menos del 1% del peso fresco de la mayoría de los frutos y se encuentran asociados con las capas cuticulares protectoras de la superficie y con las membranas celulares (Wills *et al.*, 1987).

Los lípidos pueden estar relacionados con el desarrollo del sabor y color del mango durante la maduración. La mayoría de los lípidos encontrados en el mango son esteres de ácidos grasos de cadena larga. El contenido de lípidos totales y glicéridos se incrementa conforme avanza la maduración (Gómez-Lim, 2000).

ÁCIDOS ORGÁNICOS.

En la mayoría de los frutos aumenta el contenido total de ácidos orgánicos durante y después del proceso de maduración, por lo que se produce un descenso de la acidez. Los ácidos orgánicos son sustratos respirables por lo que los cambios de estos están ligados de alguna manera con el funcionamiento de los ciclos respiratorios. Los ácidos alifáticos, sobre todo el málico y el cítrico, van disminuyendo con la maduración, así como también los ácidos fenólicos y otras sustancias tanoides, que se metabolizan a partir de un cierto grado de madurez. Esto produce la desaparición del sabor ácido y la astringencia, para dar lugar al sabor suave y al equilibrio dulzor-acidez de los frutos maduros [Primo, 1998].

Durante la maduración de los mangos hay una considerable disminución de la acidez, cambiando el pH de 2.2 a 5.5. Se ha reportado que los contenidos de ácido cítrico, málico y ascórbico disminuyen en 10, 40 y 2.5 veces, respectivamente [Pantástico *et al.*, 1987].

La acidez del mango decrece de 1.4% hasta casi 0% durante la maduración principalmente debido a la alta tasa de pérdida del ácido cítrico y pequeñas cantidades de ácido málico [Medlicott y thompson, 1985]. La concentración de ácidos orgánicos en mango variedad 'Alphonso' decrece de 3.36% en el preclimaterio hasta 0.39% en el postclimatério [Shaw *et al.*, 1998].

AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS.

El contenido en proteínas de los frutos aumenta durante el almacenamiento y después disminuye lentamente; durante el climaterio aumenta la actividad de algunas enzimas. Durante la senescencia aumenta el nivel de los aminoácidos libres lo que revela una degradación de las enzimas y un deceso de la actividad metabólica [Primo, 1998].

Durante la maduración del mango se llevan a cabo cambios de importancia en los aminoácidos y las proteínas, se observa un pequeño incremento neto en el contenido de proteína. Así mismo, se presentan cambios cualitativos en las proteínas solubles [Pantástico *et al.*, 1987].

ENZIMAS.

La mayor parte de los cambios químicos que se producen en los frutos son provocados por las enzimas. Muchos de los efectos químicos y físicos que se observan durante la maduración de los frutos son atribuidos a acciones enzimáticas [Pantástico *et al.*, 1987]. Las enzimas que se encuentran de manera natural, pueden ser la causa de la pérdida del sabor o desarrollo de colores indeseables, hasta la pérdida de calidad del mango [Wills *et al.*, 1987]. Las enzimas que generalmente se encuentran en el mango son: polifenol oxidasa, catalasa, pectinmetilesterasa, peroxidasa, amilasa, invertasa y L-malato-NADP-oxidoreductasa. En la tabla 4, se muestran cambios en la actividad de enzimas presentes en el mango.

Con el aumento de las actividades oxidantes durante la maduración, las enzimas oxidantes catalasa y peroxidasa aumentan en forma considerable, posiblemente la peroxidasa interviene en la síntesis autocatalítica del etileno y se encuentra en las células en senescencia [Pantastico *et al.*, 1987].

El ablandamiento durante la maduración del fruto esta acompañado por la solubilización de la pectina y la disrupción de la pared celular por la acción de la poligalactoronasa (Roe y Bruemmer, 1981; Brinson *et al.*, 1988), que muestra un claro incremento durante el proceso de maduración [Mitcham y McDonald, 1992], esta se incrementa en 140% durante la maduración de mangos (Roe y Bruemmer, 1981; Ali *et al.*, 2004). La pectinesterasa pertenece al grupo de las enzimas que cataliza la de-esterificación de los ésteres metílicos. Durante la maduración esta enzima muestra un descenso en su actividad (Roe y Bruemmer, 1981), también puede permanecer constante en su actividad o incrementarla incluso (Ashraf *et al.* 1981). Ali *et al.*, (2004) reportaron que la actividad de pectinmetilesterasa fue alta > de 700 unidades, sin embargo al madurar la actividad de esta decrece en un 40%, la actividad de β - galactosidasa se incrementa 7 veces con la maduración. La celulasa puede también estar asociada con el ablandamiento de los frutos debido a que se incrementa dramáticamente con la maduración, lo cual ocurre en una amplia variedad de cultivares de mango (Roe y Bruemmer,1981). También se ha observado un incremento considerable en las actividades de las enzimas hidrolíticas como la α - amilasa (Gómez-Lim, 2000).

En mango variedad 'Haden' se detectó actividad de catalasa, peroxidasa, polifenol oxidasa, pectinmetilesterasa y α -amilasa. Para la inactivación de la ácido ascórbico oxidasa, peroxidasa, pectinesterasa y fenolasa presentes en el mango se requieren tratamientos térmicos de 80° C por 5 minutos (Shaw *et al.*, 1998; Jagtiani *et al.*, 1988).

Tabla 4. Cambios en las actividades enzimáticas durante la maduración del mango.

Enzima ensayada	Actividad enzimática (U/ mg proteína)		
	Inmaduro	Parcialmente maduro	Maduro
Catalasa *	0-18	N.D.	30-64.8
Peroxidasa *	6-18	N.D.	30-90
Polifenol Oxidasa ^b	0.07	0.058	0.017
Pectinesterasa ^b	0.239	0.273	0.222
Polygalacturonasa ^b	0.0125	0.0139	0.0068
Celulasa ^b	0.144	0.378	0.126
Amilasa [x10 ²] ^b	0.12	0.18	0.46

Fuente: Datos recopilados de *Selvaraj y Kumar, (1989); ^bPantástico *et al.*, (1987).
N.D. = no determinado

COMPUESTOS FENÓLICOS.

Los compuestos fenólicos deben su importancia a que contribuyen en gran manera en el color y sabor de los frutos. Los polifenoles son derivados de los fenilpropanoides e incluye una gran variedad de compuestos (Gómez-Lim, 2000). Principalmente participan en el sabor del fruto. Los ácidos fenólicos proporcionan acidez, los flavanos la astringencia y las flavonas y flavononas el amargor. En el mango se encuentran presentes el ácido tánico, ácido gálico, ácido ferúlico, ácido cinámico, ácido cafeico, ácido vanílico y ácido cloragénico (Singh *et al.*, 2004), además, la concentración en la piel es mayor que en la pulpa (Mitra y Baldwin, 1997). Otro tipo de compuestos fenólicos que se han encontrado en mango son los alkenil resorcinoles que se encuentran principalmente en frutos verdes y decrecen durante la maduración, estos compuestos parecen ser de importancia en la resistencia de frutos verdes contra patógenos fúngicos (Gómez-Lim 2000).

La concentración de los compuestos fenólicos decrece durante la maduración y varía ampliamente dependiendo de la variedad y de las condiciones ambientales. Durante la maduración se incrementa la condensación de los compuestos fenólicos, disminuyendo la astringencia y el amargor [Hobson, 1993; Selvaraj y Kumar, 1989].

2.1.5 PÉRDIDAS POSTCOSECHA.

En el mundo se pierde entre el 25 al 50% de la producción de productos hortofrutícolas después de la cosecha, como resultado de los procesos de descomposición, infestación por insectos y ataque de microorganismos. Estas pérdidas suelen ser mayores en zonas tropicales y subtropicales debido a las condiciones climáticas prevalecientes. Además de que existe un escaso desarrollo de tecnologías que se puedan aplicar fácilmente a estos productos. Esto trae como consecuencia pérdidas en la producción superiores al 40% en frutos de mango [Yahia y Flores, 2001].

Los desórdenes fisiológicos, plagas y enfermedades postcosecha pueden ocasionar serias pérdidas tanto en términos de cantidad, como de calidad. El mango es afectado por numerosos desórdenes, enfermedades y plagas que reducen la cantidad y la calidad de la producción ocasionando cuantiosas pérdidas [Ploetz, 2003]. La susceptibilidad del mango a estos se incrementa en la postcosecha, debido a el almacenamiento prolongado y los cambios fisiológicos que tienen el fruto hacen más fácil el desarrollo de patógenos [Ploetz, 2003].

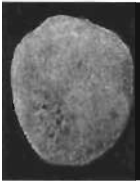
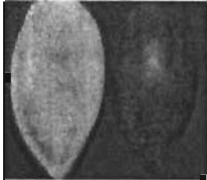

2.1.6 DESORDENES FISIOLÓGICOS.

Los desórdenes fisiológicos simplemente se refieren al colapso del tejido del fruto que no es causado ni por la invasión de patógenos, ni por daños mecánicos. Estos se desarrollan en gran medida como respuesta a un ambiente adverso, especialmente, la temperatura, o la deficiencia nutricional durante el crecimiento y desarrollo [Wills *et al.* 1989]. La mayoría de los desórdenes fisiológicos afectan áreas discriminadas del tejido. Algunos desórdenes pueden afectar la piel del fruto, pero dejar la pulpa intacta; otros



afectan sólo ciertas áreas de la pulpa o la región cortical. Los principales desórdenes fisiológicos que afectan a los frutos de mango se mencionan en la tabla 5.

Tabla 5. Principales desórdenes fisiológicos que presentan los frutos del mango.

Desorden Fisiológico	Causa	Síntomas	Control
 Descomposición interna	El origen no es claro, puede ser debido a un desequilibrio nutricional, particularmente de calcio.	La pulpa cercana al ápice se queda de color amarillo pálido, consistencia blanda y esponjosa acompañada de un sabor anormal.	Recolectar los frutos en estado verde-maduro, aplicar abonos ricos en calcio.
 Daño por frío	No esta claramente establecida la causa principal pero puede ser debido a alteraciones fisiológicas y bioquímicas durante el almacenamiento a bajas temperaturas	Áreas de color grisáceo y oscuras, claramente definidas y hundidas, en la pulpa, maduración anormal, color y sabor pobre.	Acondicionamientos térmicos para aumentar la tolerancia a las bajas temperaturas, control químico y hormonal.
 Sap burn	La causa no está establecida, pudiera deberse a la variación en la composición del látex y la piel, de diferentes variedades.	Se presenta áreas de manchas pardas o negras de bordes irregulares y necrosis en la piel donde tuvo contacto el látex del mango.	Cubriendo la zona de corte con productos químicos o sumergiendo los frutos en soluciones químicas, con resultados poco satisfactorios.

Datos recopilados a partir de información de: Galán-Sauco (1999); Mitra y Baldwin (1997); Shaw *et al* (1998) y Ploetz (2003). Figuras recopiladas de DPIF Queensland Australia (2004); Mitra y Baldwin (1997); Dave's Garden (2004).

Además de estos desórdenes en el mango se presentan: punta negra (Black tip); Tejido esponjoso [Spongy tissue] Nariz blanda [Soft-nose], Semilla gelatinosa [Jelly seed], Pepita negra [Ploetz, 2003].



2.2 DAÑO POR FRÍO (CHILLING INJURY).

Entre los frutos y hortalizas, el daño por frío es el causante de grandes pérdidas económicas durante el almacenamiento y el transporte, especialmente cuando el tiempo de traslado se prolonga demasiado.

El daño por frío es el principal problema en el manejo de frutos y hortalizas de origen tropical, debido a que impide el almacenamiento de muchos productos a temperaturas, que prolongarían su vida comercial de forma considerable. Este daño básicamente es diferente al que resulta con temperaturas inferiores a 0° C, ya que se presenta a temperaturas bajas, pero muy superiores al punto de congelación de los tejidos (Pantástico, 1987).

Son numerosas las disfunciones celulares, alteraciones fisiológicas y bioquímicas que provocan las bajas temperaturas, generalmente estimula la tasa respiratoria y la emisión de etileno, reduce la fotosíntesis, interfiere en la producción de energía, aumenta la energía de activación, reduce la fluidez del protoplasma, aumenta la permeabilidad de la membrana y altera la estructura celular (Wang, 1982).

2.2.1 DEFINICIÓN.

El Daño por frío o '*Chilling injury*', es un desorden fisiológico que se define como, la alteración fisiológica que se produce cuando se exponen los tejidos vegetales a una temperatura inferior a un umbral crítico, pero por encima del punto de congelación. Este umbral varía dependiendo de la especie y de la variedad (Willemont, 2002).

Esta alteración comienza con una respuesta primaria que se produce desde el inicio de la exposición al frío. Lo cual dependiendo del tiempo de exposición desata una cascada de reacciones bioquímicas -respuesta secundaria- que desembocan en el desarrollo de los síntomas (Fig. 5). Estos síntomas se manifiestan generalmente después de que el fruto es colocado a una temperatura más elevada. Se exterioriza una alteración celular cuyos efectos no se manifiestan en el frío más que de una forma muy lenta, pero que se aceleran con el aumento de temperatura (Willemont, 2002).

Los cambios físicos o fisiológicos inducidos por la exposición a bajas temperaturas junto con la sucesiva manifestación de los síntomas característicos, son comúnmente combinados bajo el término de '*Chilling injury*'. Normalmente se piensa que las bajas temperaturas causan la respuesta primaria que es seguida por la serie de sucesivos respuestas físicas y fisiológicas que desarrollan los síntomas. El tipo y la magnitud de síntomas desarrollados varía con la especie, la severidad del daño por frío y las condiciones ambientales durante el almacenamiento (Saltveit y Morris, 1990).

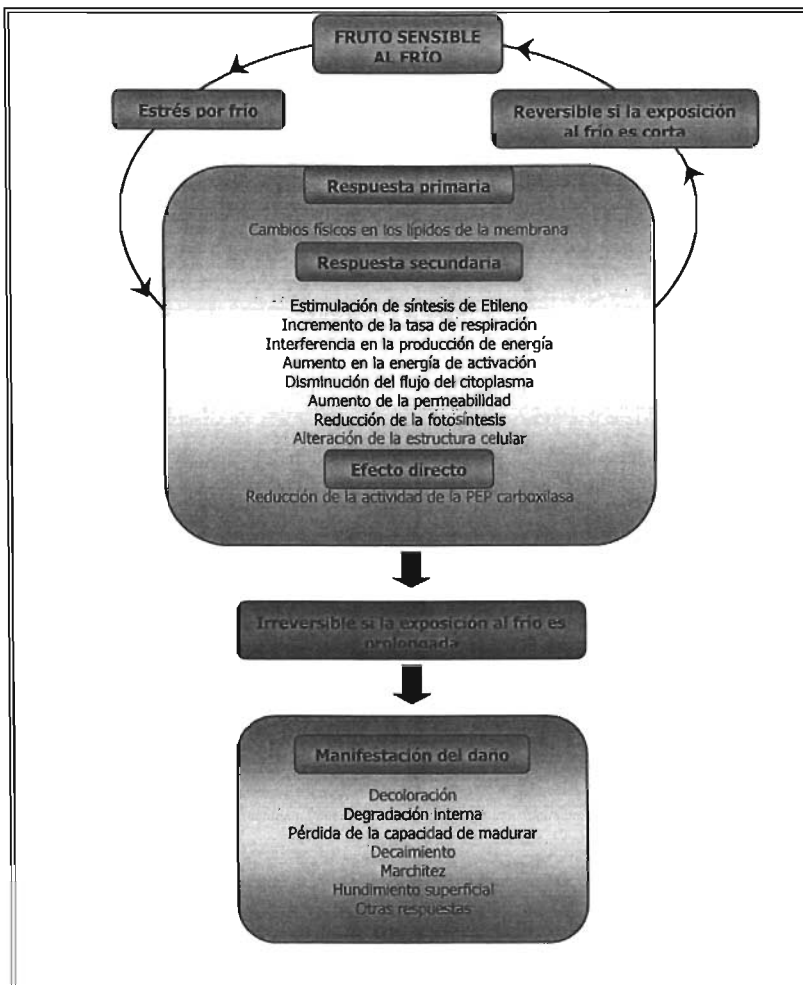


Figura 5. Esquema de las respuestas del fruto al estrés por frío.
Fuente: Wang (1982).



2.2.2 IMPORTANCIA.

El daño por frío puede presentarse en diferentes etapas del desarrollo de los productos vegetales, sin embargo se producen con más frecuencia en la etapa de postcosecha, en el transcurso del transporte o durante el almacenamiento a una temperatura inferior a la tolerada por el fruto [Saltveit y Morris, 1990].

El daño por frío afecta a varias especies de importancia comercial, incluyendo el mango. La intensidad de los síntomas esta en función de la temperatura por debajo del umbral crítico de la especie y del tiempo de exposición. La tolerancia al frío varía dependiendo de la variedad del fruto [Wang, 1982]. Lo más frecuente es que los síntomas de este desorden no aparecen hasta que el fruto haya sido colocado de nuevo a una temperatura más elevada, cuando ya es demasiado tarde para corregir el defecto. Inicialmente los daños son reversibles, y una vuelta a la temperatura ambiente permitiría reparar los tejido antes de desarrollarse los síntomas (Fig. 5). Por tanto es importante establecer los umbrales de sensibilidad y de tolerancia de los frutos para prevenir este desorden fisiológico [Wang, 1982].

2.2.3 SÍNTOMAS.

Las manifestaciones internas y externas difieren entre los frutos. Sin embargo, las cavidades y manchas aparecen en el 60% de los frutos que padecen de este desorden fisiológico, las manchas acuosas y la maduración no homogénea se presentan en frutos que tienen una corteza delgada o suave como los tomates, papaya [Pantástico, 1987].

No es fácil medir los cambios fisiológicos o visuales ya que estos son únicos para cada tejido dañado. Sin embargo, varios de los síntomas que se presentan se usan a menudo como indicadores de la severidad del daño. Algunos de los más comunes son mencionados a continuación.

- **Lesiones en la superficie:** Picado, áreas hundidas y decoloración de la piel. Debido a la muerte de pequeños grupos de células epidérmicas y otras asociadas con ellas, que se secan y se hunden por debajo del nivel normal de la superficie

del fruto, estas depresiones posteriormente se decoloran tomando un color castaño.

- **Tejido con apariencia acuosa:** Debido a la ruptura de la estructura celular y pérdida de la integridad de la membrana existe exudación de fluidos celulares dentro del espacio intracelular.
- **Decoloración interna:** Aparece pardeamiento de la pulpa, haces vasculares y semillas. Las capas internas también se tornan de color castaño y no se aprecia fácilmente en el exterior.
- **Pérdida de la capacidad de maduración:** Los frutos que son cosechados parcialmente maduro son incapaces de llevar a cabo el proceso normal de maduración si es sometido a bajas temperaturas, incluso si maduran estos no desarrollan el sabor y aroma característico y a menudo desarrollan un sabor anormal.
- **Aceleración de la senescencia:** Esto ocurre debido a la pérdida de clorofila en luz y en la oscuridad y a la pérdida de la integridad celular se llevan a cabo de manera acelerada pero por otra parte conserva su apariencia normal.
- **Incremento de la susceptibilidad al decaimiento:** Teniendo los medios favorables para su crecimiento, los microorganismos atacan los tejidos cuando se encuentran débiles, esto lo hacen patógenos que normalmente no crecen en frutos sanos.
- **Cambios en la composición:** Se dan principalmente en los componentes del olor y sabor, se incrementan productos de la respiración anaeróbica y otros metabolitos anormales que se acumulan en los tejidos.

Existen factores que contribuyen al desarrollo de los síntomas ocasionados por las bajas temperaturas, dentro de los que se encuentran características intrínsecas del fruto tales como variedad, edad fisiológica, madurez o condición del fruto expuesto; sensibilidad relativa de la fruto al frío y condiciones de cultivo y crecimiento. Además de

factores extrínsecos tales como temperatura de almacenamiento; duración de la exposición de los frutos a bajas temperaturas; si la exposición de los frutos a temperatura baja es continua o intermitente; humedad relativa, composición de la atmósfera de almacenamiento y tratamiento postcosecha (Saltveit y Morris, 1990).

2.2.4 Respuestas fisiológicas y bioquímicas de los frutos al estrés por frío.

Como respuesta al estrés por frío en los frutos sensibles se dan una serie de alteraciones a nivel bioquímico y fisiológico. La magnitud de estas y la habilidad del fruto para resistir estas alteraciones determinan su susceptibilidad o resistencia a las bajas temperaturas. A continuación se discuten algunas de estas respuestas.

2.2.4.1 Alteraciones de la membrana.

La respuesta primaria de las especies sensibles es el cambio de fase de las membranas de líquida-cristalina a una estructura gel-sólida cuando son expuestas a bajas temperaturas. Se ha demostrado que el cambio de fase sucede a la temperatura a la cual se inicia la respuesta fisiológica. En especies resistentes no se observa el típico cambio de fase o un súbito cambio de la actividad enzimática a temperaturas bajas (Wang, 1982).

Las alteraciones de las membranas provocadas por las bajas temperaturas no se encuentran limitadas a la célula también se observan en los lípidos de membranas de la mitocondria, cloroplastos y otros organelos. Este cambio puede o no puede que lleve a la respuesta secundaria o a los cambios irreversibles, ya que dependen de la temperatura, el tiempo de exposición y la susceptibilidad de la especie a una temperatura en particular. En especies sensibles la respuesta primaria lleva a una pérdida de la integridad de la membrana, fuga de solutos, pérdida de compartimentación, descenso en la velocidad de la actividad oxidativa de la mitocondria, incremento en la energía de activación de las enzimas asociadas a las membranas, desorganización de la estructura celular y subcelular, disfunción y desequilibrio del metabolismo, acumulación de metabolitos tóxicos y manifestación de una variedad de síntomas de daño por frío (Wang, 1982).

2.2.4.2 Estimulación de la producción de etileno.

En muchas especies la producción de etileno se estimula cuando son expuestos a bajas temperaturas. La vía de biosíntesis de etileno en estas especies es la misma de la maduración de los frutos. Las temperaturas bajas inducen la biosíntesis de etileno ya que se afecta el paso entre el S-adenosil-metionina (SAM) y el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), la actividad del enzima para este paso, la ACC sintasa, aumenta significativamente después del tratamiento por el frío [Wang, 1982; Adams y Yang, 1979]. Además, se ha observado que la producción de etileno se inhibe por aminoetoxivinilglicina (AVG). La estimulación de la producción de etileno no puede ser una respuesta primaria al daño por frío, porque la inhibición por AVG no retarda la manifestación de los síntomas de daño por frío. Por consiguiente no esta claro si el mensaje para acelerar la producción de etileno en tejidos sometidos a bajas temperaturas se relacione con el cambio de fase en la membrana [Wang, 1982].

2.2.4.3 Cambios en la respiración.

En especies sensibles se registra un incremento en la velocidad de respiración con las bajas temperaturas. El mecanismo por el cual se da esta estimulación no es conocido pero se asume que puede ser debido al desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. Se ha sugerido que esta respuesta respiratoria sea utilizada como índice para determinar la extensión del daño por frío. Sin embargo, el incremento de la velocidad de respiración después de un tiempo prolongado de exposición a bajas temperaturas puede deberse a una perturbación metabólica irreversible y a la acumulación de intermediarios oxidables. Los frutos climatéricos se comportan de manera diferente ya que algunas veces la respiración se inhibe y no se presenta el pico climatérico, los frutos pierden su capacidad de madurar después de almacenamientos prolongados a bajas temperaturas, además se presentan pequeños cambios en la acidez y los sólidos solubles [Wang, 1982].

2.2.4.7 Incremento en la permeabilidad y fuga de solutos.

El incremento de la permeabilidad y pérdida de solutos celulares es una de las primeras respuestas que puede pasar en las primeras o las últimas etapas de la exposición a bajas temperaturas. Se ha propuesto que la contracción y ruptura de las membranas celulares se debe a deshidratación o un déficit de agua que provocan la pérdida de solutos. En muchos frutos no sensibles a las bajas temperaturas, la pérdida de electrolitos permanece baja y se mantiene así mientras, el fruto permanece a bajas temperaturas pero se incrementan de manera dramática después de que el fruto es transferido a temperaturas más altas. Esta observación lleva a proponer que las altas velocidades de pérdida de electrolitos a bajas temperaturas no son característicos de especies sensibles [Wang, 1982].

2.2.4.8 Reducción de la fotosíntesis.

La reducción de la velocidad fotosintética en frutos sensibles es una de las respuestas al estrés por bajas temperaturas. La pérdida de la capacidad fotosintética puede ser asociada con la incapacidad de las plantas para formar clorofila a bajas temperaturas debido a la reducción en la síntesis del precursor protoclorofilo y la sucesiva foto oxidación [Wang, 1982].

2.2.4.9 Otras respuestas.

Diversas respuesta se dan en los tejidos de las plantas sometidas a estrés por bajas temperaturas, se ha observado la acumulación de ácido cloragénico y polifenoles que causan un incremento de los cambios de coloración [pardeamiento], disminuye la concentración de ácido ascórbico, acumulación de ácido cítrico y decrece la concentración de ácido málico, se incrementa el ácido pirúvico pero decrece la acidez total, se incrementa la porción insoluble de compuestos pécticos y decrece la fracción soluble, disminuye la proporción de captación de aminoácidos, se incrementa el contenido de azúcares reductores y totales, reducción del peso fresco y seco, inhibición del crecimiento, acumulación de acetaldehído, etanol y α -ketoácidos, incremento de la actividad de Fenilalanina amonio-liasas (PAL), incremento en la actividad de Hidroxicinamil

CoA, incrementa su actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa y las actividades de ascorbato oxidasa y peroxidasa disminuyen [Wang, 1982].

2.2.5 TEORÍAS DEL MECANISMO.

A pesar de la gran importancia económica de esta alteración fisiológica y que ha sido estudiada durante más de un siglo, el mecanismo que conduce al desarrollo de los síntomas de este, no se encuentra totalmente establecido. Muchas teorías se han propuesto para explicar el mecanismo de los daños por frío. Los síntomas similares que aparecen en las mismas especies sugiere que también las vías que llevan al daño sea común [Saltveit y Morris, 1990].

Una de las primeras teorías relaciona la causa del daño por frío con la acumulación de altos niveles de metabolitos tóxicos sintetizados por el efecto de las bajas temperaturas; estos llevan a un desequilibrio en el metabolismo, de hecho la acumulación de compuestos tóxicos es el resultado de un metabolismo anormal. Otra teoría sugiere que el daño por frío resulta de la desorganización en la sincronización de las diversas etapas de la compleja secuencia respiratoria y que algunos síntomas como el picado de la superficie esta asociado con los productos de la respuesta respiratoria anormal [Parkin et al., 1989].

Las posibles diferencias en los lípidos y ácidos grasos entre las especies sensibles podría contribuir a su susceptibilidad, se propone que los lípidos de la membrana son afectados por las bajas temperaturas por lo que la permeabilidad también se afecta. Además mucho de los síntomas del estrés por las bajas temperaturas están involucradas con la permeabilidad de la membrana y la fluidez de esta. También se ha asumido que las plantas de origen tropical y subtropical contienen ácidos grasos que están más saturados, que los que se encuentran en regiones frías [Couey, 1982].

Actualmente las teorías propuestas involucran balance de energía o niveles alterados de calcio [Saltveit y Morris, 1990]. También, debido a que la respuesta primaria ocurre en los lípidos de las membranas, se cree que algunos compuestos como las poliaminas

2.2.4.4 Producción y uso de la energía.

Uno de los problemas más controversiales respecto al estrés por frío, es si los daños por frío son debidos a la interferencia en la producción y uso de la energía, se ha propuesto que los síntomas se manifiestan debido a falta de suministro de energía o la incapacidad de los tejidos para utilizar esta. Sin embargo existe evidencia de la interferencia con el sistema de transferencia de energía ocurre hasta después del que los síntomas de daño por frío son aparentes. Así la disminución en la formación del sistema de transferencia de energía no es una respuesta primaria de los tejidos al estrés por frío. Sin embargo, el aumento en la demanda de fuentes de energía y la incapacidad de los tejidos dañados para sintetizar ATP adicional después de transferir los frutos a temperaturas más altas, acelerar la formación de los síntomas de daño por frío [Wang, 1982].

2.2.4.5 Cambios en las proteínas y la actividad enzimática.

Muchos de los sistemas enzimáticos se ven afectados dramáticamente por las bajas temperaturas, lo cual se asocia con los cambios en las membranas. Sin embargo, se han demostrado efectos directos de las bajas temperaturas en la actividad enzimática sin la asociación con los lípidos de membrana. Se ha propuesto que el efecto directo en la actividad enzimática por las bajas temperaturas es un mecanismo o alternativa adicional con que el metabolismo de los frutos puede ser roto [Wang, 1982].

2.2.4.6 Efecto en flujo protoplásmico.

La suspensión del flujo del protoplasma es uno de las respuestas fisiológicas de las especies sensibles al frío. La razón de la variación en el flujo como respuesta a las bajas temperaturas puede estar relacionado con los siguientes aspectos; lípidos celulares y su papel en la estructura y función del protoplasma; el suministro de energía de la respiración para mantener el flujo protoplásmico; utilización de la energía para el flujo; viscosidad protoplásmica y la diferencia en la sensibilidad a las bajas temperaturas de los sistemas enzimáticos que son responsables del uso de ATP para el flujo [Wang, 1982].



están involucradas en el desarrollo de los daños por frío. Las poliaminas son compuestos orgánicos policationicos, forman una clase de aminas alifáticas que se encuentran en los organismos vivos, se cree que regulan la senescencia y la respuesta a diferentes tipos de estrés en las plantas, dentro de los cuales se encuentran las bajas temperaturas, como respuesta a estas ha sido observada una acumulación de poliaminas, particularmente putrescina (Nair y Singh, 2004; Wang, 1994).

Esto se relaciona con la actividad antioxidante y el efecto estabilizante que tienen las poliaminas en las membranas. Estas se asocian con la superficie de las membranas e interaccionan con los compuestos aniónicos de la membrana tales como fosfolípidos para estabilizar la superficie de la bicapa y retardar la degradación de la membrana (Nair y Singh, 2004; González-Aguilar *et al.*, 2001a).

Es difícil establecer cuáles de estos cambios metabólicos están relacionados con el daño por frío sin embargo, la mayoría de los autores están de acuerdo en que los principales blancos del frío son las membranas celulares (Willemont, 2002).

2.2.6 CONTROL DE LOS DAÑOS POR FRÍO.

Debido a su importancia, la prevención del desarrollo de los síntomas o la reducción de sus efectos debe ser una prioridad. Aunque no existen tratamientos adecuados y eficaces capaces de evitar por completo la aparición de los síntomas de daño por frío. Estos se pueden reducir aumentando la tolerancia de los frutos a las bajas temperaturas o bien retrasando su aparición.

A pesar que muchas investigaciones se han enfocado a diseñar tratamientos y procedimientos que incrementen la tolerancia de los daños por frío o a reducir la intensidad de los síntomas desde un punto de vista práctico. A continuación en la tabla 6, se mencionan algunos tratamientos que se han aplicado al mango para prevenir el desarrollo de los síntomas de daño por frío.

Tabla 6. Principales tratamientos aplicados a mango, para el control de los daños por frío.

Tipo de tratamiento	Efecto Directo	Variedad y Condiciones de tratamiento	Resultados
Tratamientos Térmicos.	<p>Acondicionamiento por calor.</p> <p>Estos tratamientos tienen efecto en la respuesta general de las plantas al estrés, ya que en estos están implicados diversos mecanismos de defensa, como la estimulación de la biosíntesis de los fenoles o la inducción de la biosíntesis de varias proteínas, incluidas las denominadas proteínas de choque térmico. La exposición de los tejidos a un estrés puede por tanto, inducir a la resistencia a otro tipo de estrés (Willemont, 2002).</p>	<p>Keitt^a</p> <p>38° C, 24-48 h, 90% HR.</p> <hr/> <p>Zhuhua^c</p> <p>Agua caliente 55°C, 3-5 minutos.</p> <p>Aire caliente 38°C, 12 -72 h</p>	<p>Inhibición de la producción de etileno, reducción de los síntomas en la piel, además aumento de la tolerancia a las bajas temperaturas.</p> <hr/> <p>Aumenta la tolerancia al frío</p>
	<p>Calor intermitente.</p> <p>Este tratamiento estimula el sistema antioxidante basado en el ascorbato, un importante componente de las defensas naturales de las plantas contra el estrés (Wang, 1982).</p>	<p>Alphonso^b</p> <p>20° C, 1 día.</p> <p>15° C, 2 días.</p>	<p>Reducción de los síntomas y aumento de la vida útil por 3 semanas.</p>
AC y AM	<p>Atmósferas Modificadas.</p> <p>El efecto que tienen es consecuencia principalmente del mantenimiento de una humedad relativa próxima a la saturación y adicionalmente de la modificación de la atmósfera.</p>	<p>Tommy Atkins y Keitt^d</p> <p>Cámara a 12° C, 3 semanas</p> <p>y</p> <p>Polietileno o Xtendfilm.</p> <p>5% CO₂ y 10% O₂</p>	<p>Reducción del daño por frío, además de reducción de pérdida de peso, crea una HR de 90%</p>
	<p>Atmósferas Controladas.</p> <p>La atmósfera rica en CO₂ parece añadir al estrés del CO₂, el del enfriamiento después de la vuelta a la temperatura ambiente (Wang, 1990).</p>	<p>Kensington^e</p> <p>5 y 10% de CO₂</p>	<p>Reducción de los síntomas de daño por frío en gran medida</p>



Tabla 6. Principales tratamientos aplicados a mango, para el control de los daños por frío [Cont].

Tipo de tratamiento	Efecto Directo	Variedad y Condiciones de tratamiento	Resultados
	Metil Jasmonato. El MJ retrasa la aparición de los síntomas debido a que interviene en mecanismos que involucran un incremento en el ácido abscísico y niveles de poliaminas [González-Aguilar <i>et al.</i> , 2001a].	Kent ^a Vapor por 20 h a 20°C, concentración de 1x10 ⁻⁴ M	Reducción de los síntomas, incrementa la tolerancia al daño por frío e inhibe el desarrollo de patógenos.
Tratamiento control hormonal.	Aplicación de poliaminas exógenas Los tratamientos postcosecha con poliaminas exógenas incrementan el nivel interno de poliaminas y reduce el daño por frío, la cual esta relacionada con la actividad antioxidante y estabilizante efecto en las membranas (Wang, 1990).	Kensington ^b Esperridina 0.5 mM, 4 semanas a 5° C.	Reducción de los síntomas
	Aplicación exógena de etileno. Los síntomas de daño por frío están asociados con la supresión de la biosíntesis de etileno, este tratamiento incrementa la producción de etileno, reduce el contenido de ACC y reducen la actividad de ACC oxidasa y ACC sintetasa (Nair <i>et al.</i> , 2004).	Kensington ^c Ethrel 50-500 ppm	Reducción de los síntomas de daño por frío, aumenta la producción de etileno.
Radiaciones.	UV- C Estimula la biosíntesis de poliaminas, particularmente de putrescina	Tommy Atkins ^d 198-280 nm por 10 y 20 minutos.	No se ve algún efecto en la reducción de los síntomas de daño por frío.

Detos recopilados de: ^a McCollum *et al.* (1993); ^b Thomas y Oke (1983); ^c Zhu *et al.* (2003); ^d Pesis *et al.* (2000); ^e Mitra y Baldwin (1997); ^f Nair *et al.* (2004); ^g González-Aguilar *et al.* (2001a); ^h Nair y Singh (2004) y ⁱ González-Aguilar *et al.* (2001 b).

Otros tratamiento que se aplican para disminuir los daños por frío son:

La infiltración de sales de calcio o de potasio puede reducir los síntomas, aunque el mecanismo de estos resultados no es claro aún, se ha propuesto que el calcio protege la integridad de las membranas celulares y mantiene la rigidez de las paredes celulares (Wang, 1982).



Algunos compuestos como el benzoato de sodio, tiabendazol, etoxiquina se utilizan para estabilizar membranas biológicas contra el estrés ambiental, también inhiben el incremento de la permeabilidad de la membrana, además de que controlan la fluidez y permeabilidad de esta, e inhiben que las bajas temperaturas desnaturalicen a las proteínas (Saltveit y Morris, 1990).

Del mismo modo se utilizan películas comestibles que pueden prevenir el contacto con el oxígeno y la degradación de compuestos fenólicos, ejemplo de estas son las películas de quitosan, aunque es recomendable el uso de estas películas en combinación con otros métodos tales como: tiabendazol para mantener la buena apariencia de los frutos expuestos a bajas temperaturas (Tómas-Barberan y Espín, 2001).

También se han utilizado ceras y otros recubrimientos, los cuales reducen la incidencia del daño por frío tanto por la producción de atmósferas modificadas como por mantener una elevada humedad relativa (Lamúa, 2000).

2.2.7 DAÑO POR FRÍO EN MANGO.

El mango es un fruto altamente sensible al daño por frío cuando es almacenado a temperaturas moderadamente bajas (Salunkhe y Desai, 1984). Los síntomas se desarrollan cuando el fruto regresa a altas temperaturas, y están caracterizados por decoloración en la piel, picado, pérdida de la capacidad de maduración, maduración desigual, pérdida del color, picado de la piel e incremento de la susceptibilidad de decaimiento postcosecha, reducción de los niveles de carotenoides, aroma y sabor durante la maduración y susceptibilidad a pudrición por ataque fúngico (Fig.8 y 9) (Medlicott *et al.*, 1990). La intensidad de los síntomas se modifica con la variedad, así como también el tiempo y temperatura de exposición para el desarrollo de los síntomas.

La temperatura crítica es de 10° C con una exposición máxima de 15 a 28 días (Paul, 1990). Como muchos de los frutos sensibles a las bajas temperaturas, la maduración parcial reduce la sensibilidad de estos al daño por frío, generalmente los frutos verdes deben ser almacenados a 10 y 15° C, mientras que los frutos maduros son mucho

menos sensibles las bajas temperaturas [Medlicott *et al.*, 1990], permitiendo almacenar a 5° C por 8 a 12 semanas sin daño importante. Mangos maduros 'Haden' pueden permanecer a 1.7° C por 4 semanas. Estos resultados pueden ser interpretados debido a que la composición de ácidos grasos de la mitocondria del mango cambia con la maduración del fruto, lo que concuerda con la teoría de la estructura y función de las membranas [Couey, 1982].

Sin embargo severos daños ocurren usualmente cuando el fruto es almacenado solamente pocos días a temperaturas por debajo de 13 a 15° C y de hecho algunos trabajos indican que incluso estas temperaturas son demasiado bajas si el almacenamiento se prolonga más de 3-5 días. Por otro lado, algunos indican que 7 a 8°C es satisfactorio y son recomendadas algunas temperaturas tan bajas como 5° C para ciertas variedades. Algunas de estas diferencias en las recomendaciones son debidas a las variaciones entre las variedades y condiciones de cultivo, pero principalmente a las diferencias en los criterios usados en la evaluación del fruto [Couey, 1982]. Mangos variedad 'Kent' muestran síntomas típicos de daño por frío cuando son almacenados de 10 a 16 días a 10° C, mientras que los mangos 'Manila' muestran síntomas incluso a 16° C [Mitra y Baldwin, 1997].

El desarrollo de los síntomas tanto en la piel como en la pulpa, esta marcado por un significativo descenso en el contenido azúcares solubles y el incremento la actividad de invertasa. Se presenta una ligera pérdida de ácido ascórbico, además de un incremento en el contenido de minerales en la piel dañada causada por el movimiento de los minerales debido a la permeabilidad de las membranas celulares [Chhaptar *et al.*, 1971]. Además los frutos dañados muestran un exceso en el ablandamiento debido a la actividad de enzimas pectolíticas [Salunkhe y Desai, 1984].

Desde el punto de vista actual la causa del daño por frío se debe a baja producción de ciertos productos esenciales y a la producción de algunos productos tóxicos [Salunkhe y Desai, 1984]. El daño por las bajas temperaturas es debido al deterioro de la permeabilidad celular, resultando en el desequilibrio de varios iones afectando la actividad de enzimas claves en el metabolismo de carbohidratos [Salunkhe y Desai, 1984].

Factores pre cosecha pueden tener un efecto significativo en el tiempo y temperatura en la respuesta para el desarrollo de los síntomas del daño por frío. Las recomendaciones de almacenamiento es de 13° C de 2 a 3 semanas [Paull, 1990]. La tolerancia a las bajas temperaturas de mangos 'Keitt' se incrementa después de un tratamiento térmico a 38° C [Mc Collum *et al.*, 1993].

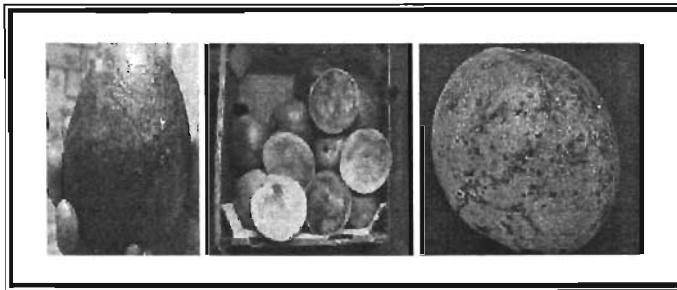


Figura 6. Diversos síntomas de daño por frío en mango.
Picado de piel, Pardeamiento interno.
Fuente: I.M.B. (2004).

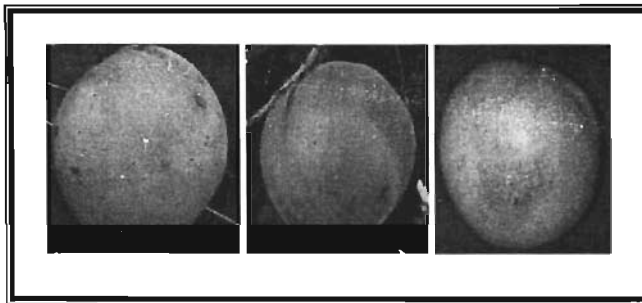


Figura 7. Diversos síntomas de daño por frío en mango.
Color opaco, Maduración desigual.
Fuente: Dave's Garden (2004).

Una interpretación razonable sobre la aparición de pardeamientos en los tejidos de frutos que presentan daño por frío, es que son una consecuencia de desarreglos celulares producidos por el frío sin que ocurran daños mecánicos que incrementan la permeabilidad del cloroplasto, con ello posibilitando la reacción entre compuestos fenólicos disueltos en la vacuola, con enzimas polifenol oxidasa del citoplasma produciendo el pardeamiento, como ejemplo que apoya esta teoría, se ha demostrado un aumento en la fuga de electrolitos y en las actividades de Fenilamonió liasa [PAL]



[responsable de la biosíntesis de compuestos fenólicos] y polifenol oxidasa en cítricos con daño por frío [Tómas-Barberán y Espín, 2001].

El oscurecimiento de los tejido parece deberse en todos los casos a la acción incontrolada de los sistemas enzimáticos de la polifenol oxidasa, que provocan la muerte de la célula y la consiguiente alteración de las membranas celulares [Tomás-Barberán y Espín, 2001].

2.3 PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO.

Se denomina "pardeamiento enzimático" a la transformación, enzimática en sus primeras etapas de compuestos fenólicos en polímeros coloreados, generalmente pardos o negros [Cheftel y Cheftel, 1992].

Los frutos presentan diversos tipos de pardeamiento que puede ser superficial o interno [Billot, 2002]. El pardeamiento superficial se presenta como consecuencia de una lesión, la superficie se colorea rápidamente. El pardeamiento interno se localiza en las partes profundas de los frutos y generalmente aparece después del almacenamiento a bajas temperaturas "Chilling injury". El pardeamiento se produce cuando los frutos, después de estar sometidos a baja temperatura, se colocan a temperaturas más elevadas, también se pueden presentar en frutos que presentan carencia localizada de calcio en los tejidos de crecimiento rápido se observa una oxidación de los compuestos fenólicos que es el responsable de las coloraciones pardas, de estas enfermedades se pueden citar el 'tip-burn', 'brow-spot' [Billot, 2002].

Los pigmentos pardos acaban superponiéndose a los colores naturales, ocasionando importantes modificaciones en las cualidades organolépticas. Estos pardeamientos son esencialmente de origen enzimático, por lo que es muy importante conocer los mecanismos que intervienen para poder controlar su aparición [Cheftel y Cheftel, 1992].

2.3.1 DESCOMPARTIMENTACIÓN CELULAR Y OXIDACIÓN ENZIMÁTICA.

En el pardeamiento se presenta una característica común, la puesta en contacto de los compuestos fenólicos [localizados principalmente en la vacuola] con las enzimas de



oxidación [citosólicas o de membrana]. Para que tenga lugar el comienzo del pardeamiento es indispensable que se produzca esta modificación de la compartimentación subcelular. La desorganización celular puede ser debida a múltiples factores de alteración de los tejidos: traumatismos mecánicos, choques térmicos o alteraciones fisiológicas. Algunos tratamientos como el almacenamiento en frío, pueden modificar profundamente la aptitud para el pardeamiento; estos tratamientos son factores secundarios del pardeamiento ya que las primeras causas hay que buscarlas a nivel de las alteraciones de las membranas que tienen como consecuencia que las enzimas y los compuestos fenólicos no se mantengan en diferentes compartimentos celulares. Al comienzo del pardeamiento, desempeñan un importante papel la peroxidación de los lípidos de membrana y los iones calcio [Marshall *et al.*, 2000].

Aunque el pardeamiento puede ser de origen no enzimático, la mayoría de ellos, particularmente los que aparecen de forma muy rápida, son debidos a la oxidación enzimática de los compuestos fenólicos por la acción de las PPO o de las POD. Numerosos estudios sobre el pardeamiento de los frutos han demostrado principalmente el papel primordial que juegan los compuestos fenólicos en dicho proceso [Billot, 2002].

2.3.3 MECANISMO DE OXIDACIÓN.

Las enzimas que intervienen en la oxidación de los compuestos fenólicos son las polifenol oxidasas (PPO) y las peroxidasas (POD). Aunque el papel esencial lo desempeñan las PPO que han sido muy estudiadas en los frutos. Sin embargo cabe señalar que el papel fisiológico de las PPO en el desarrollo y en la maduración de los frutos no se encuentra claramente establecido. Las peroxidasas se caracterizan por su capacidad para oxidar diferentes dadores de hidrógeno, están implicadas en diversas funciones bioquímicas y fisiológicas, en particular la reticulación de las paredes por los ácidos fenólicos y en la disposición de las ligninas. Las reacciones catalizadas por las peroxidasas generan compuestos que modifican el sabor de los frutos y favorecen el pardeamiento. La limitación más importante para que las peroxidasas participen en el pardeamiento de los frutos proviene de la escasa disponibilidad de peróxido de hidrógeno ya que es rápidamente detoxificado por las células [Billot, 2002].



2.3.3.1 REACCIÓN.

Los compuestos fenólicos que presentan un grupo orto-difenólico se oxidan fácilmente por las PPO. Los principales sustratos naturales de las PPO en los frutos son las catequinas y los derivados hidroxicinámicos y más concretamente los derivados cafeícos como el ácido clorogénico. La formación de los productos coloreados que caracterizan el pardeamiento se realiza en dos etapas (Fig. 10); una enzimática que conduce a la formación de orto-quinonas y una etapa no enzimática que termina con la polimerización y condensación de las quinonas en "complejos pardos" (Billot, 2002).

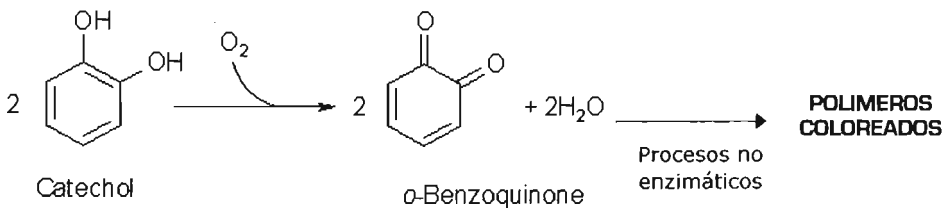


Figura 8. Etapas del pardeamiento enzimático.
Fuente: Marshall *et al.* (2000).

2.3.3.1.1 ETAPA ENZIMÁTICA.

Las orto-quinonas formadas son compuestos generalmente inestables, de gran reactividad y que son muy tóxicas para la célula. Esta oxidación de quinonas constituye una primera etapa en la que intervienen la descompartimentación celular. Las PPO y eventualmente las POD, el oxígeno, así como otros factores (inhibidores naturales, pH, temperatura, etc). Las orto-quinonas formadas se transforman de forma rápida por medio de reacciones no enzimáticas complejas (Billot, 2002).

2.4 GENERALIDADES DE POLIFENOL OXIDASA Y PEROXIDASA.

2.4.1 POLIFENOL OXIDASA (PPO).

La Polifenol oxidasa (E.C.1.11.1.7.) es una enzima oxidoreductasa de importancia en productos vegetales ya que está relacionada con el oscurecimiento enzimático que ocurre durante el almacenamiento o durante el procesamiento industrial [Guadarrama y Rivas, 1995].

También es de gran importancia en los vegetales por su participación en otros procesos tales como la síntesis de lignina, en la oxidación del ácido indol acético (AIA) y su papel en aspectos fitopatológicos relacionado con resistencia a enfermedades [Guadarrama y Rivas, 1995].

Está presente en todas las plantas pero se encuentra particularmente en altas concentraciones en champiñones, tubérculos de papa, duraznos, manzana, aguacate, hojas de té, café y hojas de tabaco [Guadarrama y Rivas, 1995].

2.4.1.1 Propiedades.

Las PPO son metaloproteínas que contienen cobre en su grupo prostético, se encuentran de forma latente o activas en los vegetales. Están localizadas de manera soluble en los límites de las membranas de cloroplastos, mitocondrias, microsomas, peroxisomas y en el citoplasma, aunque principalmente se encuentra en las membranas tilacoides [Tomás-Barberán y Espín, 2001].

2.4.1.2 MECANISMO DE REACCIÓN.

La polifenol oxidasa es una proteína que contiene cobre como grupo prostético y a diferencia de la mayoría de las enzimas, puede catalizar dos tipos de reacciones diferentes [Vámos- Vagyázó, 1981]. Estas reacciones incluyen la hidroxilación de monofenoles para producir α -difenoles [Fig. 11] y la remoción de hidrógenos de los α -



difenoles para producir quinonas [Fig. 12]. Estas reacciones se llevan a cabo en presencia de oxígeno molecular [Vámos-Vigyázó, 1981].

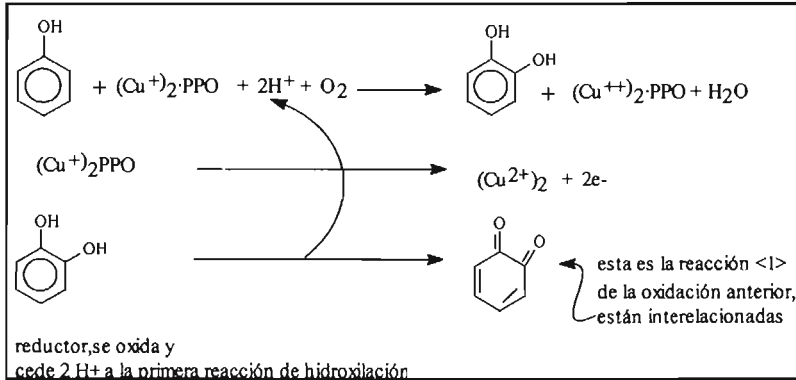


Figura 9. Mecanismo de hidroxilación de monofenoles a *o*-difenoles por la Polifenol oxidasa. Fuente: Marshall *et al.* [2000].

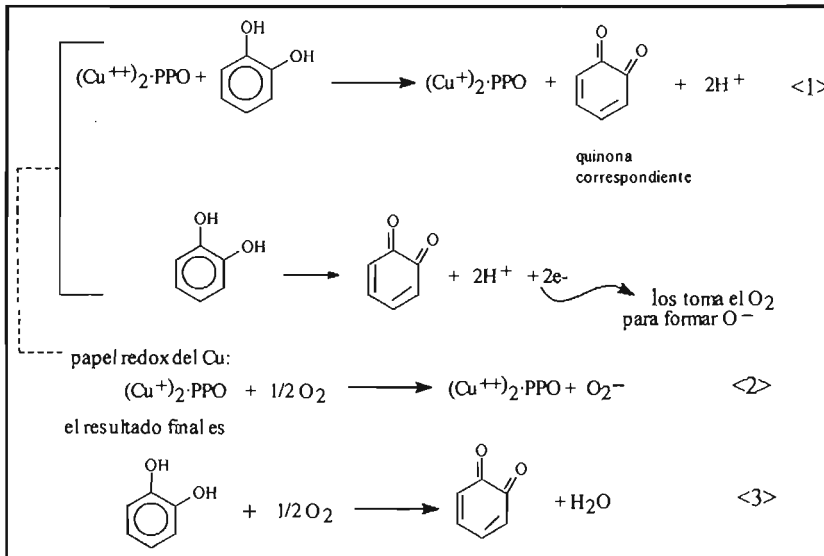


Figura 10. Mecanismo de oxidación de *o*-difenoles a *o*-quinonas por la Polifenol oxidasa. Fuente: Marshall *et al.* [2000].

2.4.1.3 SUSTRATOS MÁS IMPORTANTES.

Los frutos poseen una amplia variedad de compuestos fenólicos, sin embargo solo una pequeña parte de estos sirven como sustratos para la PPO. Dentro de los más importantes se encuentran: catecol, 4-metilcatecol, ácido cloragénico, L-DOPA, D, L-DOPA, catequina, ácido cafeico, ácido gálico, pirrogalol, que pertenecen al grupo de los difenoles; además de tirosina, *p*-cresol, ácido *p*-cumarico, que son monofenoles [Yoruk y Marshall, 2003].

La especificidad por el sustrato varía ampliamente dependiendo de diversos factores como la fuente de la enzima, la especie y variedad, así como también influyen en gran manera las isoenzimas presentes [Yoruk y Marshall, 2003].

2.4.1.4 CONDICIONES DE ACTIVIDAD ÓPTIMA.

Los cambios de ionización de los grupos prototrópicos en el sitio activo de una enzima que se dan a pH con valores ácidos bajos y a valores alcalinos altos, pueden cambiar la conformación del sitio activo unido a los sustratos, así como a la catálisis de la reacción. Se ha encontrado que la PPO de frutos tropicales es más activa a pH casi neutros, sin embargo el valor de pH óptimo varía ampliamente dependiendo de la fuente de la enzima generalmente se encuentra entre 4.0-8.0 [Yoruk y Marshall, 2003].

La temperatura es otro factor de importancia que influencia significativamente la actividad catalítica de la PPO. La temperatura óptima de PPO varía dependiendo de la fuente y se ve afectada por el tipo del sustrato utilizado durante el ensayo. El intervalo va desde 25-45° C, sin embargo en algunas fuentes se encuentran entre 50-65° C [Yoruk y Marshall, 2003].

La PPO pertenece a las enzimas que son extremadamente termolábiles. Exposiciones cortas a temperaturas de 70 a 90° C en muchos de los casos son suficientes para provocar una parcial o total destrucción irreversible de su función catalítica [Vámos-Vigyázó, 1981], pero el tiempo y la temperatura de inactivación varían con la fuente y la naturaleza del sustrato utilizado durante la determinación. Se han encontrado PPO's

que realmente son muy termoestables como la de cacao y la piel de mango que necesita más de 15 minutos a 80° C para perder el 50% de su actividad (Yoruk y Marshall, 2003).

2.4.1.5 INHIBIDORES.

Frecuentemente para inhibir la actividad de la PPO se utiliza acidificación, la alcalización del medio y las temperaturas altas, ya que solo basta una corta exposición a temperaturas de 70 a 90° C para inactivar parcial o totalmente (Billot, 2002).

Los inhibidores se pueden agrupar en las categorías: Agentes quelantes (EDTA, DIECA); agentes reductores (ácido ascórbico y análogos, sulfitos); agentes compuestos (ciclodextrinas, quitosan); acidulantes (ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido málico, ácido fosfórico); inhibidores enzimáticos [sustratos análogos] y tratamientos enzimáticos [proteasa, α -metiltransferasa].

Todos estos compuestos disminuyen o inhiben la actividad de la PPO basando su acción en los siguientes puntos, la reacción con el cobre del grupo prostético y el cambio de la conformación del sitio activo de la enzima (Yoruk y Marshall, 2003).

2.4.2 PEROXIDASA (POD).

La peroxidasa [EC 1.11.1.7; Donador; Peróxido de hidrógeno oxirreductasa, POD] es una de las enzimas que controlan el crecimiento fisiológico de las plantas, su diferenciación y desarrollo. Esta enzima participa en la construcción y lignificación de la pared celular, la biosíntesis de etileno a partir del ácido 1-aminociclopropano carboxílico y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), la regulación de niveles de auxina, la protección contra el deterioro de tejidos e infección por microorganismos patógenos, la oxidación de ácido indol acético, etc. (Sakharov *et al.*, 1999). Se encuentra ampliamente distribuida en las plantas, sin embargo, su papel dentro del pardeamiento enzimático de frutos y vegetales todavía se encuentra en duda, debido a la poca disponibilidad de peróxido de hidrógeno dentro de la célula (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

2.4.2.1 Propiedades.

La peroxidasa puede encontrarse de manera soluble en el citoplasma o en el límite de la pared celular. La ruptura de la célula que sobrelleva a la descompartimentación, activa la forma latente de PPO y promueve la de ella misma. Es una proteína conjugada que contienen hierro porfirínico en su grupo prostético [Tomás-Barberán y Espín, 2001].

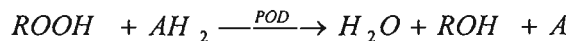
Se puede clasificar en tres tipos de acuerdo a su grupo prostético:

1. **Ferriprotoporfirina peroxidasa:** Contienen ferriprotoporfirina III como grupo prostético.
2. **Lacto-peroxidasa:** El grupo prostético de esta enzima es un núcleo de hierro de porfirina que no es ferriprotoporfirina III.
3. **Las peroxidases de flavoproteínas:** El grupo prostético es el FAD.

2.4.2.2 MECANISMO DE REACCIÓN.

La peroxidasa puede catalizar cuatro tipos de reacciones diferentes. Estas pueden ser: peroxidativas, oxidativas, catalíticas e hidroxilativas [Vámos-Vigyázó, 1981]. En general cataliza la oxidación de un electrón de una amplia variedad de compuestos fenólicos en presencia de peróxido de hidrógeno. El mecanismo de la reacción se basa en la formación de complejos de enzima-donador de hidrógenos y dos pasos de oxidación univalente [Vámos-Vigyázó, 1981].

La reacción general que cataliza la peroxidasa es la siguiente:



Donde:

R = H, CH₃, C₆H₅.

AH₂ = Donador de hidrógeno en forma reducida.

A = Donador de hidrógeno en forma oxidada.

También puede catalizar un cierto número de oxidaciones directas, en ausencia de peróxido de hidrógeno, para esto requiere de cofactores como el Mn²⁺ y el sustrato donador de electrones [Vámos-Vigyázó, 1981].

2.4.2.3 SUSTRATOS MÁS IMPORTANTES.

El número de compuestos que pueden ser aceptores de electrones para algunas peroxidasa es pequeño. La peroxidasa es altamente específica para utilizar el peróxido de hidrógeno como sustrato aceptor de electrones, sin embargo se inactiva por altas concentraciones de este, para remover el exceso muchas veces se utiliza la catalasa que destruye el H_2O_2 , restaurando la actividad de la peroxidasa [Vámos-Vigyázó, 1981].

Los compuestos donadores de electrones pueden ser fenoles, aminas, flavonas, tirosina u otros compuestos orgánicos, debido a que se requiere de grupos libres de HCO para poder reaccionar con los peróxidos. La afinidad de la POD por los sustratos donadores depende de la fuente y el grado de pureza de la enzima. Se han utilizado como donadores de electrones: guaiacol, σ -Dianisidina, σ -fenilendiamina, σ -tolidina, 3-amino-9-etilcarbazol, 3,3'-diaminobencidina tetraclorada [DAB], ρ -fenilendiamina, N,N'-dimetil- ρ -fenilendiamina y σ -toluidina [Vámos-Vigyázó, 1981].

2.4.2.4 CONDICIONES DE ACTIVIDAD ÓPTIMA.

Las condiciones de actividad óptima varían dependiendo de la fuente, la composición de isoenzimas, el sustrato donador y el tipo de tampón utilizado. Tan es así que se ha encontrado que fracciones de POD de una misma fuente pueden tener diferentes valores de pH óptimo [Vámos-Vigyázó, 1981].

La actividad decrece a valores de pH muy bajos, así como también a valores muy altos. El valor promedio de pH óptimo es de 3.0-7.0, generalmente este valor tiende a ser entre 4.0-6.0 son pocos los que se encuentran a 3.0 y a 7.0 [Vámos-Vigyázó, 1981]. La pérdida de actividad que se observa con la acidificación del medio es atribuida al cambio de la estructura de la enzima, este cambio se da del estado nativo al estado desnaturalizado provocado por la separación del grupo hemo de la enzima [Vámos-Vigyázó, 1981].

Se ha encontrado que las temperaturas óptimas para las POD generalmente son altas, pero dentro de un amplio intervalo y van desde 30 a 60° C y otras de 50 a 60° C [Mika y Luthje, 2003].

La estabilidad térmica de la POD es su característica más estudiada, debido a que la inactivación térmica a ciertas condiciones, es un proceso bifásico y parcialmente reversible. La excelente estabilidad térmica y la tendencia a la regeneración de esta enzima hace necesario la aplicación de severos tratamientos térmicos para inactivarla, estos tratamientos traen como consecuencia la alteración de la calidad de los frutos [Vámos-Vigyázó, 1981].

2.4.2.5 INHIBIDORES.

Los inhibidores que actúan en las peroxidases son similares a los de las polifenol oxidasa, son aquellos que actúan con uno de los sustratos o con la enzima misma dentro de los que se encuentran compuestos quelantes metálicos o agentes reductores tales como cianuro, sulfuro, óxido nítrico, hidroxilamina, DIECA, metabisulfito de sodio [Vámos-Vigyázó, 1981].

Se ha reportado la presencia de inhibidores competitivos naturales en mangos inmaduros; estos inhibidores son de naturaleza proteica y termolábil, pueden causar la activación de la POD durante el tratamiento térmico [Vámos-Vigyázó, 1981].

2.4.3 POLIFENOL OXIDASA (PPO) Y PEROXIDASA (POD) EN MANGO.

Existen pocos trabajos en los que se estudie la actividad de PPO y POD en mangos, a continuación se mencionan algunos avances en esto para el fruto del mango.

En mango se han utilizado como sustratos de la polifenol oxidasa, dopamina-HCl, 4-metil catecol, ácido cafeico, catecol, catequina, ácido clorogénico, tirosina, L-DOPA, p-cresol [Marshall *et al.*, 2000]. Se encuentra presente en mangos verdes pero en frutos maduros solamente se encuentra en pequeñas cantidades [Shaw *et al.*, 1998]. La actividad de PPO se incrementa desde la cosecha hasta el climaterio y decrece en el

postclimaterio, sin embargo se detecta poca actividad en piel y pulpa de mangos maduros [Selvaraj y Kumar, 1989].

Las condiciones de actividad óptima de PPO de mango 'Raspuri' son pH 5.5, temperatura de 46° C y su punto isoelectrico de 4.1. Además de que pierde el 50% de su actividad cuando es expuesta a temperaturas de 85, 75 y 65 ° C por 3, 16 y 25.5 minutos [Katwa *et al.*, 1982]. En piel de mangos de diferentes variedades muestra una actividad de 674 a 3179 [Saby *et al.*, 2002]. La actividad de PPO en pulpa de mangos 'Manila' fue baja y aumenta considerablemente en mangos que presentan daño por frío [Vela *et al.*, 2003].

Debido a que las condiciones de actividad óptima se ven afectadas por la fuente de la enzima, el tipo de sustrato, en la tabla 7 se muestran las condiciones de actividad óptima de las PPO encontradas en mango.

Tabla 7. Características de Polifenol oxidasa de mango.

Variedad	Tejido	Sustrato	pH óptimo	Temperatura óptima (° C)	Estabilidad térmica (min)
Kensington *	Piel	4-metilcatecol	5.8	30	15 a 80° C
Haden *	Pulpa	Catecol	5.6-6.0	N.D.	4 a 80° C
Raspuri *	Piel	Catecol	5.5	46	3 a 85° C
Nigeriano *	Pulpa	Catecol	6.0	25	5.6 a 80° C

Datos recopilados a partir de información de: *Robinson *et al.* [1993]; ^bPark *et al.* [1980]; ^cKatwa *et al.* [1982] y ^dArogba *et al.* [1998].

N.D = no determinado.

En mango variedad 'Haden' se encontró actividad de peroxidasa en la porción insoluble del tejido del fruto [Pantastico *et al.*, 1987]. Además presenta una actividad máxima a pH de 5.0 y posiblemente la peroxidasa interviene en la síntesis autocatalítica del etileno además de que se encuentra en células en senescencia [Pantastico *et al.*, 1987]. Los valores de actividad específica de POD que se encuentra en la piel de mangos de diferentes variedades son de 610 a 4000 [Saby *et al.*, 2002]. La actividad de peroxidasa en piel de mango 'Keitt' se incrementa con la maduración [Zauberman *et al.*, 1988]. También se incrementa durante el desarrollo de los síntomas de daño por frío, presenta valores mucho más altos que en frutos no dañados [Zauberman *et al.*, 1988].

3. OBJETIVOS.

3.1 OBJETIVO GENERAL.

Estudiar el efecto de bajas temperaturas de almacenamiento sobre aspectos fisiológicos y bioquímicos para determinar su relación con los síntomas de daño por frío en mango.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES:

OBJETIVO PARTICULAR 1.

Seleccionar las condiciones óptimas de pH, temperatura y tipo de sustrato para determinar las actividades de Polifenol oxidasa y Peroxidasa en piel y pulpa de mango.

OBJETIVO PARTICULAR 2.

Establecer la posible relación entre el cambios en los niveles de compuestos fenólicos con los síntomas de daño por frío que desarrollan mangos de diferentes variedades cultivadas en México.

OBJETIVO PARTICULAR 3.

Establecer la posible relación entre la actividad de Polifenol oxidasa y Peroxidasa, con los síntomas de daño por frío que se desarrollan en mangos de diferentes variedades cultivadas en México.

OBJETIVO PARTICULAR 4.

Evaluar los cambios en los parámetros fisiológicos y parámetros de calidad que presentan los mangos de diferentes variedades, como respuesta al estrés por frío.

OBJETIVO PARTICULAR 5.

Comparar la respuesta fisiológica y bioquímica de mangos de diferentes variedades ante las bajas temperaturas de almacenamiento para establecer las diferencias de susceptibilidad al frío.

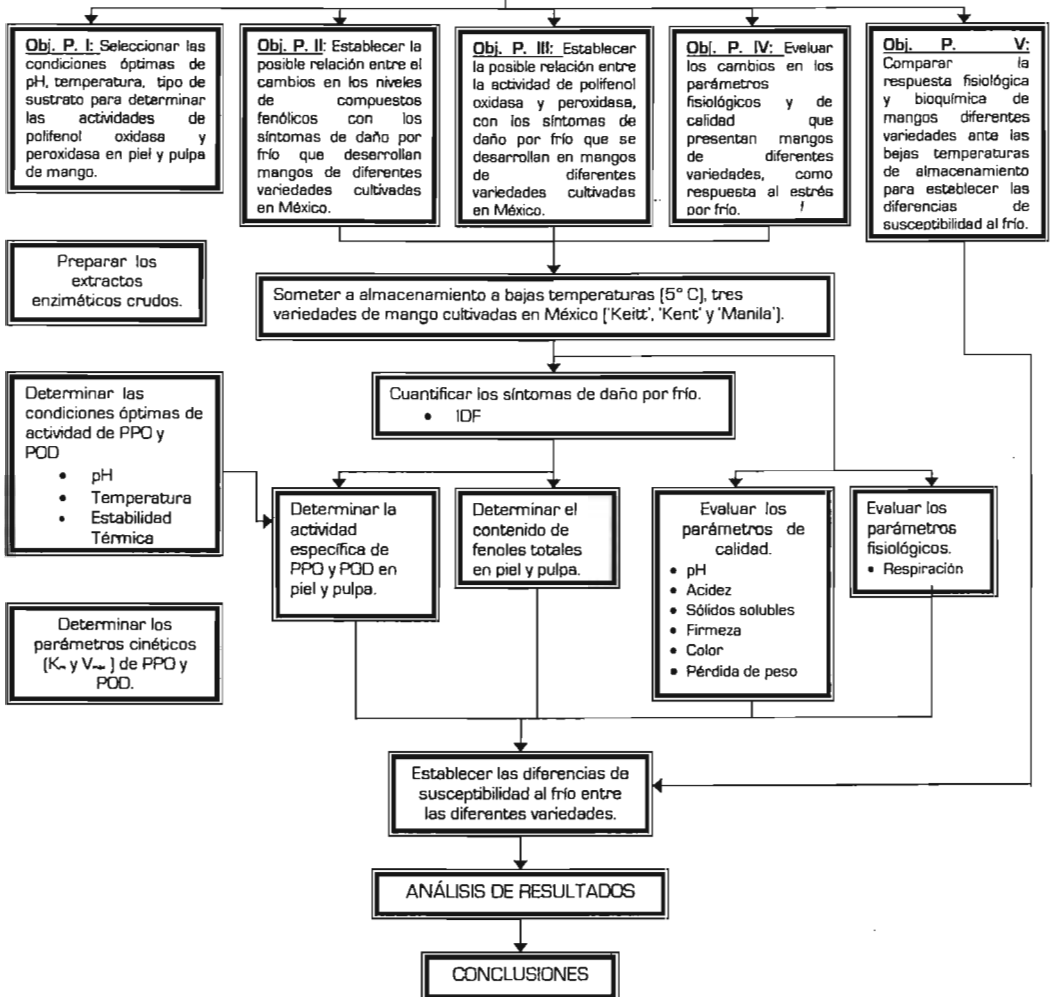


4. MATERIALES Y METODOS.

4.1 SECUENCIA METODOLOGICA.

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados se llevó a cabo la siguiente secuencia metodológica.

Objetivo General: Estudiar el efecto de bajas temperaturas de almacenamiento sobre aspectos fisiológicos y bioquímicos para determinar su relación con los síntomas de daño por frío en mango.



4.2 Material Biológico.

Mangos de las variedades 'Kent', 'Keitt' y 'Manila', cultivados en Sinaloa y Baja California Norte, cosechados en el periodo de agosto-octubre de 2003, recolectados en el estadio preclimático, transportados por vía terrestre en cajas de madera cubiertos de papel, fueron adquiridos en la Central de Abastos de la Ciudad de México. Los frutos fueron trasladados al Laboratorio Postcosecha de Productos Vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la UNAM para su estudio.

4.3. Tratamiento de los frutos.

Los frutos fueron seleccionados cuidadosamente de acuerdo al peso, color, longitud, ausencia de daños mecánicos y libre de daños por insectos, para contar con lotes homogéneos, con el mismo desarrollo fisiológico. Posteriormente, se lavaron con agua para eliminar la suciedad y secar con corriente de aire, los frutos fueron distribuidos en 3 lotes de 12 mangos para cada una de las variedades ('Manila', 'Kent' y 'Keitt'), cada lote fue colocado en recipientes de plástico que permitían la circulación del aire por el fruto.

Un lote (grupo control) fue madurado a 20° C y 95% de humedad relativa (HR) en incubadora (marca Precision, mod. 815) de temperatura controlada, hasta su total maduración. Los otros dos lotes fueron almacenados en cámara de refrigeración (marca Ojeda, mod. CDP-10128) con temperatura de 5° C \pm 2° C y 95-98% de HR durante un periodo de 25 días. Estos frutos fueron transferidos a 20° C para continuar con su maduración. Uno de estos lotes fue utilizado para evaluar el índice de daño por frío y el otro para la evaluación de los parámetros fisiológicos y de calidad.

Para cada una de las condiciones de almacenamiento se tomaron muestra de frutos en cada uno de los cuatro estadios de maduración (E₁= preclimaterio; E₂= inicio climaterio; E₃= máximo climaterio y E₄= post climaterio) para lo cual se tomó como parámetro indicativo los cambios en la respiración de los frutos. Después de cada muestreo, los frutos fueron pelados y cortados para congelarse y guardarse a -20° C hasta ser usados para la preparación de los extractos enzimáticos y sus respectivos ensayos.

4.4. Evaluación de las características físicas, químicas y de calidad de diferentes variedades de mangos.

Para evaluar las características físicas, químicas y los parámetros de calidad se utilizaron mangos en estado de madurez comercial. Se tomaron al azar tres frutos al final del almacenamiento a 20° C para las determinaciones de los diferentes parámetros de calidad: contenido de sólidos solubles totales [° Brix], acidez total, textura, color y pH. Las características químicas evaluadas fueron los contenidos de: humedad, proteína, fibra bruta, cenizas totales y grasa.

4.5 Caracterización Cinética de Polifenol Oxidasa (PPO) y Peroxidasa (POD) de mango 'Manila'.

La PPO y la POD son dos enzimas de gran importancia para el estudio del presente trabajo, por lo que se procedió a su caracterización cinética para conocer sus condiciones óptimas de actividad. Fueron obtenidos los extractos crudos de la piel y la pulpa de mangos 'Manila', madurados a 20° C, que se encontraban en el estadio postclimatérico. Se tomaron al azar tres frutos los cuales después de ser lavados con agua, la piel fue separada de la pulpa esta operación se llevo a cabo a temperatura de 4°C, posteriormente se obtuvieron los respectivos extractos de acuerdo al método mencionado en el apartado 4.9.1.1. Todos los ensayos se realizaron por triplicado, para la piel y la pulpa. Para ambas enzimas se obtuvieron las condiciones óptimas para evaluar su actividad de acuerdo a la metodología que se describe en el siguiente apartado.

4.5.1 Caracterización de PPO.

4.5.1.1 Efecto del pH.

Se determinó el efecto del pH sobre la actividad de PPO en los extractos crudos de la piel y la pulpa, utilizando solución tampón fosfato 10 mM en un intervalo de 5.0-9.5, los ensayos se llevaron a cabo de acuerdo al procedimiento mencionado en 4.9.1.2.

4.5.1.2 Efecto de la temperatura.

Se determinó la temperatura óptima de actividad de PPO en los extractos crudos a 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 65° C. Las mezclas de reacción como las utilizadas para los ensayos de actividad fueron incubadas a las temperaturas antes mencionadas, en un baño de recirculación con temperatura controlada [marca Techne, mod. FTE 10AP]. La actividad enzimática se expresó en forma relativa como el porcentaje de actividad con respecto a su actividad máxima.

4.5.1.3 Efecto de la concentración del sustrato.

La actividad de PPO fue determinada a 420 nm, con dopamina hidroclicorada [SIGMA, St. Louis], catecol [SIGMA, St. Louis] y ácido cafeico [SIGMA, St. Louis] a concentraciones 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15 y 70 mM, los datos obtenidos fueron analizados por regresión lineal, K_m y $V_{máx}$ aparentes fueron calculadas para cada uno de los sustratos por el método de Lineweaver- Burk [1934].

4.5.1.4 Estabilidad térmica.

Los extractos enzimáticos [1 ml] se colocaron en un tubo de microcentrífuga [marca eppendorf] y fueron incubados a 40, 50, 60, 70 y 80° C en un baño con recirculación de agua y a temperatura controlada. Alícuotas de 200 μ l fueron retiradas a intervalos de 2, 5, 10, 20 y 30 minutos, se colocaron en tubos de microcentrífuga, los cuales se mantuvieron en baño de hielo durante 1 minuto. El ensayo de actividad residual se realizó inmediatamente a una temperatura de 25° C.

4.5.2 Caracterización de POD.

4.5.2.1 Efecto del pH.

El efecto del pH sobre la actividad de POD se determinó en los extractos crudos de la piel y la pulpa, en un intervalo de 4 a 9 utilizando solución tampón fosfato 0.05 M. Los

4.5.1.2 Efecto de la temperatura.

Se determinó la temperatura óptima de actividad de PPO en los extractos crudos a 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 65° C. Las mezclas de reacción como las utilizadas para los ensayos de actividad fueron incubadas a las temperaturas antes mencionadas, en un baño de recirculación con temperatura controlada [marca Techne, mod. FTE 10AP]. La actividad enzimática se expresó en forma relativa como el porcentaje de actividad con respecto a su actividad máxima.

4.5.1.3 Efecto de la concentración del sustrato.

La actividad de PPO fue determinada a 420 nm, con dopamina hidrocloreada (SIGMA, St. Louis), catecol (SIGMA, St. Louis) y ácido cafeíco (SIGMA, St. Louis) a concentraciones 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15 y 70 mM, los datos obtenidos fueron analizados por regresión lineal, K_m y V_{max} aparentes fueron calculadas para cada uno de los sustratos por el método de Lineweaver- Burk [1934].

4.5.1.4 Estabilidad térmica.

Los extractos enzimáticos (1 ml) se colocaron en un tubo de microcentrífuga (marca eppendorf) y fueron incubados a 40, 50, 60, 70 y 80° C en un baño con recirculación de agua y a temperatura controlada. Alícuotas de 200 μ l fueron retiradas a intervalos de 2, 5, 10, 20 y 30 minutos, se colocaron en tubos de microcentrífuga, los cuales se mantuvieron en baño de hielo durante 1 minuto. El ensayo de actividad residual se realizó inmediatamente a una temperatura de 25° C.

4.5.2 Caracterización de POD.

4.5.2.1 Efecto del pH.

El efecto del pH sobre la actividad de POD se determinó en los extractos crudos de la piel y la pulpa, en un intervalo de 4 a 9 utilizando solución tampón fosfato 0.05 M. Los

ensayos se llevaron a cabo bajo las condiciones estándar descritas en el apartado 4.9.1.3.

4.5.2.2 Efecto de la temperatura.

La temperatura óptima de actividad de POD en los extractos crudos fue determinada a 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70° C. Las mezclas de reacción fueron incubados a las temperaturas antes mencionadas en un baño de recirculación de agua con temperatura controlada. La actividad enzimática fue expresada en forma relativa como el porcentaje de actividad con respecto a su actividad máxima.

4.5.2.3 Efecto de la concentración del sustrato.

La actividad de POD fue determinada a las condiciones estándar descritas en el apartado 4.9.1.3. utilizando como sustratos, *p*-fenilendiamina [SIGMA, St. Louis], guayacol [SIGMA ALDRICH, Milwaukee] y resorcinol [SIGMA, St. Louis], a concentraciones 9.2, 23, 46, 69, 92, 138 mM, los datos obtenidos fueron transformados mediante gráficos de Lineweaver-Burk [1934] para obtener los valores correspondientes de K_m y V_{max} aparentes para cada uno de los sustratos utilizados.

4.5.2.4 Estabilidad térmica.

Se colocó 1 ml de los extractos crudos en un tubo de microcentrífuga, después fueron incubado a 50, 60, 70 y 80° C en un baño con recirculación de agua a temperatura controlada. Alícuotas de 200 μ l fueron tomadas a intervalos de 2, 5, 10, 20 y 30 minutos y enfriadas en baño de hielo por 1 minuto. La actividad enzimática residual fue medida inmediatamente bajo las condiciones estándar a temperatura de 25° C.

4.6 Evaluación de la relación entre los cambios en los compuestos fenólicos presentes en el mango con los síntomas de daño por frío que presentan las diferentes variedades.

Se utilizaron mangos de las variedades 'Kent' y Keitt', en estadio preclimatérico sometidos a las condiciones de almacenamiento descritas en el apartado 4.3. Después de lo cual en los mangos sometidos a bajas temperaturas, se cuantificaron los síntomas de daño por frío, por medio del índice de daño por frío. Se determinó el contenido de fenoles totales en piel y pulpa de mangos del grupo control y los sometidos a bajas temperaturas, utilizando los métodos descritos en el apartado 4.9.1

Posteriormente se obtuvieron las correlaciones entre la concentración de compuestos fenólicos presentes en piel y pulpa de los mangos y el índice de daño por frío que presentaron los mismos. Los experimentos se realizaron con lotes de 12 frutos para cada condición de almacenamiento y estos se realizaron por triplicado para cada variedad.

4.7 Evaluación de la relación de las actividades de PPO y POD con los síntomas de daño por frío que se desarrollan en mangos de diferentes variedades cultivadas en México.

Se utilizaron mangos de las variedades 'Manila', 'Kent' y 'Keitt' que se encontraban en estadio preclimatérico, estos se almacenaron bajo las condiciones descritas en el apartado 4.3. A continuación se determinaron las actividades específicas de polifenol oxidasa y peroxidasa en la piel y la pulpa de los mangos tanto para el grupo control (20°C) como para los que fueron almacenados a bajas temperaturas (5° C), las actividades específicas de ambas enzimas fueron correlacionadas con el índice de daño por frío que presentó cada variedad de mango para obtener la relación que existe entre la actividad de las enzimas antes mencionadas y los síntomas de daño por frío que desarrollan los mangos. Los experimentos fueron realizados con lotes de 12 frutos para cada condición de almacenamiento y estos se realizaron por triplicado para cada variedad.

4.8 Evaluación del efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento en los diferentes parámetros fisiológicos y parámetros de calidad de mangos de diferentes variedades cultivadas en México.

Se utilizaron mangos de las variedades 'Manila', 'Kent' y 'Keitt' que se encontraban en estadio preclimático, estos se almacenaron bajo las condiciones descritas en el apartado 4.3.

Para determinar el efecto del almacenamiento a bajas temperaturas en la fisiología postcosecha de los mangos se evaluó la respiración de los mangos durante la maduración a 20° C de cada uno de los lotes para las dos condiciones de almacenamiento (20° C y 5° C), en cada uno de los estadio de maduración se evaluaron todos los parámetros de calidad (pH, textura, color, porcentaje de pérdida de peso, acidez total, sólidos solubles). Los experimentos se realizaron con lotes de 12 frutos para cada condición de almacenamiento y estos se realizaron por triplicado para cada variedad.

4.9 MÉTODOS ANALÍTICOS.

4.9.1 Actividades enzimáticas.

4.9.1.1 Preparación de los Extractos Crudos.

El extracto crudo enzimático fue preparado a 4° C de acuerdo al método propuesto por Cano *et al.* (1997) con algunas modificaciones. Se tomaron 200 mg de la piel o la pulpa del fruto, se trituraron manualmente en mortero utilizando nitrógeno líquido. Se colocó en tubos de microcentrifuga y se le agregó 1 ml de tampón fosfato frío (0.2M, pH 7.0), se mezcló a velocidad constante en un agitador (marca lab line, mod. 1195) durante 1 minuto, después la suspensión resultante fue centrifugada a 14 000 rpm durante 15 minutos. Se extrajo el sobrenadante y se descartó el pellet, los ensayos de actividad se realizaron el mismo día de preparación de los extractos. Los extractos obtenidos fueron utilizados para las determinaciones de actividad de PPO, PDO y contenido de proteína.

4.9.1.2 Determinación de la Actividad de Polifenol Oxidasa.

La actividad de la polifenol oxidasa fue determinada espectrofotométricamente siguiendo el procedimiento descrito por Cano *et al.* [1997] con algunas modificaciones, utilizando como sustrato dopamina hidroclicorada.

La mezcla de reacción contenía 1.45 ml de tampón fosfato 10 mM (pH 7.5), con 0.07M de dopamina hidroclicorada (SIGMA, St.Louis). La mezcla fue incubada por 2 minutos a 40° C, finalmente se la agregó 100 µl de extracto enzimático en la celda. Los cambios de absorbancia debidos a la oxidación de la Dopamina por la acción de la PPO fueron seguidos en un espectrofotómetro (marca TERMO SPECTRONIC, mod. GÉNESIS 10 UV) a 420 nm durante 4 minutos. La actividad de PPO se calculó con base en la pendiente de la proporción lineal de la curva a 420 nm contra el tiempo. La actividad se expresó como $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$.

Se utilizó como blanco la mezcla de reacción sin el extracto enzimático en lugar de este se le agregaron 100 µl de agua destilada.

4.9.1.3 Determinación de la Actividad de Peroxidasa.

La actividad de la peroxidasa fue determinada espectrofotométricamente siguiendo el procedimiento descrito por Cano *et al.* [1997] con algunas modificaciones, utilizando como sustratos *p*-fenilendiamina y H₂O₂.

La mezcla de reacción contenía 1.35 ml de tampón fosfato 0.05 M (pH 5.0), 50 µl de H₂O₂ (15 ml/L), 100 µl de *p*-fenilendiamina (10 mg/ml)(SIGMA, St. Louis) como sustratos. La mezcla fue incubada por 2 minutos a 60° C para la piel y a 30° C para la pulpa, finalmente se le agregó 100 µl de extracto enzimático en la celda. Los cambios de absorbancia debidos a la oxidación de la *p*-fenilendiamina por la POD fueron seguidos en un espectrofotómetro (marca TERMO SPECTRONIC, mod. GÉNESIS 10 UV) a 485 nm durante 4 minutos. La actividad de POD se fue calculada con base en la pendiente de la porción lineal de la curva a 485 nm contra el tiempo. La actividad se expresó como $\Delta A_{485} \text{ min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$.

acetona al 80%. Homogenizando las muestras por 1 minuto, centrifugándose después a 3000 rpm durante 15 minutos a 25° C. Se recuperó el sobrenadante y el procedimiento fue repetido agregando 0.5 ml del solvente al pellet. Los sobrenadantes de las dos extracciones se combinaron, concentrándose después hasta sequedad en un baño con recirculación a temperatura de 70° C. La materia seca fue resuspendida con 1 ml de metanol agitando a velocidad constante, después fue centrifugada a 3 000 rpm durante 10 minutos, se recuperó el sobrenadante y se ajustó el volumen a 1.5 ml.

Para la cuantificación del contenido de fenoles fue necesario hacer diluciones de los extractos de piel 1:100 y de pulpa 1:2, antes de la determinación.

4.9.3.2 Cuantificación de Fenoles Totales.

Se tomó una alícuota de 200 μ l de los extractos, se colocó en tubo de ensaye, se agregaron 1500 μ l de agua destilada y 100 μ l de reactivo de Folin-Ciocalteu, después de 1 minuto se le adicionaron 200 μ l de Na_2CO_3 al 20% agitándose a velocidad constante, dejándose reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos, después de lo cual se midió la absorbancia en un espectrofotómetro [marca TERMO SPECTRONIC, mod. GÉNESIS 10 UV] a 765 nm.

El alto contenido de azúcares puede interferir con la determinación de fenoles totales. Esto puede corregirse aplicando un factor de corrección, en base al contenido de azúcares en las muestras. El factor de corrección que se aplicó a mango fue de 1.03 [Bordeu y Scarpa, 1998].

4.9.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y FISIOLÓGICAS.

4.9.4.1 Determinación de la Firmeza.

La firmeza fue determinada sobre una de las caras de la zona ecuatorial de los frutos, utilizando un penetrómetro manual [marca Tr, mod. FT327] con una sonda cilíndrica de 8 mm de diámetro, los resultados fueron expresados como la fuerza necesaria para penetrar el fruto incluyendo la piel en Kg./cm^2 .

4.9.4.2 Determinación de la Pérdida de Peso.

La pérdida de peso se determinó utilizando una balanza electrónica (marca Sartorius, mod. 1872). Se comparó el peso inicial y el peso obtenido después en cada estadio de maduración para cada lote de frutos. La muestra inicial fue evaluada el día de su llegada al laboratorio. La pérdida de peso fue calculada a través de la diferencia entre el peso inicial y final de los frutos, se expresa como el porcentaje del peso perdido por los frutos.

4.9.4.3 Determinación del Color.

El color de la piel fue medido en la zona media del fruto por medio de un colorímetro tri-estímulos Minolta CR-300 utilizando los términos L, a y b, de la Commission International de l' Eclairage (CIELab). Como estándar de calibración se utilizó una placa de porcelana blanca. La luminosidad se representó por el valor de L*, el color negro presenta un valor de L=0 mientras que el blanco L = 100. Los valores de a* y b* se utilizaron para evaluar la saturación (Croma) que nos define la pureza del color y el tono (ángulo HUE) que define el color. Estos valores se calcularon de la siguiente manera: Hue= $\tan^{-1} b/a$, Croma= $(a^2 + b^2)^{1/2}$ (McGuire, 1992).

4.9.4.4 Determinación de la Respiración.

La respiración de los frutos se determinó en base a la producción de CO₂ generado por los frutos, utilizando el método de sistema cerrado que se basa en la medición directa de CO₂, los frutos se incuban en un contenedor sellado y se mide la acumulación de CO₂ en la atmósfera del contenedor sellado después de un período de tiempo específico, usualmente no mayor a 1 hora para evitar dañar al fruto por agotamiento de O₂ y acumulación de CO₂ en la atmósfera que lo rodea.

Para la cuantificación se conectó a la salida de frascos de ventilación sellados que contenían a los frutos a un analizador de gas por infrarrojos (marca ANALYZER Nitec, LLC). La producción de CO₂ fue expresada como mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

4.9.5 CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS Y QUÍMICAS.

Las características fisicoquímicas y químicas de los frutos fueron evaluadas en cada uno de los frutos en los diferentes estadios de maduración. Estas fueron determinadas en la pulpa de los frutos.

4.9.5.1 Determinación de la Acidez Total.

La acidez titulable fue determinada por titulación directa con NaOH 1 N de acuerdo al método AOAC [1990], 10 g de muestra diluida en 90 g de agua destilada, se homogenizó y se filtro, posteriormente se tomó una alícuota de 20 ml a la cual se le adicionaron 3 gotas de fenolftaleína, la cual se tituló hasta alcanzar un pH de 8.3 (pH en el cual vira la fenolftaleína). El porcentaje de acidez se expresa como porcentaje de ácido cítrico y fue calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ácidez} = \frac{N * V * 0.064}{m} \times 100$$

Donde:

V = Volumen de la solución de NaOH gastados en la titulación.

N = Normalidad de la solución de NaOH.

m = Peso (g) de la muestra.

0.064 = meq. del ácido cítrico.

4.9.5.2 Determinación de los Sólidos Solubles.

Los sólidos solubles expresados como °Brix, fueron determinados por medición directa utilizando el jugo fresco sin diluir del fruto con un refractómetro manual 0-32% (marca ATAGO, mod. 2111) a 25° C. Se colocó una gota de jugo del fruto en el prisma del refractómetro se dirigió hacia la fuente de luz y se leyó el porcentaje.

El refractómetro y el fruto deben estar a la misma temperatura por lo se calibró antes de su uso. Para calibrarlo se colocó una gota de agua destilada en la superficie del prisma, la lectura se ajustó a cero %.



4.9.5.3 Determinación del pH.

El pH fue determinado con un potenciómetro manual digital (marca HANNA instruments, mod. pHep1) por inmersión del electrodo en la muestra. La determinación se llevó a cabo a temperatura ambiente.

4.9.5.4 Determinación del Contenido de Humedad.

El contenido de humedad se determinó por el método de secado utilizando una estufa de aire, en el cual el agua se elimina por el efecto del calor aplicado a la muestra. Calculando el contenido de agua en la muestra por pérdida de peso debido a su evaporación por calentamiento a 70° C [Pearson, 1986].

4.9.5.5 Determinación del Contenido de Proteína.

La cantidad de proteína en los extractos fue determinada por el método de Lowry *et al.* [1951], que se basa en la reacción de Biuret, donde las proteínas reaccionan con cobre en solución alcalina y mediante reducción del reactivo de Folin-Ciocalteau (ácido fosfomolibdicofosfotúngstico), que se reduce a heteropolimolibdeno azul por la oxidación de aminoácidos aromáticos que es catalizada por cobre. La reacción se lleva a cabo en medio alcalino (pH 10.0-10.5). Se utilizó como estándar albúmina sérica bovina (SIGMA, St. Louis). Los valores de concentración de proteína se determinaron por interpolación gráfica en una curva patrón obtenida a 720 nm.

4.9.5.6 Determinación del Contenido de Carbohidratos.

Se utilizó el método colorimétrico de DNS, el cual se basa en la propiedad de los azúcares reductores para reducir al ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) bajo determinadas condiciones. La determinación se llevó a cabo utilizando una solución de sacarosa como estándar. Los valores de concentración de carbohidratos se determinaron por interpolación gráfica en una curva patrón obtenida a 575 nm (Miller, 1959).

4.9.5.7 Determinación del Contenido de Grasa.

La cantidad de grasa en las muestras se llevó a cabo por el método de Soxhlet, en el cual la grasa se extrae con éter de petróleo a partir del residuo desecado, el solvente se elimina por evaporación y se pesa el residuo de grasa [Pearson, 1986].

4.9.5.8 Determinación del Contenido de Cenizas Totales.

Para la determinación de cenizas totales se utilizó el método de Klemm, el cual se fundamenta en la calcinación e incineración de la materia orgánica a 550° C, obteniendo el residuo inorgánico [Pearson, 1986].

4.9.5.9 Determinación del Contenido de Fibra Cruda.

Se llevó a cabo de acuerdo al método de Kennedy y Wendy, el cual se basa en la determinación de esta sobre una muestra desengrasada, la cual se trata con ácido sulfúrico en ebullición, sucesivamente con hidróxido sódico diluidos, considerándose el contenido de fibra, el residuo menos las cenizas [Pearson, 1986].

4.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Todas las determinaciones se realizaron tres veces para poder realizar los análisis estadísticos de los datos obtenidos. Los datos fueron analizados mediante análisis de variancia (ANOVA) y Pruebas de rango múltiple de Duncan/Tuckey con una $P \leq 0.05$ fueron empleadas para determinar la diferencia estadística entre las medias. Para estos análisis se utilizó el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences versión 9.0, Student).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1 Evaluación de las características físicas, químicas y de calidad de diferentes variedades de mangos.

La calidad de un fruto se define como una combinación de características, atributos y propiedades que le darán un valor como alimento. La calidad se asocia con una buena apariencia, firmeza, sabor, valor nutritivo y la seguridad que ofrece al consumidor (Flores-Gutierrez, 2000). Las características de las variedades de frutos de mango se distinguen y varían ampliamente en forma, tamaño, color, sabor, textura, contenido de fibra y composición (Jagtiani *et al.*, 1988).

Con el propósito de conocer las características y establecer las diferencias entre las tres variedades de frutos de mango en estudio, se llevó a cabo la evaluación de las características físicas, químicas, fisicoquímicas y bioquímicas de las tres variedades de mango. Las determinaciones se realizaron cuando el fruto se encontraba en madurez comercial.

Los resultados de la evaluación física se muestran en la tabla 8. El peso, las longitudes ecuatorial y polar proporcionan una idea del estado fisiológico de los frutos de cada variedad, siendo el tamaño y la forma una de las características más importantes que se alcanzan durante el desarrollo del fruto. La variedad 'Manila' fue la que presentó menor tamaño comparada con las otras dos variedades, lo cual es característico de esta variedad ya que su peso promedio se encuentra entre 180-350 g (Galán-Saúco, 1999). Mientras que en las variedades 'Keitt' y 'Kent' presentaron un tamaño mayor a dos veces el tamaño del mango 'Manila', no se encontraron diferencias significativas [$P \geq 0.05$] en cuanto a tamaño entre las variedades 'Keitt' y 'Kent', pero si se encontraron diferencias significativas [$P \leq 0.05$] con la variedad 'Manila'.

El color en la piel es otro parámetro importante que puede ser distintivo entre las diferentes variedades de mango. Durante la maduración del fruto se desarrollan o degradan diferentes pigmentos que proporcionan la característica final del color. Para llevar a cabo la evaluación se utilizó el sistema 'Hunter' que nos da los parámetros de L,

a y **b**. El valor de '**L**' mide la luminosidad en escala de 0 [negro] a 100 [Blanco], es decir representa el brillo del color; valores positivos de '**a**' indican coloraciones rojizas; valores negativos de '**a**' indican coloraciones verdes, cuando los valores de '**b**' son positivos indican coloraciones amarillas y cuando son negativos coloraciones con tendencia a azul [McGuire, 1992].

Los parámetros de color [Tabla 8] presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre las variedades, en el momento que alcanzaron la madurez comercial. La variedad 'Kent' presentó una baja luminosidad, pero no se registró diferencia significativa ($P \geq 0.05$) con respecto a la variedad 'Keitt', mientras que la variedad 'Manila' presentó una alta luminosidad, por lo que se puede decir que tiene una coloración más brillante que las otras dos variedades. Los valores de '**a**' y '**b**' presentaron diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre las tres variedades. La variedad 'Keitt' presentó un valor negativo de '**a**' que indica una coloración verde, mientras que las variedades 'Kent' y 'Manila' presentaron valores positivos de '**a**' con coloraciones con tendencias rojizas que es mucho mayor en la variedad 'Kent' que característicamente posee un chapeo rojo. En cuanto al valor de '**b**' todas las variedades presentaron un valor positivo, lo que representa una coloración amarilla, sin embargo el valor más alto que presentaron los mangos 'Kent' nos dice que fueron los de color más amarillo y los menos amarillos fueron los mangos 'Manila', esta coloración amarilla generalmente se debe al incremento y acumulación de carotenoides en los frutos durante la maduración.

El valor del ángulo Hue nos da una idea más clara del color en sí, es decir la impresión visible del color del fruto. Los valores de este van desde 0° (rojo-púrpura); 90° (amarillo); 180° (azulado- verde) y 270° (azul). Por lo que los valores [Tabla 10] obtenidos para todas las variedades nos dicen que el color de los frutos es una mezcla de amarillo y rojo predominado el color amarillo.

El ablandamiento de los tejidos es otro de los principales cambios de la maduración de los frutos, este cambio se determina por medio de la textura del fruto, la textura generalmente esta relacionada con las cantidades de polisacáridos estructurales, almidón y sustancias pécticas encontradas en la piel del fruto de mango [Díaz-Sobac *et al.*, 1997]. Los valores de firmeza [Tabla 8] fueron altos en las variedades 'Keitt' y 'Kent',



la variedad 'Manila' presentó una menor firmeza, no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) en la firmeza entre las variedades 'Keitt' y 'Kent', pero sí se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con la variedad 'Manila'.

Tabla 8. Características físicas de frutos de mango de tres variedades cultivadas en México.

Característica	Variedad		
	Keitt	Kent	Manila
Peso [g]	433.6 ± 61.77 ^a	418.135 ± 71.41 ^a	199.054 ± 41.071 ^b
Longitud ecuatorial [cm]	13.54 ± 0.71 ^a	13.99 ± 0.832 ^a	9.4 ± 0.644 ^b
Longitud polar [cm]	15.4 ± 0.84 ^a	15.04 ± 0.795 ^a	13.28 ± 1.048 ^b
Color			
L	53.54 ± 2.52 ^a	51.3 ± 1.79 ^a	97.78 ± 1.4 ^a
a	-8.71 ± 0.46 ^a	17.56 ± 2.28 ^b	10.74 ± 0.55 ^c
b	41.43 ± 3.34 ^a	43.77 ± 3.64 ^a	26.1 ± 4.06 ^b
Hue	78.1 ± 0.36 ^a	83.3 ± 5.6 ^a	66.88 ± 4.26 ^b
Firmeza [Kg/cm²]	8.3 ± 1.95 ^a	8.925 ± 2.15 ^a	2.52 ± 0.44 ^b

Los valores representan la media (± SD) de 3 réplicas (12 frutos). Diferentes letras en la misma file indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$).

Uno de los cambios más notables durante la maduración de mangos es la hidrólisis del almidón y la siguiente acumulación de azúcares, por lo que el mango como la mayoría de los frutos, tiene un alto contenido de azúcares [Tabla 9], la variedad 'Manila' contienen menos carbohidratos que las otras dos variedades.

El mango es rico en fibra como se observa en la tabla 9, el contenido de fibra para todas las variedades, por cada 100 g que se consuma de pulpa del fruto se esta consumiendo el 5% de la cantidad recomendada de fibra diaria (6 a 8 g), esto nos trae beneficios ya que al consumirla se mejora el funcionamiento del tubo digestivo. No se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) de este componente entre las tres variedades de mango.



Tabla 9. Características químicas, fisicoquímicas y bioquímicas de pulpa mango de diferentes variedades en estadio postclimaterico.

Característica	Variedad		
	Keitt	Kent	Manila
Carbohidratos¹ (g / 100g PF)	13.17 ± 1.52*	13.82 ± 0.53*	10.61 ± 0.33*
Fibra cruda² (g / 100g PF)	0.199 ± 0.016*	0.320 ± 0.087*	0.252 ± 0.011*
Proteína³ (g / 100g PF)	1.93 ± 0.08*	2.22 ± 0.54*	2.16 ± 0.33*
Grasa⁴ (g / 100g PF)	0.965 ± 0.043*	0.993 ± 0.082*	0.339 ± 0.153*
Cenizas⁵ (g / 100g PF)	0.422 ± 0.039*	0.44 ± 0.016*	0.62 ± 0.068*
Humedad⁶ (g / 100g PF)	79.64 ± 1.83*	78.70 ± 0.9*	83.83 ± 0.611*
Sólidos solubles (° Brix)	16.55 ± 2.6*	19.13 ± 2.59*	15.42 ± 1.28*
Sólidos totales (g / 100g PF)	20.36 ± 1.75*	21.30 ± 0.87*	16.17 ± 0.56*
PH	4.98 ± 0.64*	4.51 ± 0.29*	5.75 ± 0.52*
Acidez*	0.315 ± 0.11*	0.390 ± 0.13*	0.110 ± 0.031*
Actividad de PPO [Δ Abs ₄₀₅ /mg proteína* min.]	0.150 ± 0.017*	0.079 ± 0.007*	0.210 ± 0.03*
Actividad de POD [Δ Abs ₄₀₅ /mg proteína* min.]	0.195 ± 0.023*	0.36 ± 0.088*	0.261 ± 0.03*

El contenido fue determinado por el método: 1 =Colorimétrico DNS; 2 = Kennedy y Wendy ; 3=Lowry ; 4=Soxhlet; 5=Klemm y 6 =Secado en estufa de aire.

Los valores representan la media (± SD) de 3 réplicas (12 frutos). Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$).

*Calculado como % de ácido cítrico.

El mango como se ve en la tabla 9, no es una buena fuente de proteína ya que su contenido se encuentra entre 2 a 2.5 %. En este componente no se encontró diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre todas las variedades, el más alto contenido lo presentó la variedad 'Kent' seguida por la 'Manila' y la variedad 'Keitt' resultó ser la que contiene menor cantidad de proteína.

El mango contiene un bajo contenido de grasa, las cantidades que se encontraron presentes en las diferentes variedades fueron de 0.2% a 1%, los mangos 'Manila' presentaron un 80% menos de grasa que las otras dos variedades, la variedad que presentó un mayor contenido de grasa fue la 'Kent'. No se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) en el contenido de cenizas de todas las variedades.

El mango como la mayoría de los frutos tiene un elevado contenido de humedad que abarca una proporción de aproximadamente 80% (Tabla 9), aunque este depende de la disponibilidad que tenga el fruto al momento de la cosecha. Existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el contenido de humedad de mangos 'Manila' con respecto a las otras dos variedades, esta variedad presentó un valor más alto de humedad, lo que puede estar relacionado con el mayor ablandamiento que presentó comparado con las otras dos variedades. No existen diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre los valores de sólidos solubles, sin embargo la variedad 'Kent' presentó valores más altos, seguida por la variedad 'Keitt' y la variedad 'Manila'. La variedad 'Manila' presentó un bajo contenido de sólidos totales, esto también puede estar relacionado con los valores bajos de textura obtenidos por esta variedad debido a que la cantidad de sólidos totales está relacionado con la textura (Kane *et al.*, 1982).

El valor de pH para todas las variedades se encontró entre 4.5 y 6.0; es decir siempre en valores ligeramente ácidos. Se encontró que fue diferente significativamente ($P \leq 0.05$) en la variedad 'Manila' que tuvo un valor más alto con respecto a las otras dos variedades. Resultados similares fueron obtenidos para la acidez total, la variedad 'Kent' maneja valores más altos de acidez, la variedad 'Manila' mostró una baja acidez, estos valores se relaciona con los valores de pH ya que la acidez es inversamente proporcional al pH (Tabla 9).

La evaluación de la actividad de las dos oxidoreductasas (PPO y POD) es importante debido a que estas enzimas están estrechamente relacionadas con el desarrollo de pardeamiento en los tejidos del fruto y por esta razón su caracterización es importante para conocer las diferencias entre las variedades de mangos. Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los resultados obtenidos de la actividad de PPO y POD en la pulpa de las tres variedades (Tabla 9).

La variedad 'Manila' presentó una actividad más alta de PPO, también presentó una alta actividad de POD. La variedad 'Kent' presentó la actividad más baja de PPO, sin embargo presentó la actividad más alta de POD, la variedad 'Keitt' presentó un comportamiento similar a la variedad 'Manila'. Debido a que en frutos que muestran una alta actividad de PPO presentan un rápido oscurecimiento de los tejidos cuando el fruto es expuesto al aire, con los resultados obtenidos, se puede decir que en la pulpa de la variedad 'Manila' es más probable que se presente esta reacción.

La respiración de los frutos es un proceso bioquímico en el cual las células de los frutos consumen oxígeno para transformar los azúcares simples y obtener energía, liberando bióxido de carbono y agua. La respiración en los frutos climatéricos desempeña un papel importante después de que son cosechados; esto es debido a que posterior a la cosecha, sobreviene una alta tasa de respiración seguida por una disminución de la misma, sucediendo la degradación de los compuestos fenólicos y otros procesos para llegar a la madurez de consumo [Flores-Gutierrez, 2000].

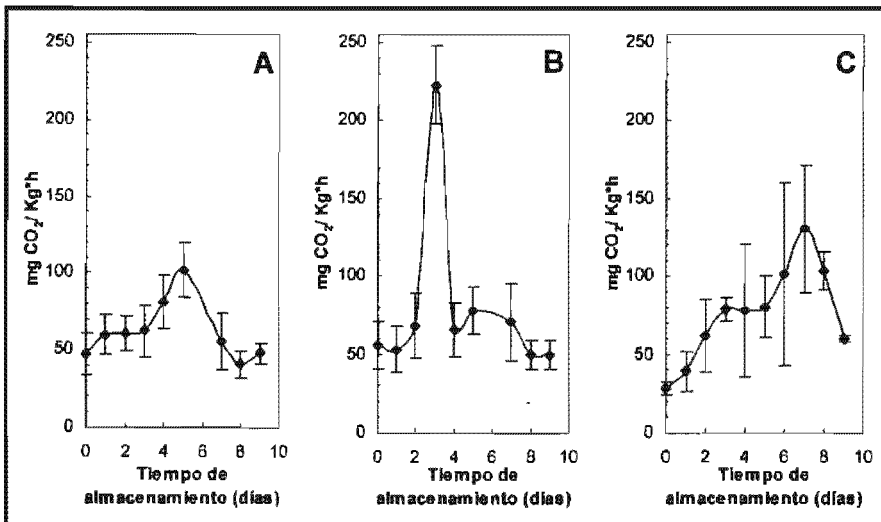


Figura 11. Producción de CO₂ de mangos durante la maduración a 20° C 'Keitt' (A), 'Kent' (B) y 'Manila' (C). Cada valor representa la media de 3 réplicas [12 frutos]. Las barras verticales representa ± la SD.

Los patrones de respiración durante la maduración a 20° C de las tres variedades de mangos se muestran en la figura 11. Las tres variedades presentaron el típico

comportamiento de un fruto climatérico, como el mango. Este comportamiento se caracteriza por la aparición de 4 etapas durante la maduración del fruto; pasa por un mínimo [preclimaterio] cuando el fruto alcanza su tamaño máximo y se registra una producción de CO_2 mínima [madurez fisiológica], posteriormente aumenta la cantidad de CO_2 y es cuando comienza a madurar [inicio del climaterio], posteriormente alcanza su valor máximo al final de la maduración en el cual se presenta un pico de producción de CO_2 [máximo climaterio], para después disminuye rápidamente en el transcurso de la senescencia [postclimaterio] (Wiley, 1997).

Los mangos variedad 'Manila' exhiben su máximo climaterio 7 días después de la cosecha con una producción de 130.33 $\text{mg CO}_2/\text{Kg h}$ [Fig. 11 C]; la variedad 'Keitt' su máximo climaterio se presentó al 5° día con una producción de 101.72 $\text{mg CO}_2/\text{Kg h}$ [Fig. 11 A] y la variedad 'Kent' su máximo climaterio se presentó al 3° día con una producción de 222.73 $\text{mg CO}_2/\text{Kg h}$ [Fig. 11 B].

La variedad 'Kent' presentó una mayor producción de CO_2 (222 $\text{mg CO}_2/\text{Kg h}$), siendo 54% mayor con respecto a la variedad 'Keitt' y 41 % mayor con respecto a la variedad 'Manila'. Sin embargo a pesar de que una alta velocidad de respiración puede traer como consecuencia un descenso en la vida útil del fruto [Mitcham y Mc Donald, 1992], comparándola con las otras variedades la vida útil de las tres fue de alrededor de 9 a 10 días por lo que se puede decir que el valor que presentó la variedad 'Kent' aparentemente no tiene efecto alguno.

Con respecto a la producción de CO_2 en el máximo climaterio según lo reportado en Braverman [1967] para frutos de mango generalmente se aproxima a 126 $\text{mg CO}_2/\text{Kg h}$. Al comparar los datos que se obtuvieron para las tres variedades, la variedad 'Kent' quedo muy por arriba, sin embargo las otras dos variedades su producción de CO_2 en el máximo climaterio se aproxima a este valor. En datos reportados por Díaz-Sobac *et al.* [1997] mangos variedad 'Manila' presentan su máximo climaterio 8 días después de la cosecha con una de producción de CO_2 de 73 $\text{mg CO}_2/\text{Kg h}$. Otras variedades como mangos 'Alfonso' presentaron su máximo climaterio normalmente 5 días después de la cosecha [Mitra y Baldwin, 1997]; en mangos 'Paini' su máximo climaterio se presentó 8 días después de la cosecha con producción de 240 $\text{mg CO}_2/\text{Kg h}$ [Krishnamurthy y

Subramanyam, 1971); en mangos 'Nam Dokmai' y 'Tongdum' su máximo climaterio se observó 4 días después de la cosecha con una producción de 180 y 80 mg CO₂/Kg h, respectivamente [Ketsa *et al.*, 1999b]. Se puede concluir que los patrones respiratorios de los frutos cambian dependiendo de la variedad y del momento en que fueron cosechados. Sin embargo hay que tener en cuenta otros factores que pueden influir en la velocidad de respiración de los frutos como la temperatura de almacenamiento, y condiciones de cultivo del fruto.

5.2 Caracterización Cinética de Polifenol Oxidasa (PPO) y Peroxidasa (POD) de mango 'Manila'.

La actividad de las enzimas y sus características generalmente se ven afectadas por diversos factores. Estos elementos capaces de influir en la acción de las enzimas, ya sea acelerándolas o retardándolas, según sus características, principalmente son pH y temperatura. Por ello es de vital importancia conocer la actividad y estabilidad de las enzimas en función de la temperatura y del pH.

En este trabajo la evaluación de las condiciones óptimas de actividad de las dos oxidoreductasas [PPO y POD] es importante debido a que las determinaciones bajo estas condiciones óptimas de actividad nos permitirán una mejor interpretación de los resultados posteriores.

5.2.1 EFECTO DE pH.

El pH tiene un efecto muy notable sobre la actividad de la mayoría de las enzimas. A causa de su naturaleza proteica, las enzimas son muy sensibles a la concentración en hidrogeniones de sus soluciones acuosas [López-Munguía, 1987]. El pH no afecta la actividad enzimática directamente sino que modifica la concentración de protones. Los protones además de alterar la estructura de la enzima y el sustrato, pueden participar también en la reacción como sustrato o producto y determinará la densidad electrónica en torno a los centros activos de la enzima. Cualquier cambio brusco de pH, puede alterar el carácter iónico de los grupos amino y carboxilo en la superficie proteica, afectando así las propiedades catalíticas de una enzima. A pH alto o bajo se puede

producir la desnaturalización de la enzima y en consecuencia su inactivación [Fennema, 2000].

Al evaluar el pH óptimo de la actividad de PPO en los extractos crudos de piel y pulpa de mango se observó un máximo a pH de 8.0 y 7.5, respectivamente [Fig. 12A]. A pH de 5 la actividad de PPO en piel fue de 10% y aumentó consecutivamente, hasta llegar al máximo a pH de 8.0, después disminuyó paulatinamente y a pH de 10 la actividad relativa fue de 60%. En pulpa no se detectó actividad de PPO a pH 5, sino fue a pH de 6.0 que se detectó actividad con un valor de 35% hasta alcanzar el máximo a 7.5. A pH de 10 sólo se detectó una actividad relativa de 20%. Al igual que la mayoría de las enzimas, la PPO mostró una disminución de la actividad enzimática cuando el pH se desplazó hacia el lado alcalino o hacia el lado ácido, probablemente debido a modificaciones en el sitio activo de la enzima, al alterarse los aminoácidos catalíticos que conforman el mismo. Según Yoruk y Marshall [2003], los cambios en actividad que varían con el valor de pH están relacionados a los cambios estructurales en la molécula de la enzima como se ha observado en rábano japonés, donde el tratamiento con ácido de la solución destruyó la estructura helicoidal para mostrar un espectro característico de estructura tipo conformación β .

Los valores de pH óptimos obtenidos se encontraron por arriba de los valores reportados por Vámos-Vigyázó [1981] de 6.5 a 7.0 para PPO de mango, por Robinson *et al.* [1993], que reportaron un pH óptimo de 5.8 en mango 'Kensington' y en mango 'Haden' se obtuvo el mismo valor [Park *et al.*, 1980]. Así también en extractos crudos de piel y almendra de mango 'nigeriano' el pH óptimo de PPO fue de 5.6-6.0 y de 6.0, respectivamente [Arogba *et al.*, 1998]. Algunos autores como Yoruk y Marshall [2003], han señalado que el pH óptimo de PPO varía en un amplio rango dependiendo de la fuente y el sustrato utilizado, pero generalmente se encuentra en el intervalo de 4.0-8.0. Para productos vegetales de origen tropical como la piña, la PPO fue más activa a pH neutros, sin embargo para kiwi la actividad máxima de PPO se encontró a pH de 8.0 utilizando catequina como sustrato y para el fruto de rosa canina (Dog-rose) presentó pH óptimo de 8.0-8.5 utilizando dopamina como sustrato [Sakiroglu *et al.*, 1996]. Esta variación puede ser debida a las diferencias en la habilidad de los sustratos para ligarse en el sitio activo bajo condiciones ácidas o alcalinas [Yoruk y Marshall, 2003].

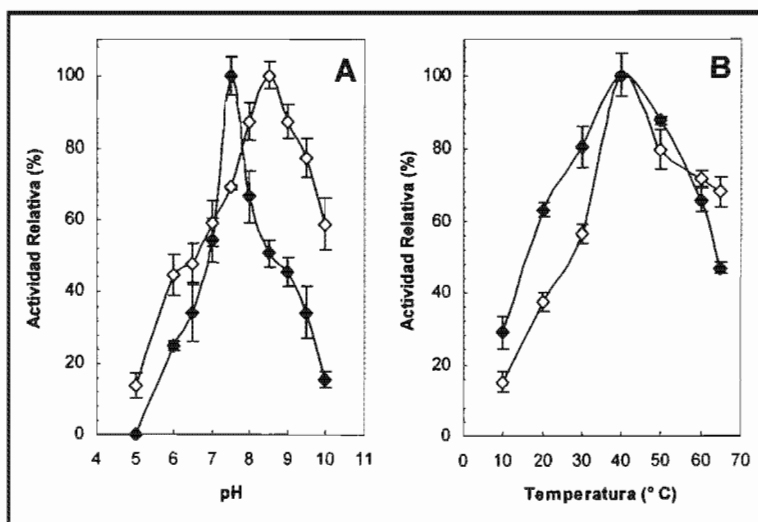


Figura 12. Efecto de pH (A) y temperatura (B) sobre la actividad relativa de Polifenol oxidasa en extractos crudos de piel (◇) y pulpa (◆) de mango 'Manila'. Cada valor representa la media de 3 réplicas. Las barras verticales representan la SD.

De la misma manera se determinó el efecto del pH sobre la actividad de POD y se encontró que en la piel y la pulpa el pH óptimo fue de 5.0 [Fig. 13A]. El comportamiento de la actividad, a excepción de este punto, fue menor en piel que en pulpa en todos los valores de pH analizados. En diferentes frutos como uva, plátano se han reportado pH óptimos de 5.4 y 4.0 [Vámos-Vigyázó, 1981]. El efecto del pH en la POD varía de acuerdo a los donadores de hidrógeno, debido a las especificidades de las isoenzimas que se encuentran en un solo vegetal. Así mismo, el pH óptimo puede variar debido a factores experimentales, como el método de extracción, temperatura, naturaleza de los substratos fenólicos y sistema tampón utilizado durante la determinación. Por lo que es difícil de extrapolar los datos obtenidos por otros métodos y utilizando otros substratos.

5.2.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA.

La temperatura es otro factor importante que tiene influencia significativa en la actividad catalítica de las enzimas, como toda reacción química, las reacciones enzimáticas se



modifican con la temperatura. Los efectos de la temperatura son muy complejos y son debidos a diversas causas (López-Munguía, 1987).

La temperatura afecta a la velocidad de catálisis, la estabilidad de la enzima, los valores del pH de grupos funcionales que intervienen en la reacción enzimática, el equilibrio de las reacciones de asociación/disociación (ionización del tampón, del sustrato, del producto), el complejo enzima-sustrato, la afinidad de la enzima hacia activadores e inhibidores, la solubilidad de los sustratos, especialmente a los gases (oxígeno) y la ionización de los grupos prototrópicos en el centro activo de la enzima. Además de que se puede producir la inactivación de la enzima (Fennema, 2000).

La temperatura de máxima actividad de PPO tanto en piel como en pulpa fue a 40° C (Fig. 12B). Sin embargo, a temperaturas menores se observó una menor actividad en piel que en pulpa, la actividad relativa a 20° C fue de 40%, mientras que en pulpa fue de 65%. Del mismo modo, a temperaturas mayores la piel presentó menor actividad. Robinson *et al.* [1993] reportaron una temperatura óptima menor en piel de mango 'Kensington' a 30° C. En níspero se reportó una temperatura óptima de 35° C (Dincer *et al.*, 2002). En los frutos de chabacano y plátano se han reportado temperaturas óptimas de 25° C y 37° C (Vámos-Vigyázó, 1981). La temperatura es otro factor importante, que influencia significativamente la actividad catalítica de las enzimas, debido a que la integridad de la delicada estructura tridimensional de la molécula de la enzima puede ser desnaturalizada a altas temperaturas. El cambio de la actividad de PPO con la temperatura puede ser atribuido a que la variación en la temperatura también puede alterar la solubilidad del oxígeno, uno de los sustratos requeridos por la PPO para llevar a cabo su actividad catalítica (Yoruk y Marshall, 2003).

Hasta ahora, la temperatura óptima de la PPO ha sido poco estudiada, pero se ha encontrado que esta propiedad depende esencialmente de los mismos factores que el pH ya que se ve afectada por el tipo de sustrato utilizado en el ensayo (Yoruk y Marshall, 2003).

La temperatura óptima de la POD en piel fue a 60° C y en pulpa a 30° C (Fig. 13B). La actividad de POD en la piel aumentó a partir de los 10° C con un valor del 60%, hasta

llegar al máximo a 60° C; después de este punto la actividad disminuyó ya que a 70° C retuvo el 70%. En pulpa inicio de manera similar y después del punto de máxima actividad [30° C] disminuyó ligeramente a 85% y se mantuvo así hasta los 60° C.

Las peroxididasas en múltiples tejidos de plantas presentan temperaturas óptimas altas, entre 30° C y 60° C, aunque la mayoría entre 50° C y 60° C [Mika y Luthje, 2003]. Las variaciones en la temperatura óptima en diferentes tejidos de mango pueden deberse a la presencia de diferentes isoenzimas y a las funciones fisiológicas, estructurales y anatómicas que dichas estructuras realizan en los frutos [Mika y Luthje, 2003].

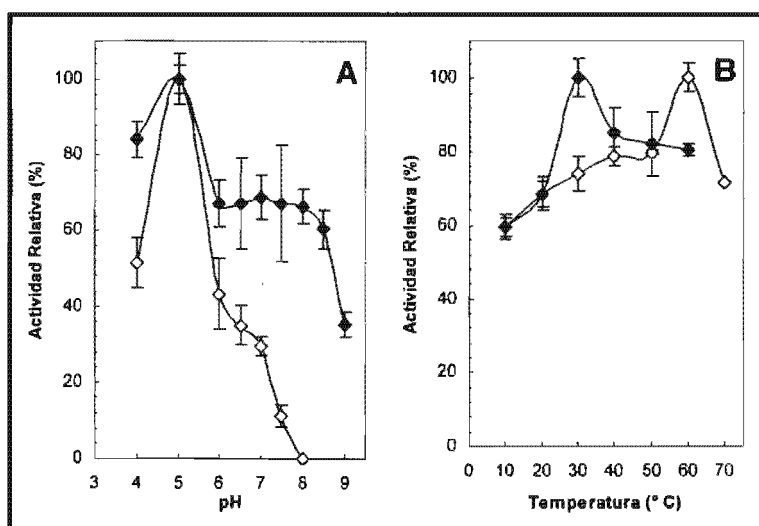


Figura 13. Efecto de pH [A] y temperatura [B] sobre la actividad relativa de Peroxidasa en extractos crudos de piel [◇] y pulpa [◆] de mango 'Manila'. Cada valor representa la media de 3 réplicas. Las barras verticales representan la SD.

5.2.3 ESTABILIDAD TÉRMICA.

El comportamiento de la estabilidad térmica de los extractos crudos de piel y pulpa se presentaron como el porcentaje de la actividad residual tanto para PPO como para POD [Fig. 14 y 15]. En estas figuras se puede observar que el tratamiento térmico causó un

decremento continuo en ambas actividades al aumentar la temperatura de 50° C a 80° C.

En la figura 14 A se muestra el efecto de la temperatura en los extractos crudos de piel de mango, se observó que a 40° C se perdió el 50% a los 32 minutos de incubación. Al aumentar la temperatura el efecto sobre la actividad fue más marcado, ya que a 80° C disminuyó cerca de un 100% de su actividad inicial. En pulpa (Fig. 14B) se observó un comportamiento similar, pero a 50° C la actividad se mantuvo ligeramente mayor, mientras que a 80° C la caída fue más drástica.

Así, la vida media en piel a 50° C fue de 32 minutos a 60° C de 23 minutos y a 80° C de 15. 5 minutos (Tabla 10). Este último resultado fue menor al obtenido en extractos de piel de mango 'Kensington' con una vida media de 35 minutos a 80° C (Robinson *et al.*, 1993). La variación de los resultados es posiblemente debido a que el tiempo de exposición y temperatura requerida para la inactivación de las enzimas depende de las diferentes fuentes.

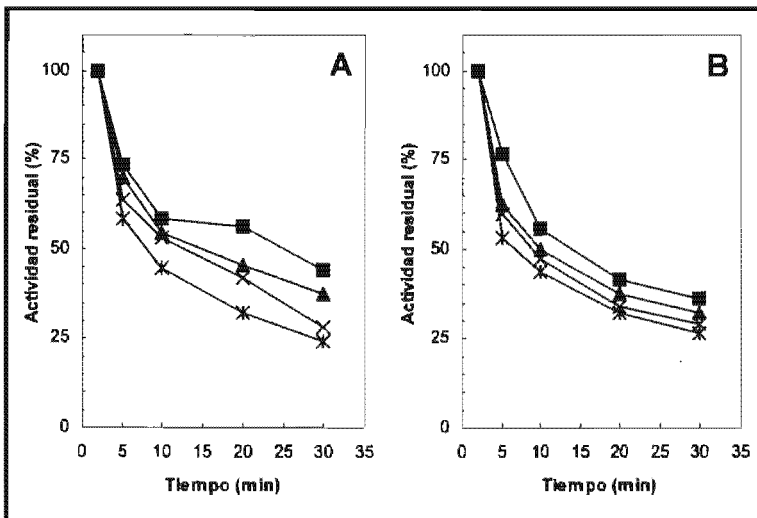


Figura 14. Efecto en de la temperatura en la estabilidad térmica de Polifenol oxidase en extractos crudos de piel [A] y pulpa [B] de mango 'Manila'. Los extractos fueron incubados a 50 (■), 60 (▲), 70 (×) y 80° C (*). Cada valor representa la media de 3 réplicas .



Tabla 10. Tiempo de vida media [minutos] de Polifenol oxidasa de extractos crudos de mango 'Manila'.

Tejido	Temperatura (° C)			
	50	60	70	80
PIEL	28.34	22.30	17.63	15.53
PULPA	20.06	19.37	17.75	17.10

La estabilidad térmica de POD de la piel fue mayor que en pulpa en las temperaturas a las que se incubaron los extractos enzimáticos. Así, la vida media en piel a 50° C fue de 31 minutos, mientras que en pulpa fue de 19 minutos, a 60° C fue de 23 minutos en piel y en pulpa de 11.6 minutos y a 80° C disminuyó a 12.5 y 6.5 minutos (Tabla 11), respectivamente [Fig. 15A y B]. Este comportamiento sugiere la presencia de isoenzimas en piel, las cuales son más estables al calor. También se observó que en piel a 50 y 60° C, la actividad no disminuyó al incubarla por periodos prolongados por lo que se puede mantener así por largos periodos de tiempos, pero a 80° C después de 30 minutos pierde el total de su actividad. En ambos casos, la desnaturalización térmica de la actividad disminuye debido al desplegamiento de la estructura terciaria de la proteína para adoptar la estructura secundaria [Dincer *et al.*, 2002].

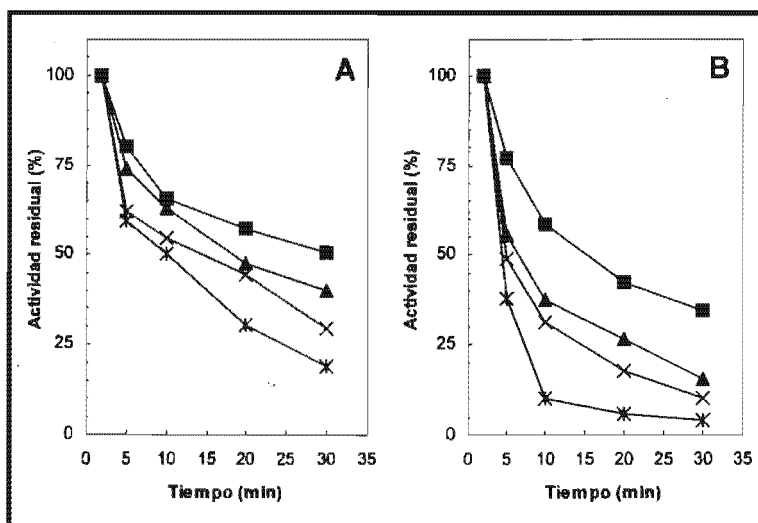


Figura 15. Efecto en de la temperatura en la estabilidad térmica de Peroxidasa en extractos crudos de piel [A] y pulpa [B] de mango 'Manila'. Los extractos fueron incubados a 50 (■), 60 (▲), 70 (×) y 80° C (*). Cada valor representa la media de 3 réplicas .



Estos resultados son mayores a los reportados por De Pieri *et al.* (2003) en extractos crudos de piel de uva con vida media de 6 minutos a 60° C. También se sabe que la peroxidasa tiene una alta estabilidad térmica, atribuida a la presencia de azúcares en su estructura. Lourenco *et al.* (1992) confirmaron que el contenido de sacarosa y sales en la reacción funcionan como agentes protectores de la POD contra la desnaturalización térmica, por lo que el contenido de estos es factor importante para la estabilidad de estas enzimas (citado por Yoruk y Marshall, 2003). Los límites de la estabilidad térmica se encontraron dentro de los establecidos para estas enzimas que según Vámos-Vigyázó (1981) es entre 80 a 90° C. Se sabe que las peroxidosas están constituidas por unidades ó fracciones que presentan diferente resistencia al calor ya que parte de su actividad se recupera cuando se almacena a temperatura ambiente y baja, por tiempo corto ó largo después de un tratamiento térmico (Vámos-Vigyázó, 1981). La prominente estabilidad de las peroxidosas a altas temperaturas ha hecho que se utilicen como un indicador en la eficacia de los tratamientos térmicos que se aplican a frutos para alargar su vida postcosecha, por lo que si se destruyen la actividad de POD también se habrán destruido muchas enzimas menos resistentes al calor (Cheftel y Cheftel, 1992).

El control del oscurecimiento enzimático en mango se puede lograr inhibiendo la actividad de PPO a través de tratamientos térmicos que inhiban a la PPO y a la POD junto con fungicidas a 52° C. Este tratamiento parece ser muy prometedor para inactivar térmicamente la PPO en frutos, ya que tanto la PPO y la POD resultaron ser relativamente termosensibles ya que se perdió cerca del 100% de su actividad en la piel a 80° C en 30 minutos de incubación, sin embargo se debe de evaluar otros parámetros para considerar el tiempo y temperaturas que se deben de aplicar ya que pudiera presentarse algún tipo de daño en el fruto, lo cual restaría calidad en el fruto (Robinson *et al.*, 1993).

Tabla 11. Tiempo de vida media [minutos] de Peroxidasa de extractos crudos de mango 'Manila'.

Tejido	Temperatura (° C)			
	50	60	70	80
PIEL	31.39	22.95	18.71	12.79
PULPA	19.05	11.59	9.36	6.51

5.2.4 EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO.

La concentración del sustrato afecta, también a la velocidad de la reacción enzima-sustrato, ordinariamente se duplica la velocidad de formación de productos finales. Se llega finalmente a un punto en el que la enzima esta saturada con sustrato. Cuando se llega a este punto, la concentración del sustrato ya no influye sobre la velocidad de formación de productos finales [López-Munguía, 1987; Fennema, 2000].

La PPO de extractos crudos de piel y pulpa presentó actividad con dopamina y catecol, pero no presentó actividad utilizando ácido cafeico [Tabla 12]. En diferentes variedades de mango se ha reportado que la PPO presenta actividad en 4-metil catecol, ácido cafeico, catecol (+), ácido cloragénico, DL-arterenol-HCl, DL-DOPA, *p*-cresol, Tiramina-HCl, L-tirosina, DL-tirosina [Vámos-Vigyázó, 1981]. En ambos tejidos, la actividad de PPO presentó un valor de K_m aparente mayor en catecol que en dopamina, lo que significa que las enzimas tienen una afinidad mayor por la dopamina. Al comparar las velocidades en estos sustratos, se observó que en pulpa la actividad de PPO fue más activa, primero por la dopamina y después por el catecol con valores de 1.432 mM y 1.368 mM, respectivamente.

Por los resultados que se obtuvieron se puede mencionar que las enzimas con actividad de PPO en la piel pueden diferir en cantidad y en tipo con respecto a las que se encuentran en la pulpa. Por otro lado, la especificidad es un diagnóstico para determinar el tipo de actividad de PPO presente en los tejidos que se analizaron. Debido a que la dopamina y el catecol son *orto*-difenoles la actividad en los sustratos que se analizaron posee actividad de catecol oxidasa [Robinson *et al.*, 1993]. En mango variedad 'Haden' se evaluó la actividad de PPO contra compuestos *orto*-diofenoles y mostró alta actividad en presencia de catecol y ácido clorogénico [Park *et al.*, 1980]. Por lo que, los valores de K_m y $V_{máx}$ para la actividad de PPO varían de acuerdo al tipo de sustrato, origen del fruto y pureza del extracto. También todos estos resultados reflejan la gran variabilidad que manifiesta la enzima polifenol oxidasa en relación con su afinidad por el sustrato.

Tabla 12. Actividad y Parámetros Cinéticos sobre diferentes sustratos de la Polifenoloxidasa de piel y pulpa de mango 'Manila'.

Sustrato	PIEL		PULPA	
	Km [mM]	V _{máx} (mM/ΔA ₄₂₀ ·min ⁻¹ mg prot ⁻¹)	Km [mM]	V _{máx} (mM/ΔA ₄₂₀ ·min ⁻¹ mg prot ⁻¹)
Dopamina	0.477	0.00179	0.801	0.014
Catecol	1.469	0.00376	13.61	0.0136
Ácido cafeico	ND*	ND*	ND*	ND*

Cada valor representa la media de 3 réplicas .

*ND: No se detectó

En la tabla 13 se muestra la actividad de POD de los extractos crudos de piel y pulpa de mango sobre varios monofenoles. Los cuales actúan como donadores de hidrógeno. La constante de Km aparente de la *p*-fenilendiamina fue mayor en piel que en pulpa. La actividad de POD presentó mayor afinidad en pulpa que en piel contra la *p*-fenilendiamina. En guaiacol, afinidad mayor fue en pulpa. Al comparar las velocidades en estos sustratos se observó que fue más activa contra *p*-fenilendiamina en pulpa que en piel.

La afinidad de la POD depende no solamente de tipo de fruto y como ha sido extraído la muestra enzimática, sino del tejido. Además la afinidad hacia un sustrato puede variar en un amplio rango debido a factores estéricos estructurales [De Pieri *et al.*, 2003].

Tabla 13. Actividad y Parámetros Cinéticos sobre diferentes sustratos de la Peroxidasa de piel y pulpa de mango 'Manila'.

Sustrato	PIEL		PULPA	
	Km [mM]	V _{máx} (mM/ΔA ₄₂₀ ·min ⁻¹ mg prot ⁻¹)	Km [mM]	V _{máx} (mM/ΔA ₄₂₀ ·min ⁻¹ mg prot ⁻¹)
<i>p</i> -fenilendiamina	16.37	0.0131	7.41	0.0874
Guaiacol	16.49	0.000338	25.72	0.0522
Resorcinol	ND*	ND*	ND*	ND*

Cada valor representa la media de 3 réplicas .

*ND: No se detectó



5.3 CONTENIDO DE FENOLES TOTALES.

Los compuestos fenólicos que son sustratos de PPO y POD se encuentran en la vacuola lejos de las enzimas, sin embargo cuando se presenta cualquier daño mecánico o fisiológico (daño por frío), estos se ponen en contacto entre sí (Frylinck *et al.*, 1987).

En general, en la piel del mango se encontró presente mayor cantidad de compuestos fenólicos [Fig. 16], la concentración de estos es casi 100 veces mayor que en la pulpa [Fig. 17]. Mitra y Baldwin (1997) reportaron resultados similares, lo que relaciona la principal función de la piel en el fruto, brindar protección con la que se cree es la función biológica de los compuestos fenólicos en plantas, dar resistencia a enfermedades (Saby *et al.*, 2003), por lo que es lógico que se presenten valores más altos en la concentración de fenoles en piel.

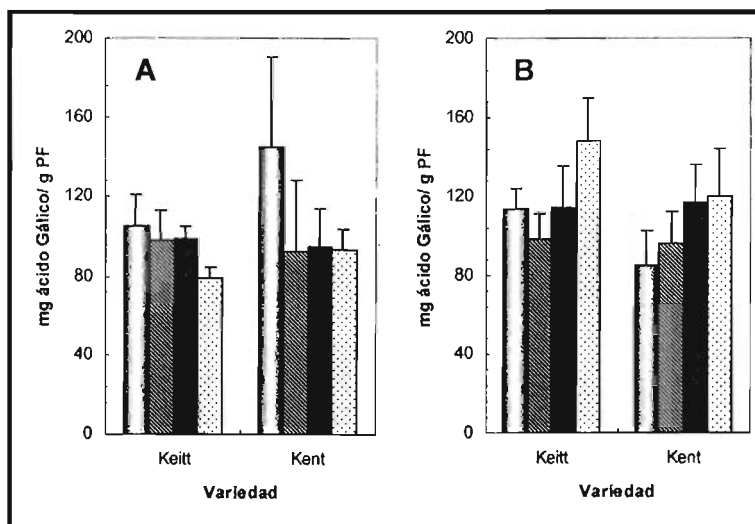


Figura 16. Cambios en el contenido de fenoles totales en la piel de diferentes variedades de mangos almacenados a 20° C [A] y 5° C [B] durante 4 estadios de maduración: E₁= preclimaterio (□), E₂= inicio climaterio (▨), E₃= máximo climaterio (■) y E₄= Postclimaterio (▩). Cada valor representa la media ± SD de 2 réplicas de dos experimentos separados (12 frutos).

En cuanto a los cambios en la concentración de fenoles en frutos madurados a 20° C, en la piel (Fig. 16 A) no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre las

diferentes variedades, únicamente en el preclimaterio, en que la variedad 'Kent' mostró una concentración más alta, alrededor del 28% mayor que en la variedad 'Keitt', además se observó que conforme avanzaba la maduración de los frutos disminuyó la concentración de estos. En pulpa [Fig. 16 B] se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre las variedades desde el preclimaterio hasta el máximo climaterio, sin embargo en el postclimaterio no. El contenido de fenoles totales en las pulpas al igual que la piel, disminuyó en ambas variedades, con el avance de la maduración, pero fue más evidente en la pulpa, debido probablemente a que la pérdida de la astringencia en el transcurso de la maduración esta asociada con la degradación de compuestos fenólicos [Selvaraj y Kumar, 1989]. Los mangos de la variedad 'Kent' presentaron concentraciones de fenoles más altas en la pulpa que los de la variedad 'Keitt', durante los 3 primeros estadios alrededor del 50% más.

Los mangos que fueron expuestos a bajas temperaturas (5° C), en piel y pulpa [Fig. 16 B y 17 B] mostraron una tendencia diferente ya que conforme avanzó la maduración de los frutos, el contenido de fenoles totales, fue aumentando contrariamente a lo que sucedió en mangos almacenados a 20° C, sin embargo en la piel, no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre las variedades, pero la concentración de los fenoles totales para la variedad 'Keitt' fue más alta que en la variedad 'Kent', sin embargo en la pulpa la variedad que presentó una concentración mayor fue la 'Kent', lo que probablemente este relacionado con el pardeamiento que presenta esta variedad en la pulpa de los frutos que fueron expuestos a 5° C.

En relación al contenido de fenoles en frutos almacenados a baja temperatura (5° C) con respecto al grupo control (20° C), en la piel se encontró que existe un efecto de la temperatura sobre el contenido de fenoles totales. La variedad 'Kent' presentó un valor más bajo en el preclimaterio, que aumenta posteriormente en los últimos estadios. La variedad 'Keitt' presentó un aumento ligero desde el preclimaterio hasta el final de la maduración, en el postclimaterio se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para ambas variedades. En ambas variedades el incremento en el contenido de fenoles totales por efecto de la temperatura de almacenamiento fue desde el preclimaterio hasta el máximo climaterio menor al 20%, incrementándose hasta en un 45% para la

variedad 'Keitt', no así para la variedad 'Kent' en la que el aumento registrado fue del 23%.

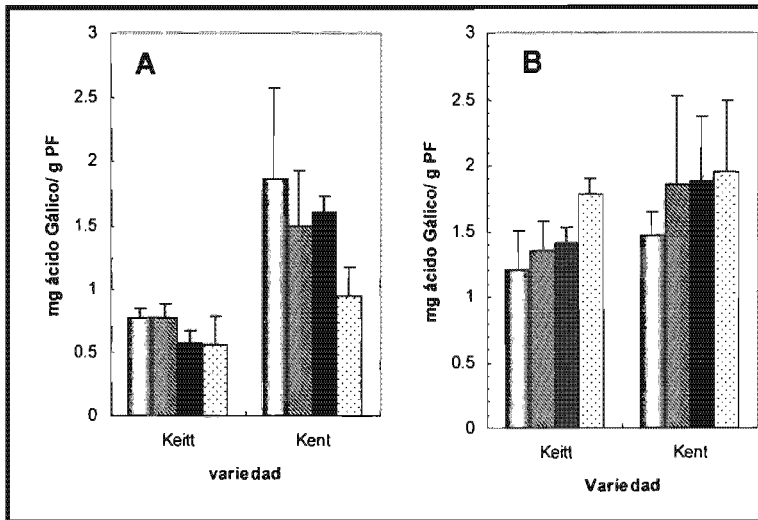


Figura 17. Cambios en el contenido de fenoles totales en pulpa de diferentes variedades de mangos almacenados a 20° C (A) y 5° C (B) durante 4 estadios de maduración: E₁= preclimaterio (—), E₂= inicio climaterio (ss), E₃= máximo climaterio (■) y E₄= Postclimaterio (□). Cada valor representa la media ± SD de 2 réplicas de dos experimentos separados (12 frutos).

En la pulpa también se encontró un efecto por la temperatura de almacenamiento sobre la concentración de fenoles en todas las variedades. La variedad 'Keitt' presentó una concentración de fenoles totales de aproximadamente un 40% más altas que a 20° C en el preclimaterio y el inicio del climaterio, posteriormente en el máximo climaterio y el postclimaterio el aumento fue de alrededor del 60%, pero para la variedad 'Kent' en los primeros estadios el aumento fue menor al 20%, sin embargo en el postclimaterio se incrementaron en más del 50% que coincide cuando esta variedad, presentó con mayor severidad los síntomas de daño por frío en la pulpa como se observa en la figura 18.

Comparando las dos temperaturas de almacenamiento se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre la pulpa de las dos variedades, para la variedad 'Keitt' en el preclimaterio, máximo climaterio y postclimaterio, sin embargo para la variedad 'Kent' solamente en el inicio del climaterio y posclimaterio.



Existen diversos reportes de la acumulación de compuestos fenólicos cuando los tejidos son sometidos a estrés [Frylinck *et al.*, 1987]. Tomás-Barberán y Espín [2001] reportaron que en especies sensibles al frío almacenadas a temperaturas por debajo de su temperatura crítica, se causa daño por frío, en este proceso los compuestos fenólicos se incrementan, promoviendo el desarrollo del pardeamiento. Wang [1982] reporta que como respuesta al estrés producido por las bajas temperaturas, se acumulan ácido cloragénico y polifenoles que dan como resultado el incremento de la decoloración de tejidos. Por otro lado, Shivashankara *et al.* (2004) reportaron que la duración del almacenamiento a bajas temperaturas afecta el contenido de fenoles totales en mango y que el contenido de fenoles presenta un incremento después de después de 30 días de almacenamiento a 5° C.

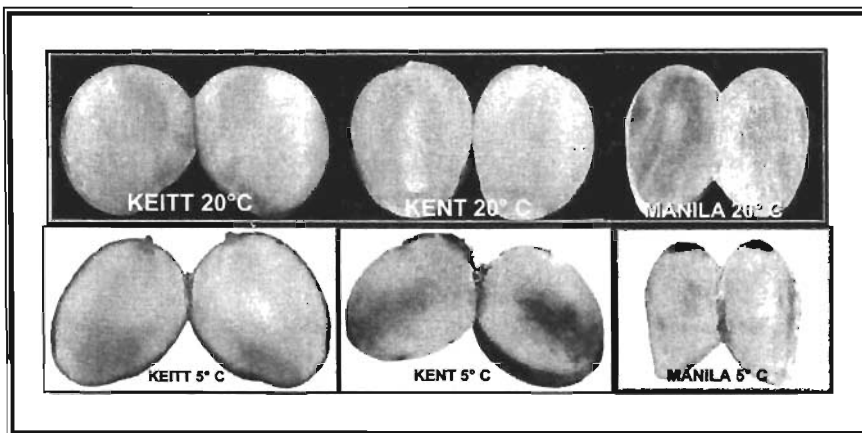


Figura 18. Aspecto de la pulpa de diferentes variedades de mangos almacenados a 20° C (Arriba) y 5° C durante 25 días y después transferidos a 20° C (Abajo) hasta su maduración.

5.4 ÍNDICE DE DAÑO POR FRÍO.

Los síntomas visibles de daño por frío, no se hacen evidentes inmediatamente después de que son expuestos a las temperaturas que los ocasionan, sin embargo, se vuelven evidentes de modo creciente después de transferir los frutos a temperaturas normales [Saltveit y Morris, 1990; Wang, 1982].

Existe una cantidad de síntomas visuales que se desarrollan generalmente, además de que son característicos y ocasionados por la exposición a bajas temperaturas. Los síntomas que se presentan en el mango y que han sido reportado por diversos autores son: superficie picada [González-Aguilar *et al.*, 2001a] áreas con picado superpuestas en las áreas con ligero pardeamiento las cuales se vuelven más extensas cuando los frutos son transferidos a temperaturas de 20° C [Mohammed y Brecht, 2002; McCollum *et al.*, 1993] aparición de manchas en la piel y oscurecimiento de tejidos, pérdida de la maduración normal, pérdida de sabor después de sacarlos del almacenamiento a bajas temperaturas [Chhatpar *et al.*, 1971] color más apagado, necrosis epidérmica, algunas áreas verdes y pobre desarrollo de sabor [Kane *et al.*, 1982], inhibición de la maduración o se acelera la senescencia [González-Aguilar *et al.*, 2001a]. Todos estos síntomas son considerados típicamente como daño por frío.

En el presente trabajo los mangos fueron almacenados por 25 días a 5° C y los síntomas de daño por frío, se desarrollaron después de que los mangos de todas las variedades, fueron transferidos a 20° C para continuar con su maduración (Fig. 19, 20 y 21). La variedad 'Keitt' presentó indicios de daño por frío después de 18 días de almacenamiento a 5° C, mientras que las variedades 'Kent' y 'Manila' empezaron a presentar los síntomas hasta que fueron transferidos a 20° C.

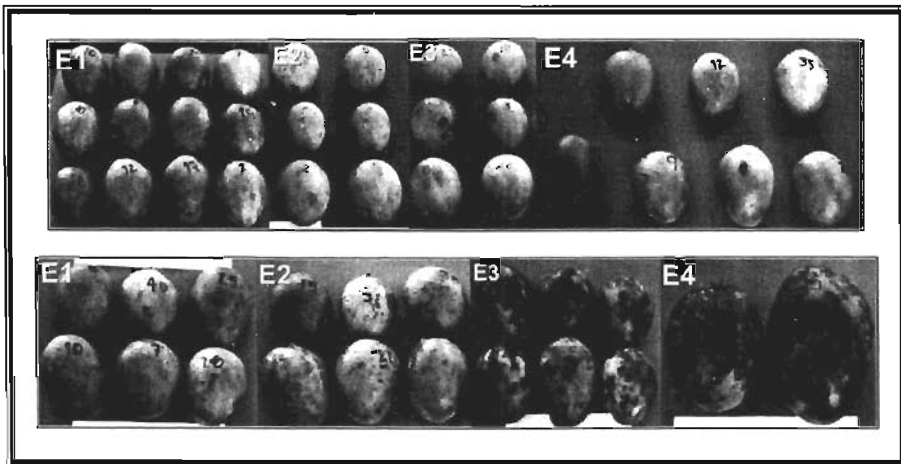


Figura 19. Cambios de coloración externa de mangos 'Keitt' almacenados a 20° C (Arriba) y 5° C durante 25 días y después transferidos a 20° C (Abajo) en diferentes estadios del proceso de maduración (E₁ =preclimaterio; E₂ = inicio del climaterio; E₃ = máximo climaterio y E₄ =postclimaterio).

Para medir los síntomas visibles de daño por frío se utilizó el índice de daño por frío (IDF), el cual nos mostró que los síntomas se manifestaron con menor intensidad durante el preclimaterio en la variedad 'Manila' (IDF = 0), seguida de la variedad 'Kent' la cual presentó un IDF = 0.22, sin embargo en la variedad 'Keitt' los síntomas se manifestaron con mayor intensidad (IDF = 1.2), por lo que en el preclimaterio se encontró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el IDF de la variedad 'Keitt' con respecto a las otras dos variedades (Tabla 14). En el inicio del climaterio se encontró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre todas las variedades, sin embargo en los siguientes estadios no se encontraron diferencias entre las variedades 'Keitt' y 'Kent' pero si con la variedad 'Manila', que fue la que presentó menor severidad en los síntomas de daño por frío al final de la maduración.

Tabla 14. Índice de daño por frío de mangos de diferentes variedades almacenados 25 días a 5° C y transferidos a 20° C para continuar con su maduración.

ESTADIO	KEITT	KENT	MANILA
E ₁	1.20 ± 0.28 a	0.22 ± 0.31 b	0.00 ± 0.00 b
E ₂	2.05 ± 0.07 a	1.18 ± 0.25 b	0.65 ± 0.04 c
E ₃	2.56 ± 0.09 a	2.51 ± 0.34 a	1.05 ± 0.00 b
E ₄	2.80 ± 0.00 a	2.90 ± 0.00 a	1.25 ± 0.00 b

Cada valor representa la media de 2 réplicas (12 frutos por réplica). Valores seguidos de letras diferentes en cada fila indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

La variedad 'Keitt' presentó con mayor intensidad los síntomas del daño por frío hacia el final de la maduración (Fig. 19), al igual que la variedad 'Kent', ambas variedades presentaron daño severo (IDF ≈ 3) en el postclimaterio, sin embargo la variedad 'Manila' (Fig. 21) presentó solo daño ligero en el postclimaterio (IDF = 1.25) a pesar de que fue una de las variedades más vulnerable al ataque por microorganismos al igual que la variedad 'Kent' (Fig. 20), lo que coincide con lo reportado por González-Aguilar *et al.* (2001b) en trabajos con mangos 'Kent' almacenados a 5° C, los cuales fueron más susceptibles al decaimiento y al ataque por patógenos; haciéndose más evidente hacia el final de la maduración.



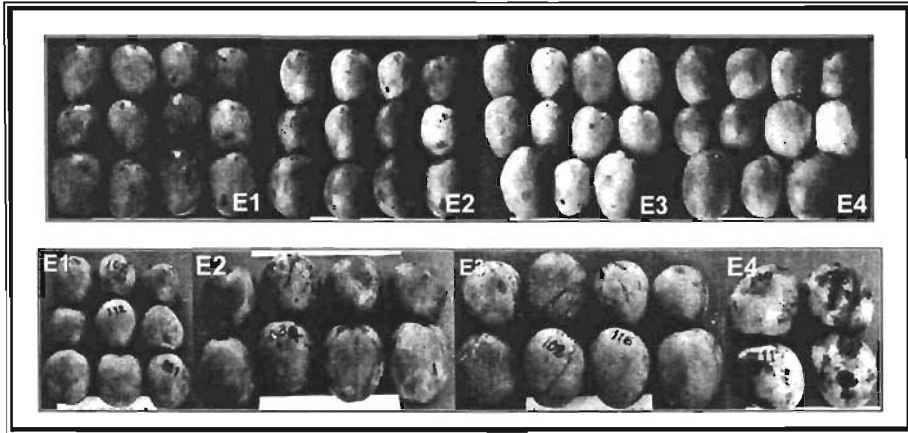


Figura 20. Cambios de coloración externa de mangos 'Kent' almacenados a 20° C (Arriba) y 5° C durante 25 días y transferidos a 20° C (Abajo) durante diferentes estadios del proceso de maduración (E₁ =preclimaterio; E₂ = inicio del climaterio; E₃ = máximo climaterio y E₄ =postclimaterio).



Figura 21. Cambios de color externa de mangos 'Manila' almacenados a 20° C (Arriba) y 5° C durante 25 días y después transferidos a 20° C (Abajo) durante diferentes estadios del proceso de maduración (E₁ =preclimaterio; E₂ = inicio del climaterio; E₃ = máximo climaterio y E₄ =postclimaterio).

Dentro de los síntomas que presentaron las diferentes variedades el más notorio fue la aparición de extensas manchas pardas (Tabla 15) y el picado en la piel del fruto. En la variedad 'Keitt' se presentó con mayor intensidad el daño en la piel, sin detectarse daño aparente en la pulpa (Fig. 20), mientras que en la variedad 'Kent', los síntomas de daño no se hicieron muy evidentes en la piel hasta el final de su proceso de maduración, sin embargo se presentaron síntomas de daño por frío en la pulpa manifestándose por un oscurecimiento (Fig. 18). Chhatpar *et al.* (1971) reportaron que los síntomas de daño por frío aparecen más rápidamente en la piel que en la pulpa debido a diferentes cambios en su composición bioquímica .

Tabla 15. Principales síntomas de daño por frío en mangos de diferentes variedades almacenados durante 25 días a 5° C, y transferidos a 20° C para continuar con su maduración.

Variedad	Estadio de maduración	Síntomas
Keitt	E ₁	Textura dura, ligero picado.
	E ₂	Picado, manchas grises decoloradas con bordes negros.
	E ₃	Textura dura, 50% superficie cubierta por manchas pardas.
	E ₄	80% superficie cubierta por manchas pardas extensas.
Kent	E ₁	Coloración opaca.
	E ₂	Estrías de color pardo en gran parte de la piel, ligero picado.
	E ₃	Maduración irregular.
Manila	E ₁	Sin daño.
	E ₂	Textura dura, muy ligero picado.
	E ₃	Coloración opaca y grisácea, ligeras estrías de color pardo.
	E ₄	Pudrición por microorganismos.

E₁= Preclimaterio; E₂= Inicio climaterio; E₃= Máximo climaterio y E₄= Postclimaterio.

Los resultados obtenidos indicaron que uno de los factores que afectan el grado del daño por frío para el caso del mango fue la variedad del fruto. Sin embargo antes de

concluir tendrían que verificarse otros cambios de composición que ocurren durante el desarrollo de los síntomas de daño por frío.

5.5 CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE POLIFENOL OXIDASA Y PEROXIDASA.

5.5.1 Cambios en la Actividad de PPO.

La actividad de PPO en la piel de frutos madurados a 20° C, presentó diferencias significativas [$P \leq 0.05$] en todas las variedades durante el preclimaterio [E₁]. La variedad 'Manila' mostró una actividad de PPO en piel superior en todos los estadios con respecto a las otras variedades (Fig. 22 A). La actividad de PPO aumentó en todas las variedades desde el preclimaterio hasta el climaterio y descendió ligeramente cuando alcanzó el máximo climaterio pero aumentó nuevamente en el postclimaterio.

En la pulpa la actividad de PPO aumentó conforme avanzó la maduración del fruto, llegando a su máximo en el postclimaterio [E₂] en donde la variedad 'Manila' presentó niveles cerca de un 28 % mayores con respecto a la variedad 'Keitt' y un 61% respecto a la variedad 'Kent'. Estos cambios se presentan debido a que se cree que en las primeras etapas de maduración del fruto la presencia de ácido cítrico inhibe la actividad de PPO, conforme avanza la maduración el contenido de este disminuye con lo cual la actividad de PPO aumenta [Vela *et al.*, 2003]. Sin embargo, el aumento de la actividad de PPO posiblemente se deba a la solubilización de las membranas que sucede de manera natural cuando el fruto madura y facilita el contacto de PPO con los sustratos fenólicos presentes en el fruto [Frylinck *et al.*, 1987].

Resultados similares fueron obtenidos en estudios con otras variedades de mango. Selvaraj y Kumar (1989) reportaron que la actividad de PPO se incrementó desde la cosecha hasta el inicio del climaterio y posteriormente la actividad decae hasta el postclimaterio para algunas variedades de mango, sin embargo para otras la actividad de PPO desciende desde la cosecha hasta la maduración del fruto. Vela *et al.* (2003) reportaron que la actividad de PPO en mango muestra grandes diferencias entre las enzimas extraídas de la piel y pulpa.

comparación con mangos que fueron madurados a 20° C, en el caso de la variedad 'Kent' la actividad de PPO permanece constante, sin embargo para la variedad 'Manila' la actividad de PPO disminuye drásticamente desde 50% hasta 90% durante los diferentes estadios. Al comparar el valor de índice de daño por frío [Tabla 16] con la actividad de PPO se puede decir que esta actividad está relacionada con el desarrollo de los síntomas de pardeamiento en los mangos de diferentes variedades ya que la variedad 'Keitt' presentó con mayor severidad el pardeamiento en la piel, durante todos los estadios de maduración, mientras que la variedad 'Manila' presentó con menor intensidad los síntomas de daño por frío. Vela *et al.* [2003] reportaron que la correlación entre la aparición de los síntomas de daño por frío en la piel de mango y el incremento de la actividad de PPO fue directa. Esta correlación demostró que los mangos sometidos a estrés por frío presentaron más pardeamiento debido a que se incrementó la actividad de PPO. Sin embargo no ha sido observada ninguna correlación entre la aparición del daño por frío y la actividad de PPO y POD en diversas variedades de naranja o mandarina [Martínez-Télez *et al.*, 1997].

En cuanto a la actividad de PPO en pulpa también se encontró un efecto por la temperatura de almacenamiento a lo largo de la maduración en las diferentes variedades de mango. Los cambios en las variedades 'Keitt' y 'Kent' son muy similares ya que la actividad de PPO se incrementó aproximadamente ocho veces en los dos primeros estadios y en los siguientes estadios se incrementó la actividad pero ya con menor intensidad hasta casi dos veces su valor con respecto al grupo control (20° C). La variedad 'Manila', por el contrario en los dos primeros estadios no hay cambio alguno, sin embargo en los dos últimos estadios se observó un aumento de hasta 3 veces en el máximo climaterio y el 60% en el postclimaterio. Los cambios de actividad de PPO, aparentemente implicaron una respuesta a la condición de estrés, la conversión de específicas formas de PPO a otras más solubles ocurre después de la exposición a condiciones de estrés del fruto [Frylinck *et al.*, 1987]. De manera similar, Vela *et al.* [2003] reportaron que la exposición de los frutos a estrés por frío causa ruptura en la estructura celular incrementando la solubilización de la PPO y facilitando su contacto con los sustratos fenólicos. Lo que concuerda con Wang [1982], el cual expone que las membranas tilacoides de los cloroplastos muestran una descompartimentación cuando

los frutos son sometidos a estrés por frío que puede relacionarse con la libre interacción de la PPO con estos sustratos lo que lleva al pardeamiento de los tejidos.

5.5.2 Cambios en la Actividad de POD.

Al evaluar las actividades de POD en la piel de mangos madurados a 20° C se encontró un efecto por la variedad y por el estadio de maduración (Fig. 23 A). En la variedad 'Manila' y 'Kent' la actividad de POD aumentó conforme avanzaba la maduración, alcanzando su máxima actividad durante el postclimaterio, curiosamente en la variedad 'Keitt' se observó contrariamente un descenso en la actividad de POD hasta el máximo climaterio (E₃), aumentando en el postclimaterio (E₄). En la pulpa (Fig. 23 C) para la variedad 'Keitt' la actividad permaneció constante en todos los estadios de maduración lo mismo que ocurre con la variedad 'Kent' únicamente que para esta se registró un ligero aumento en el postclimaterio (E₄). Para la variedad 'Manila' se mostró un aumento conforma avanza la maduración de los frutos. Estos datos resultan muy interesantes debido a que según el comportamiento general de la actividad de POD que progresa conforme al envejecimiento de las células y que aumenta conforme a la maduración normal de frutos de mango [Frylinck *et al.*, 1987].

En piel, la temperatura de almacenamiento provocó un efecto en las actividades de POD de los frutos de las diferentes variedades (Fig. 23 A y B). En la variedad 'Manila' la actividad de POD a 5° C en comparación con los frutos almacenados a 20° C, descendió en todos los estadios de maduración. En la variedad 'Kent' y 'Keitt' la actividad permaneció constante aunque se presentaron ligeros aumentos de actividad en los dos últimos estadios. En pulpa (Fig. 23 C y D) de mangos almacenados a 5° C de la variedad 'Keitt' la actividad aumentó en el preclimaterio aproximadamente en un 150% con respecto al grupo control (20° C), posteriormente aumentó en el máximo climaterio para permanecer constante en el postclimaterio. En la variedad 'Kent' se mantuvo sin cambio alguno en los primeros tres estadios, sin embargo en el postclimaterio (E₄) aumentó hasta en un 180% debido posiblemente a que en este estadio se presentó pudrición de algunas partes de los frutos. La variedad 'Manila' presentó niveles de actividad que permanecieron sin cambios aparentes a lo largo de la maduración. Se puede suponer que el aumento en la actividad de POD en frutos con los daños por frío

podría estar relacionado con la eliminación de peróxido y a que la producción de este se incrementa en la célula cuando es sometida a condiciones de estrés [Frylinck *et al.*, 1987].

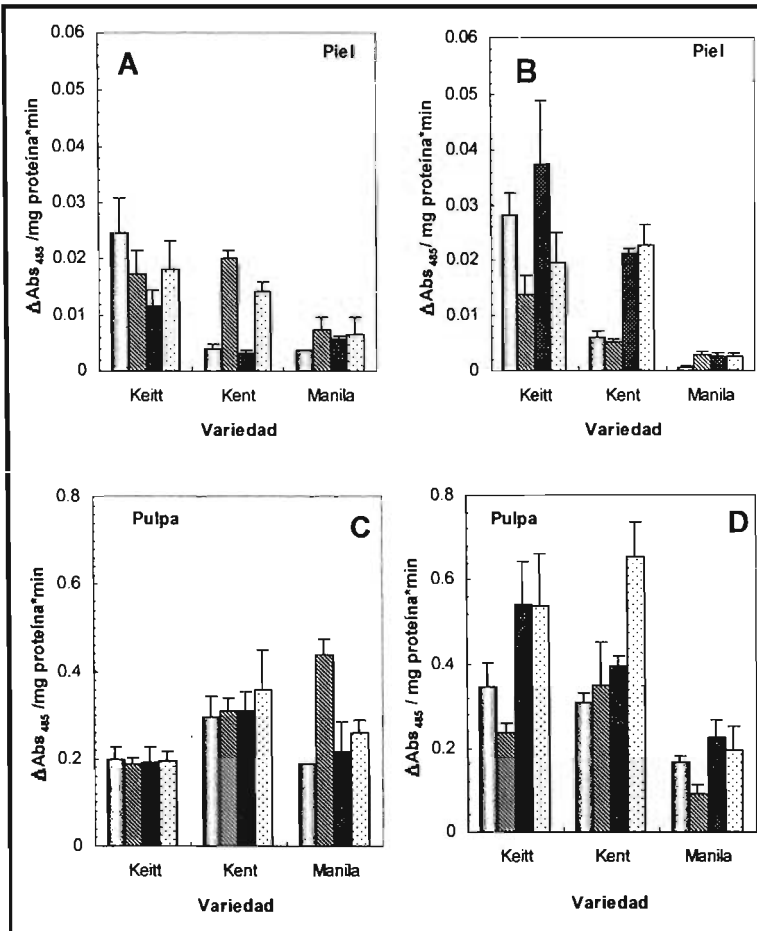


Figura 23. Cambios en la actividad de Peroxidasa durante cuatro etapas de maduraci\u00f3n (E₁= Preclimaterio; E₂= inicio climaterio; E₃= M\u00e1ximo climaterio; E₄= Postclimaterio) en piel y pulpa de mangos almacenados a 20\u00b0 C (A y C) y bajas temperaturas 5\u00b0 C (B y D). Cada valor es el promedio de tres r\u00e9plicas, las barras verticales representan la SD.

Zauberman *et al.* [1988] reportaron que para mangos con da\u00f1os por fr\u00edo la actividad de POD aument\u00f3 con la maduraci\u00f3n del fruto, pero en mangos almacenados a 5\u00b0 C present\u00f3 bajos niveles de actividad hasta que son visibles los s\u00edntomas de da\u00f1o por fr\u00edo y



posteriormente la actividad de POD se incrementó considerablemente, también reportaron que después de transferir los frutos a 20° C fueron alcanzados niveles mucho más altos en la piel de frutos dañados por frío que en los que se maduraron normalmente a 20° C. Sin embargo, la actividad de POD en plátanos con daño por frío descendió en comparación con plátanos madurados a una temperatura de 28° C (Toraskar y Modi, 1984).

La POD es una enzima que factores tales como estrés fisiológico, heridas y infección por hongos o virus provocan cambios en su actividad (Frylinck *et al.*, 1987). Aunque su papel dentro del pardeamiento enzimático todavía se encuentra bajo discusión debido a que los niveles de disposición de peróxido de hidrógeno en los tejidos limita la actividad de la peroxidasa (Tomás-Barberán y Espín, 2001). Richard-Forget (1997) han propuesto que la PPO pudiera actuar como promotor de la POD, debido a que durante la oxidación de compuestos fenólicos por la acción de PPO se genera peróxido de hidrógeno, sin embargo la principal responsable del pardeamiento enzimático en frutas y vegetales es la PPO, aunque un posible efecto sinérgico entre PPO y POD no debe ser descartado.

5.6 Relación de la actividad de PPO y POD, contenido de compuestos fenólicos y los síntomas desarrollados de daño por frío.

Los compuestos fenólicos y la polifenol oxidasa son generalmente los responsables directos del pardeamiento enzimático en frutos durante el manejo postcosecha y su procesamiento. El grado de pardeamiento también es diferente en cada fruto dependiendo de la variedad, esta variación es debida a la diferencia de contenido en compuestos fenólicos y la actividad de PPO (Lee *et al.*, 1990).

De acuerdo a los resultados del apartado 5.5.1, la actividad de Polifenol oxidasa varía ampliamente entre las diferentes variedades de mangos. Dentro de las cuales la variedad 'Manila' presentó una alta actividad a 20° C, pero después de estar expuestos a bajas temperaturas, la variedad 'Keitt' presentó una actividad más alta (Fig. 22). También fue observado que el índice de daño por frío esta correlacionado con la actividad de Polifenol oxidasa, ya que mangos con alta actividad de PPO como el caso de la variedad 'Keitt', mostraron un alto índice de daño por frío, recíprocamente la variedad

'Manila' muestra un bajo índice de daño por frío con una actividad de polifenol oxidasa más baja. A pesar de esto, se observó que el IDF está estrechamente relacionado con la actividad de PPO y POD en mangos 'Kent', $r = 0.937$ y $r = 0.934$ respectivamente, mientras que en la variedad 'Keitt' la correlación resultó más baja ($r = 0.648$), no encontrándose para estos correlación alguna con la actividad de POD, en contraste en mangos 'Manila' se encontró una alta correlación de $r = 0.9$, y $r = 0.868$ para cada una de las actividades enzimáticas.

Una relación similar fue observada entre el contenido de fenoles en piel y los cambios en la actividad de PPO y POD; en la variedad 'Kent' se encontró una alta correlación de $r = 0.957$ y $r = 0.954$ respectivamente, mientras que en mangos 'Keitt' se encontró solamente una alta correlación con la actividad de PPO ($r = 0.876$). Cuando el índice de daño por frío fue relacionado con el contenido de fenoles en la piel se observó correlación en mangos 'Kent' ($r = 0.997$).

En pulpa se encontró para mangos 'Keitt' alta correlación entre el contenido de fenoles y la actividad de PPO ($r = 0.838$) siendo más baja para POD ($r = 0.645$), para mangos 'Kent' no se encontró una correlación entre el contenido de fenoles y la actividad de PPO ($r = 0.469$) y POD ($r = 0.662$).

Los resultados obtenidos indicaron que uno de los factores que afectó el grado del daño por frío para el caso del mango es la variedad del fruto, además de que la aparición de las manchas oscuras en la piel de los mangos como síntomas de daño por frío son debidos principalmente a la acción de la PPO sobre los compuestos fenólicos que se incrementaron en concentración como respuesta al estrés por las bajas temperaturas. Selvaraj y Kumar [1989] reportaron que existe diferentes niveles de actividad de polifenol oxidasa y esta varía de acuerdo con la variedad. Esto se debe probablemente al hecho de que cada variedad de mango cuando madura presenta características que le distinguen como la textura, color y el sabor. Sin embargo antes de concluir tendrían que verificarse otros cambios de composición que ocurren durante el desarrollo de los síntomas de daño por frío.

5.7 Efecto de la temperatura de almacenamiento en la calidad de mangos durante la maduración de tres variedades cultivadas en México.

Durante la maduración, la mayoría de los frutos sufren muchos cambios físicos y químicos, los cuales determinan la calidad de estos. Por lo que la evaluación de los parámetros de calidad durante la postcosecha es importante, para la determinación de la maduración del fruto. Además los componentes de calidad son los más importantes para evaluar la aceptación del fruto durante su almacenamiento y comercio. Las características de calidad de los mangos están estrechamente relacionados con el efecto del almacenamiento durante la maduración y el desarrollo de estos parámetros [Medicott y Thompson, 1985].

A continuación se discute el efecto que tiene la temperatura de almacenamiento y el desarrollo de los síntomas de daño por frío en los parámetros de calidad de las tres variedades de mangos estudiadas.

5.7.1 Parámetros fisiológicos.

5.7.1.1 Respiración.

La evaluación de la respiración en el mango es importante debido a que el mango es un fruto climatérico y este parámetro está relacionado con el tiempo de vida útil de los frutos climatéricos, además la respiración también se ve afectada por la temperatura de almacenamiento y el desarrollo de los síntomas de daño por frío. Durante la maduración de los mangos existe un aumento en la cantidad de etileno producido. Este aumento usualmente es acompañado por un aumento en la tasa de respiración de la fruta (un fenómeno llamado el climaterio). La tasa de respiración y de producción de etileno usualmente depende de la temperatura de almacenamiento, estadio de maduración y de la variedad [Lizada, 1993].

El comportamiento de los patrones de respiración de las tres variedades durante la maduración después de ser sometidos a 5° C durante 25 días se presentan a continuación. Las variedades 'Keitt' y 'Kent' [Fig. 24 A y B, respectivamente] presentaron

una alta producción de CO₂ al momento de salir del almacenamiento como respuesta a las temperaturas más altas [20° C], disminuyendo en el segundo día, a partir del cual se registró un incremento presentando su máxima producción de CO₂ en el 3er día, después disminuyó rápidamente hasta el 7° día en la variedad 'Keitt' y 8° día en la variedad 'Kent', sin embargo posteriormente se observó un ligero incremento en la producción de CO₂ hasta el 10° día en que ambas variedades presentaron un segundo pico pero de menor intensidad que el primero (día 3), este comportamiento puede ser debido a que los síntomas de daño por frío se manifestaron con mayor intensidad casi al final de la maduración. La variedad 'Manila' presentó un comportamiento muy diferente ya que la producción de CO₂ se inhibió por completo al momento de que los frutos fueron transferidos a 20° C, sin embargo se observó un aumento conforme transcurre la maduración (Fig. 24 C) y presentó su máximo climaterio en el día 15, después de lo cual la producción de CO₂ desciende, únicamente se observó un ligero incremento hacia el final de la maduración.

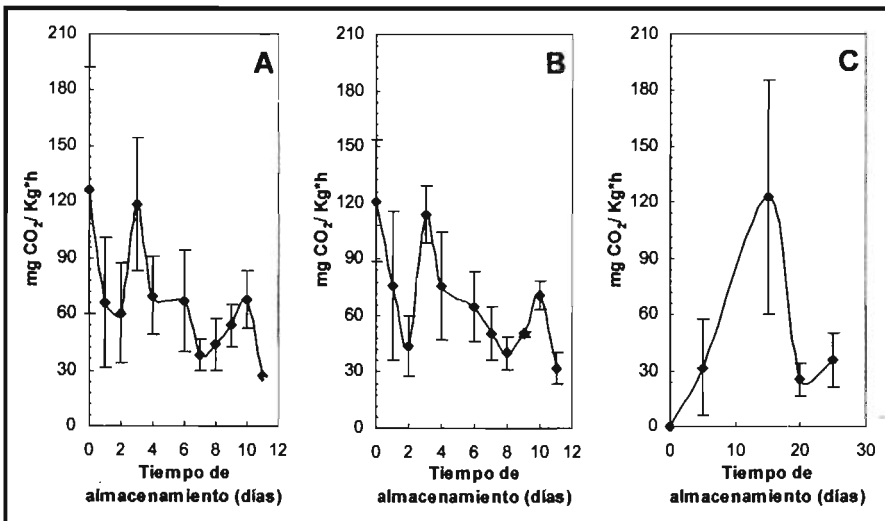


Figura 24. Producción de CO₂ de mangos 'Keitt' [A], 'Kent' [B] y 'Manila' [C], almacenados a 5° C durante 25 días después transferidos a 20° C. Cada valor representa la media de 6 valores de 2 réplicas. Las barras verticales representa ± la SD.

Respecto al comportamiento del patrón respiratorio en relación a la temperatura de almacenamiento se puede decir que se observó que a 5° C, la variedad 'Keitt' mostró un

ligero incremento del 14% en la producción de CO_2 con respecto a los frutos almacenados a 20°C , además de que el máximo climaterio se alcanzó 2 días antes que a 20°C (día 5), en mangos 'Kent' la producción de CO_2 disminuyó casi 50% con respecto a los frutos a 20°C , sin embargo la aparición del máximo climaterio se presentó el 3er día en ambos casos; para el caso de mangos 'Manila' la producción de CO_2 aumentó en un 66% con respecto a la que se obtuvo a 20°C . Estos comportamientos pueden explicarse debido a que en especies sensibles a las bajas temperaturas se presenta una alteración en los patrones respiratorios que puede registrarse como un incremento en la velocidad de respiración. Sin embargo, el incremento de la velocidad de respiración después de un tiempo prolongado de exposición a bajas temperaturas se debe a una perturbación metabólica irreversible y a la acumulación de intermediarios oxidables. También algunas veces la respiraciones se inhibe y no se presenta el pico climatérico ya que los frutos pierden su capacidad de madurar después de almacenamientos prolongados a bajas temperaturas [Wang, 1982].

5.7.2 Parámetros de calidad.

5.7.2.1 pH y Acidez.

Los valores de pH brindan la medida de la acidez o alcalinidad de un producto, mientras que la acidez titulable brinda una medida de la cantidad de ácido presente. La evaluación del pH y de la acidez titulable se utilizan para estimar la calidad para el consumo y características ocultas, debido a que son parámetro bastante objetivo de la percepción detectada por los consumidores. Los mismos pueden ser considerados como indicadores de madurez de los frutos [Hobson, 1993]. Los ácidos contribuyen enormemente a la calidad postcosecha de los frutos, ya que el sabor de los frutos esta fundamentado en el balance que existe entre azúcares y los ácidos orgánicos. Durante la maduración los mangos muestran un disminución en la acidez y un aumento en el contenido de azúcares por lo tanto, la estimación postcosecha de acidez es importante en la evaluación del sabor del fruto [Medlicott y Thompson, 1985].

Los cambios en el pH durante las 4 etapas de maduración a 20° C se muestran en la figura 25 A. La tendencia principal en los mangos de las variedades en estudio, fue similar a los reportados para la mayoría de los frutos climatéricos.

El valor de pH fluctúa entre 3.0 y 6.0, además aumentó conforme avanza la maduración en todas las variedades. No se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre las tres variedades en el estadio preclimaterio (E₁), sin embargo en los demás estadios si se presentó un efecto significativo ($P \leq 0.05$) (Fig. 25 A). El valor de pH de las variedades 'Keitt' y 'Kent' se incrementaron de manera gradual, sin embargo para la variedad 'Manila' este se incrementó rápidamente en el inicio del climaterio (5° día), aproximadamente en 36% después solamente, lo hace ligeramente. De acuerdo a Doreyappa y Huddar (2001) el incremento en el pH de la pulpa de mango 'Alphonso', esta relacionado con la disminución de la acidez y atribuye la reducción en el contenido de ácidos orgánicos a la conversión de estos en azúcares y su utilización en procesos metabólicos.

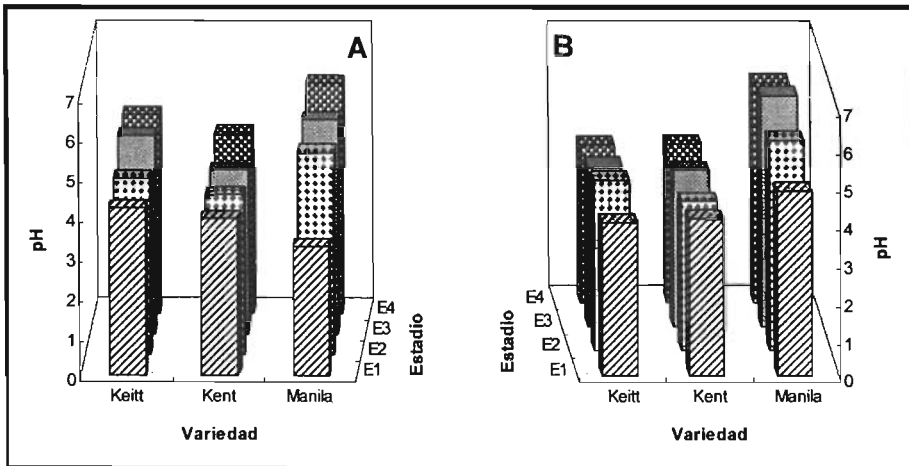


Figura 25. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el pH durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C [A] y 5° C [B]. Cada valor representa la media de valores de 3 réplicas [12 frutos por réplica].

Con respecto a los frutos almacenados a bajas temperaturas (5° C), la tendencia varía ya que en mangos 'Keitt' y 'Kent' no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$), además presentaron la misma tendencia, el valor de pH permanece casi constante con un valor que oscila entre 4.0 y 4.5 (Fig. 25 B) durante toda la maduración, pero para mangos 'Manila' se observó que el valor de pH se incrementó ligeramente desde el preclimaterio (pH =4.8) hasta el máximo climaterio (pH =6.08) para después disminuir ligeramente hasta 5.7.

Al comparar el valor de pH obtenido a las dos temperaturas de almacenamiento se encontró que únicamente en mangos 'Manila' en el preclimaterio (E₁) e inicio del climaterio (E₂) se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), para mangos 'Keitt' y 'Kent' los resultados no fueron diferentes de manera significativa ($P \geq 0.05$). Por lo que se puede decir que el pH es un parámetro que se ve poco afectado con las bajas temperaturas y por lo tanto no existe relación con los daños por frío que presentan estos frutos a esta temperatura.

Los cambios en la acidez a 20° C, para todas las variedades presentaron la tendencia esperada, es decir esta disminuyó conforme avanzó la maduración debido a que los ácidos orgánicos responsables de la acidez de los frutos son utilizados como sustratos respirables [Wills *et al.*, 1989]. Los mangos 'Kent' presentaron un valor más alto de acidez durante los tres primeros estadios comparados con las otras dos variedades (Fig. 26 A). Esto coincide con los valores de pH que presentó esta variedad. El descenso en la acidez puede ser debido a la alta proporción inicial de pérdida de ácido cítrico con pequeñas pérdidas de ácido málico [Medlicott y Thompson, 1985]. Se han reportado resultados similares para otras variedades; mangos 'Alphonso' y 'Raspuri' durante los primeros estadios son más ácidos y altamente astringentes debido a que presentan una máxima acidez [Kudachikar *et al.*, 2003]. Durante la maduración de mangos 'Keitt' la acidez disminuyó 5 veces en el 9° día después de la cosecha (Medlicott y Thompson, 1985).

En frutos sometidos a 5° C, se encontró que presentaron un comportamiento diferente en todas las variedades, ya que mientras en mangos 'Keitt' la acidez presentó una ligera disminución conforme avanza la maduración, los mangos 'Kent' mostraron un ligero

incremento [17%] del preclimaterio [E₁] al inicio del climaterio [E₂] para después disminuir ligeramente hasta el postclimaterio [E₄] finalmente la variedad 'Manila' presentó un incremento del 40% entre el preclimaterio y el inicio del climaterio, disminuyó un 23 % en el máximo climaterio, después se volvió a incrementar en un 42% al final del almacenamiento donde alcanza su valor máximo. Esta alteración en la acidez puede deberse a que existen factores como la variedad junto con la condiciones de almacenamiento, que pueden afectar el desarrollo del sabor, ya que debido a estas condiciones se ve afectado el balance azúcar y ácido en los mangos (Medlicott y Thompson, 1985). Además de que debido que algunos frutos pierden su capacidad de madurar después de almacenamientos prolongados a bajas temperaturas, presentan pequeños cambios en la acidez (Wang, 1982).

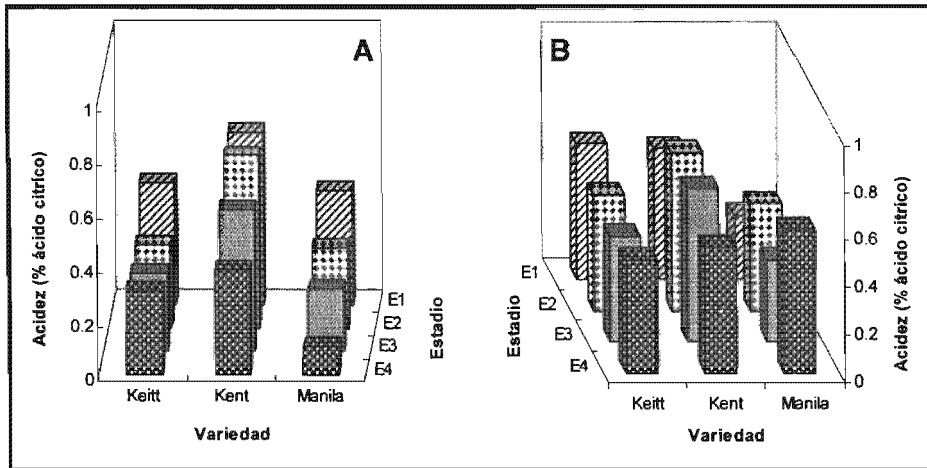


Figura 26. Efecto de la temperatura de almacenamiento en la acidez durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C (A) y 5° C (B). Cada valor representa la media de valores de 3 réplicas (12 frutos por réplica).

Evaluando el cambio de acidez con respecto a la temperatura de almacenamiento presentó ligeros cambios [Fig. 26 A y B] , sin embargo no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre las dos temperaturas de almacenamiento durante los estadios de maduración, únicamente la variedad 'Kent' presentó una diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en el máximo climaterio [E₃] y la variedad 'Manila' en el

postclimaterio (E_4). Por lo que al igual que el pH la acidez no se ve afectada por las bajas temperaturas. Respecto a esto, existe una diferencia en los resultados obtenidos por diversos autores ya que algunos como, González-Aguilar *et al.* (2001a) encontraron que en Mangos 'Kent' no existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el pH y porcentaje de acidez titulable a condiciones de almacenamiento de 20° C y 5° C. Vela *et al.* (2003) reportaron que en mangos 'Manila' sometidos a bajas temperaturas (7° C) la tendencia de los cambios en la acidez fue similar a la obtenida a 25° C. Sin embargo, en mangos 'Tommy Atkins' sometidos a bajas temperaturas presentaron una acidez mayor (Medicott *et al.*, 1986b); Mangos 'Keitt' presentaron un comportamiento similar a estos (Mc Collum *et al.*, 1993).

5.7.2.2 Sólidos solubles.

Los frutos, incluyendo los mangos, contienen muchos compuestos solubles en agua, como por ejemplo, azúcares, ácidos, vitamina C, aminoácidos y algunas pectinas. Estos compuestos solubles forman el contenido de sólidos solubles del fruto. Los azúcares representan el principal componente de los sólidos solubles en frutos. Además de que son una importante característica de la calidad postcosecha, aumentan durante la maduración. Sin embargo, la magnitud del aumento depende de la variedad (Flores-Gutierrez, 2000).

Los sólidos solubles expresados como °Brix mostraron una tendencia general a aumentar conforme avanza la maduración de los frutos a 20° C para las diferentes variedades. La variedad 'Kent' presentó el valor más alto en el postclimaterio (19.1°Brix), además el aumento en los sólidos solubles para esta variedad fue de aproximadamente un 50% desde el preclimaterio hasta el postclimaterio. El aumento para las otras dos variedades es menos notorio ya que para mangos 'Keitt' el aumento solo se da en un 22% seguida por mangos 'Manila' en que solamente es de 9%. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre todas las variedades, solamente en el preclimaterio (Fig. 27 A). De acuerdo a Doreyappa y Huddar (2001) el incremento de los sólidos solubles en la pulpa de mango puede atribuirse mayormente a la hidrólisis del almidón en azúcares hidrosolubles, además la hidrólisis completa del almidón en sacarosa y glucosa a lo largo de la maduración es proporcional con el incremento de los

sólidos solubles. Se ha reportado para otras variedades como la 'Alphonso' y 'Raspuri' que el contenido de sólidos solubles aumentó gradualmente con la maduración [Kudachikar *et al.*, 2003].

En mangos sometidos a 5° C se observó que en las variedades 'Keitt' y 'Kent' permanecieron casi constante el contenido de sólidos solubles durante toda la maduración, sin embargo en la variedad 'Manila' se presentó la misma tendencia que los frutos almacenados a 20° C, es decir aumentó conforme avanza la maduración, pero el incremento se da en un porcentaje mayor (27%). Además presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con respecto a las otras variedades en el inicio del climaterio y el postclimaterio (Fig. 27 B).

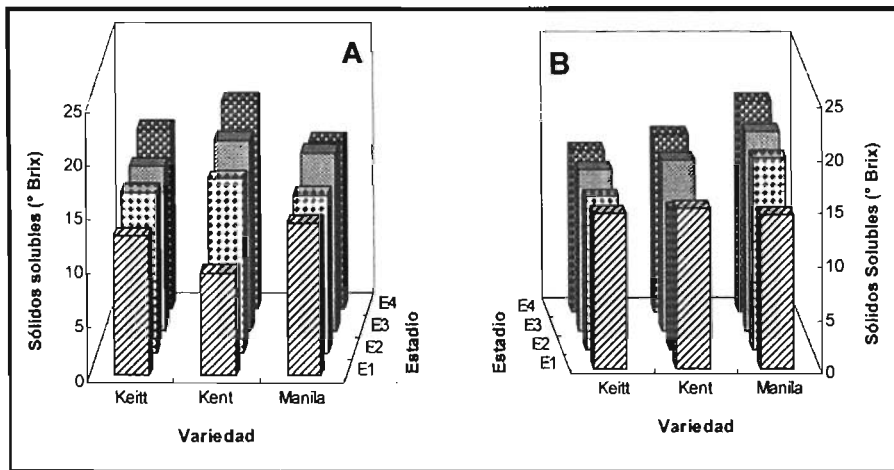


Figura 27. Efecto de la temperatura de almacenamiento en los sólidos solubles durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C [A] y 5° C [B]. Cada valor representa la media de valores de 3 réplicas [12 frutos por réplica].

Con respecto a la temperatura de almacenamiento, no se presentó una variación importante salvo para la variedad 'Manila' los sólidos solubles aumentaron cuando son sometidos a bajas temperaturas a partir del inicio del climaterio hasta el postclimaterio entre un 18 a 21%. Para los otras dos variedades no se encontró un cambio significativo ($P \geq 0.05$) excepto en el preclimaterio la variedad 'Kent' presentó un

incremento de aproximadamente 37% con respecto al grupo control [20° C]. Lo que puede deberse debido a que en frutos sensibles después de almacenamientos prolongados a bajas temperaturas se presentan pequeños cambios en los sólidos solubles [Wang, 1982].

Para otras variedades de mango se ha encontrado que existe diferencias en la relación del contenido de sólidos solubles y las bajas temperaturas de acuerdo a la variedad del fruto, por ejemplo, el almacenamiento de mangos 'Alphonso' a bajas temperaturas trajo como consecuencia una disminución en los sólidos solubles totales cuando están totalmente maduros [Krishnamurthy y Joshi, 1989]. También González-Aguilar *et al.* [2001a] encontraron en mangos 'Kent', un contenido de sólidos solubles más bajos después del período de almacenamiento a 5° C y durante el período en el cual los frutos fueron colocados a 20° C, lo que indica que la maduración de los frutos fue parcialmente retrasada o inhibida. Lederman *et al.* (1997) encontraron que en mangos 'Keitt' con síntomas de severo daño por frío no alcanzaron un nivel normal de sólidos solubles y ácido cítrico comparándolos con frutos almacenados a temperaturas más altas [citado por González-Aguilar *et al.*, 2001a]. Sin embargo, Vela *et al.* [2003] reportaron que para mangos 'Manila' los sólidos solubles no mostraron diferencias significativas entre frutos almacenados a 6° C y 25° C.

5.7.2.3 Firmeza.

La firmeza es una característica compuesta, que es el resultado de una combinación de varios factores, como la turgencia hídrica y los componentes estructurales de los tejidos y células. Es una importante característica de calidad postcosecha que puede ser utilizada como un índice de maduración. También es importante en la evaluación de la susceptibilidad de los frutos a daños físicos, mecánicos o manejo postcosecha, ya que esta varía de acuerdo a la madurez y variedad [Ketsa *et al.*, 1999a].

Entre las muchas características que contribuyen a la calidad del mango, la apariencia y la firmeza pueden ser de los más importantes [Lizada *et al.*, 1993]. La progresiva pérdida de la firmeza o el ablandamiento de los mangos es consecuencia de la maduración normal e involucra algunas enzimas [Ketsa *et al.*, 1999a].



Los mangos almacenados a 20° C pierden firmeza acorde a la maduración de los frutos. Cuando inició la maduración todos los frutos de las diferentes variedades presentaron una textura firme y similar, posteriormente en el inicio del climaterio [E₁] la variedad 'Manila' mostró una pronunciada pérdida de la firmeza, ya que su textura presentó un descenso a la mitad de su valor inicial, en las otras dos variedades la firmeza descendió de manera gradual y hacia el final de la maduración únicamente disminuyó alrededor del 32% de su firmeza comparándolas con la variedad 'Manila' que presentó un descenso del 70% (Fig. 28 A). La variedad 'Kent' permaneció firme por más tiempo que las otras variedades por lo que esta variedad puede tener una gran resistencia a daños mecánicos durante el manejo postcosecha. Como en otros frutos el ablandamiento en los mangos puede ser atribuido a la despolimerización y solubilización de sustancias pécticas en la laminilla media de las paredes celulares por las hidrolasa de la pared celular [Ketsa *et al.*, 1999a]. Además la pérdida de agua durante el almacenamiento puede afectar la pérdida de la firmeza ya que el agua ayuda a mantener la estabilidad estructural y la integridad de los compartimentos [Díaz-Sobac *et al.*, 1997]. Asimismo, la disminución de la firmeza puede deberse al incremento de los niveles de sólidos solubles y azúcares totales por la degradación del almidón [Kudachikar *et al.*, 2003].

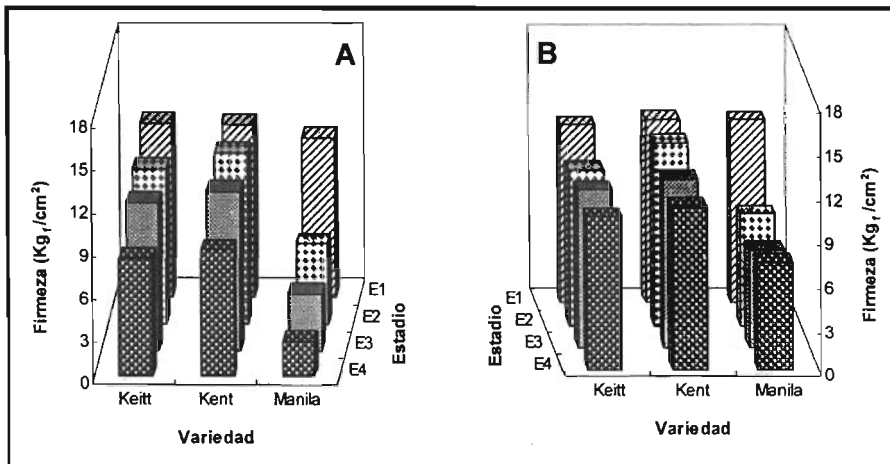


Figura 28. Efecto de la temperatura de almacenamiento en la firmeza durante la maduración de mangos de tres variedades almacenados a 20° C [A] y 5° C [B]. Cada valor representa la media de valores de 3 réplicas (n =12 frutos).

Al evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento se encontró que la firmeza inicial al transferirlos a 20° C fue similar a la de los mangos madurados a 20° C, sin embargo en los siguientes estadios la pérdida de la firmeza ocurre de manera menos pronunciada (Fig. 28 B) para las variedades 'Keitt' y 'Kent'. Inicialmente las tres variedades al igual que lo que sucedió a 20° C, presentaron una mayor firmeza y de valor semejante, pero al iniciar el climaterio (E_2) la variedad 'Manila' presentó una pronunciada pérdida de aproximadamente 40%. En las otras dos variedades no varió mucho su firmeza ya que no varió demasiado durante la maduración y solo mostraron un descenso de menos del 15% (Fig. 28 B). Muchos autores reportan que dentro de los síntomas del daño por frío existe un aumento en la firmeza de los frutos. Kane *et al.* (1982) encontraron que el daño por frío tiene efecto en la firmeza de mangos 'Francisque', también encontraron evidencia de la estrecha relación entre la disminución de la firmeza de los tejidos y el contenido de agua, debido a que la firmeza de los mangos se incrementó con la disminución del contenido de agua.

Vela *et al.* (2003) reportaron que en mangos 'Manila' la firmeza mostró una disminución constante durante la maduración a 6 y 25° C, pero a 6° C presentó valores ligeramente más altos. Medicott *et al.* (1990) reportaron que mangos almacenados a bajas temperaturas presentaron una disminución en la firmeza.

Comparando los resultados obtenidos a 5° C con los de 20° C podemos ver que la pérdida de la firmeza sobrevino de manera menos pronunciada y que se observó un ligero incremento de la textura cuando los frutos son sometidos a bajas temperaturas, esto posiblemente se deba a las bajas concentraciones de pectinas hidrosolubles en frutos sometidos a bajas temperaturas y que estas están correlacionadas con el retardo en el ablandamiento, además de que las actividades de poligalacturonasa y β -galactosidasa disminuyen cuando los frutos son almacenados a bajas temperaturas [Ketsa *et al.*, 1999a]. Por lo que posiblemente en frutos sometidos a bajas temperaturas se puede reducir la despolimerización y solubilización de las sustancias pécticas, además de que estas enzimas estén relacionadas con el daño por frío en mangos [Ketsa *et al.*, 1999a].

No se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) durante los tres primeros estadios de maduración, sin embargo en el postclimaterio [E₂] existen diferencias significativas para las tres variedades a temperatura de 5° C.

5.7.2.4 Pérdida de peso.

La pérdida de peso es una característica que afecta la calidad de los frutos debido a que está generalmente asociada con la deshidratación de los frutos, causando importantes pérdidas económicas, además de que modifica la apariencia de los frutos y contribuye a la pérdida de su firmeza [Lamúa, 2000].

La evaluación del porcentaje de pérdida de peso es esencial debido a que la alta tasa de respiración, acompañada por una pérdida de agua que ocurre durante la maduración, particularmente durante la fase climatérica, causando una reducción neta en el peso de los frutos [Doreyappa y Huddar, 2001].

La pérdida de peso resultó ser mayor a medida que avanzó la maduración de los frutos almacenados a 20° C, se encontraron diferencias significativas entre las variedades ($P \leq 0.05$). Los mangos 'Manila' presentaron un mayor porcentaje de pérdida de peso que las otras variedades, al final de la maduración la pérdida de peso fue el doble del porcentaje que presentan los otros frutos, inclusive en la variedad 'Manila' se observaron arrugas en los frutos en el estadio postclimaterico [E₂] (Fig. 29); después le sigue la variedad 'Kent' y la variedad 'Keitt' fue la que presentó menor pérdida de peso a 20° C. La pérdida fisiológica de peso puede ser atribuida a la transpiración de agua a través de la piel, que esta influenciada por el tamaño del fruto, la temperatura de almacenamiento y variedad [Doreyappa y Huddar, 2001].

La pérdida de peso fue mayor en los frutos que fueron almacenados a bajas temperaturas en las variedades 'Keitt' y 'Kent', a pesar de que la pérdida de peso esta influenciada por la temperatura, por lo que a menor temperatura debería de existir una menor pérdida de peso. Sin embargo, la pérdida de peso también puede asociarse al incremento en la producción de CO₂ que presentaron los frutos a 5° C (Fig. 24) ya que al acelerarse la respiración se acelera la transpiración y con ello la pérdida de agua que se

ve reflejado en la pérdida de peso también puede asociarse al desecamiento parcial, además de un aumento en la permeabilidad y necrosis de las células epidérmicas que presentan los frutos con daño por frío [Kane *et al.*, 1982].

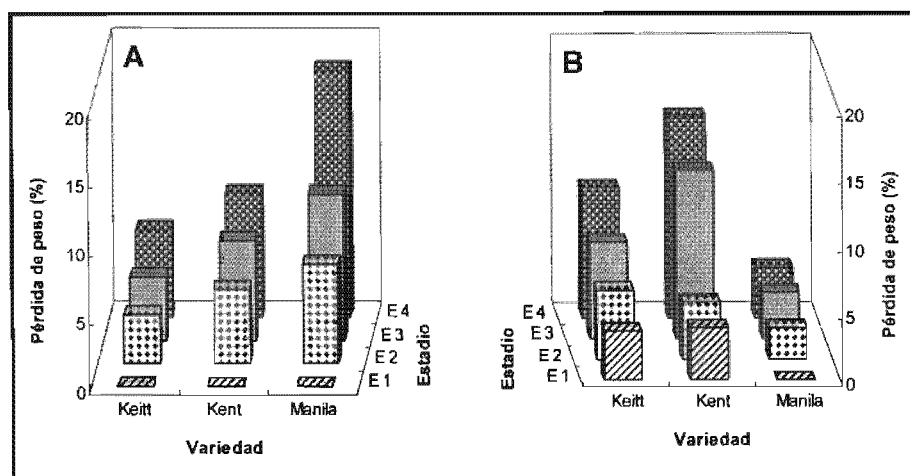


Figura 29. Porcentaje de pérdida de peso en mangos de tres variedades almacenados a 20° C (A) y 5° C por 25 días y después transferidos a 20° C (B). Los valores representa la media de 3 réplicas (12 frutos por réplica).

A 5° C la tendencia en la pérdida de peso fue similar a la que se presentaron los frutos a 20° C, los resultados obtenidos son diferentes de manera significativa ($P \leq 0.05$) entre todas las variedades, los mangos 'Kent' presentaron un mayor porcentaje de pérdida de peso y los mangos 'Manila' son los que presentaron una menor pérdida aun por debajo de la que se obtuvo a 20° C para esta variedad. Respecto a esto existen diversos reportes con resultados similares; mangos 'Tommy Atkins' presentaron una progresiva pérdida de peso a través de los 18 días que fueron expuestos a 5° C que fue mayor al final de la maduración sin que se manifestaran signos evidentes de "arrugamiento" de los frutos, pero una vez que los frutos fueron colocados a 20° C, se aceleró la proporción de pérdida de peso [Mohammed y Brecht, 2002]. González-Aguilar *et al.* [2001b] reportaron que el porcentaje de pérdida de peso que presentaron mangos 'Tommy Atkins' fue mayor cuando fueron almacenados a 20° C con respecto frutos almacenados a 5° C, pero en mangos que permanecieron 14 días a 5° C y después



fueron colocados 7 días a 20° C la proporción de pérdida de peso fue similar a la obtenida a 20° C, esto debido a un incremento en la transpiración, pérdida de humedad y síntomas de "arrugamiento" de los frutos. Sin embargo en mangos 'Kent' la pérdida de peso fue mayor a temperatura de 20° C que a 5° C (González-Aguilar *et al.*, 2001a).

5.7.2.5 Color.

El color de los frutos es probablemente el factor más importante por el cual el consumidor evalúa la calidad. Por lo tanto, el color de la piel y de la pulpa representa importante criterio de selección postcosecha. También podría indicar el estado de deterioro, infestación por enfermedades y/o contaminación. El color de la piel a menudo es el principal criterio postcosecha utilizado por los investigadores, productores y consumidores para determinar si la fruta es madura o verde (Flores-Gutierrez, 2000).

El cambio de color en los mangos de las diferentes variedades fue evaluado por medio del sistema 'Hunter' que nos define el color por medio de los parámetros de L, a y b. La luminosidad (L) está asociada con la brillantez que depende del flujo luminoso que es transmitido o reflejado por la muestra (McGuire, 1992). En general se observa un incremento en la luminosidad conforme avanza la maduración, el cual fue mayor en los mangos 'Manila' alrededor del 50% más que en las otras variedades, lo que da lugar a que existan diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con respecto a las otras variedades (Fig. 30 A). En la variedad 'Kent' el valor de la luminosidad disminuye ligeramente al término de la maduración, pero no existen diferencias significativas ($P \geq 0.05$) con la variedad 'Keitt'.

En mangos sometidos a bajas temperaturas se encontró que la luminosidad (Fig. 30 B) tiene un comportamiento semejante al que presentaron los frutos almacenados a 20° C, siendo la variedad 'Manila' la que presentó una mayor luminosidad muy por arriba de las otras dos variedades, si se compara con los frutos de 20° C se encontró que mangos almacenados a 5° C presentaron una luminosidad ligeramente más baja debido a que en el desarrollo de los síntomas de daño por frío los frutos tienden a oscurecerse y presentar una coloración más opaca. Esta tendencia es más evidente en los últimos estadios de maduración (Fig. 30 B).

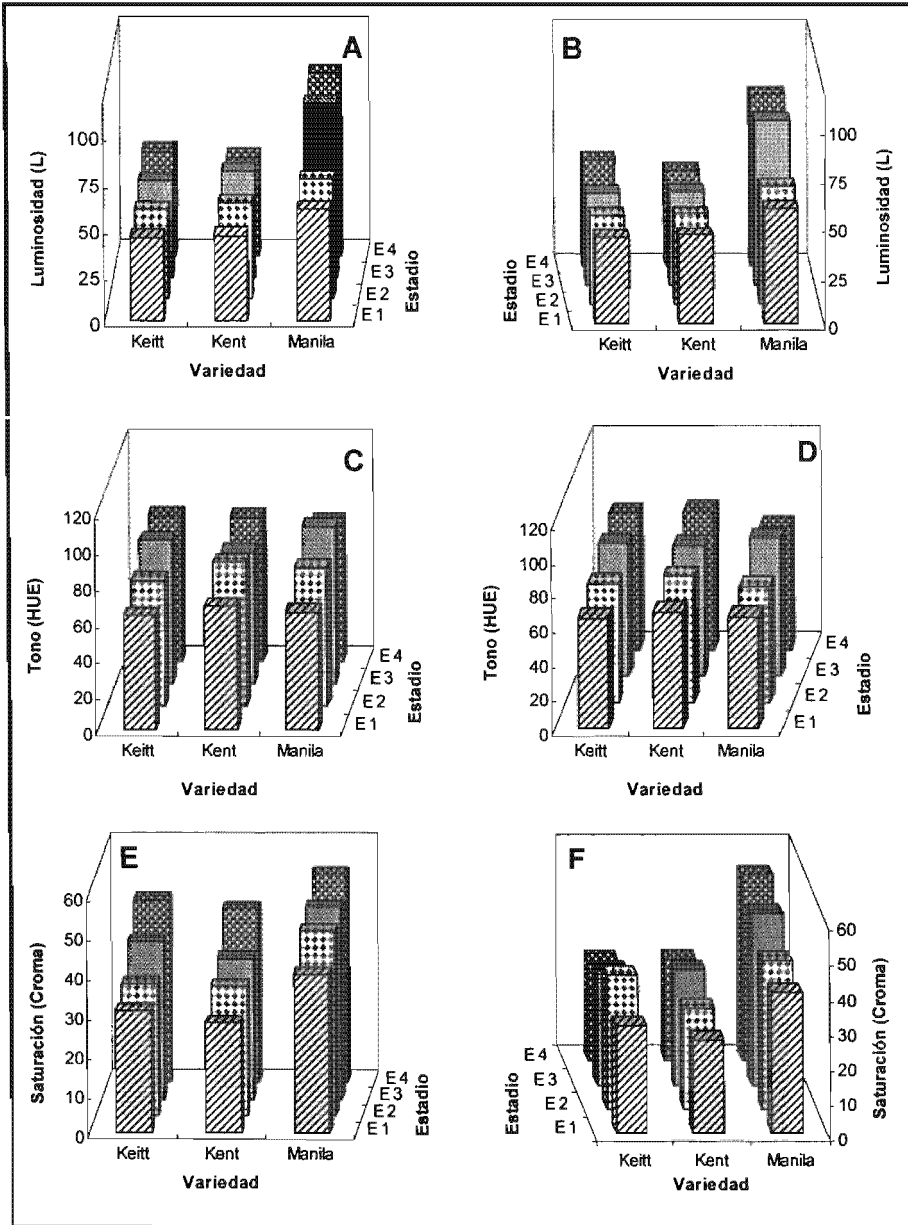


Figura 30. Cambios de color en la piel de mangos de diferentes variedades almacenados a 20°C (A) y 5° C (B) durante 4 etapas de maduración. Los valores representa la media de 3 replicas (20 frutos por réplica).



El ángulo de matiz [Hue] indica la tonalidad de matiz que tiene la muestra [rojo, azul, naranja, etc.] y está representada por un ángulo [Mc Guire, 1992]. Los cambios en este parámetro para mangos almacenados a 20° C (Fig. 30 C) indicaron que los frutos pasaron de un color verde-amarillo a una coloración más amarilla, este parámetro no se afectó por las bajas temperaturas de almacenamiento (Fig. 30 D).

El Cromo indica el grado de saturación del tono o la intensidad de éste, también muestra que tanto un color difiere del gris [McGuire, 1992]. En mangos almacenados a 20° C (Fig. 30 E) presentaron un color más intenso o más definido conforme avanza la maduración. La variedad 'Manila' presentó un color más intenso que las otras dos variedades, siendo la variedad 'Kent' la que presentó un color menos intenso.

En mangos almacenados a bajas temperaturas (Fig. 30 F) la saturación [croma] se incrementó desde el preclimaterio hasta el inicio del climaterio y a partir de este estadio la intensidad del color disminuyó ligeramente en las variedades 'Keitt' y 'Kent' que coincide con la aparición de los síntomas de daño por frío, esta disminución es considerablemente mayor en mangos 'Keitt' casi 50% a partir del inicio del climaterio, esto nos indica que entre las variedades 'Keitt' y 'Kent' la intensidad del color disminuye en mayor proporción en los mangos 'Keitt' que son los que presentaron con mayor intensidad síntomas visibles de daño por frío manifestados principalmente por la aparición de manchas pardas en la piel de los frutos.

En mangos 'Manila' el comportamiento fue diferente ya que la saturación [Croma] aumenta conforme avanza la maduración y de manera similar a la que se obtuvo a 20° C por lo que este parámetro no se ve afectado por las bajas temperaturas en esta variedad, además de que en esta variedad se presentaron con menor intensidad los síntomas de daño por frío.

Respecto a los cambios de coloración que presentan los mangos diversos autores han reportado que este cambia de verde oscuro tornándose ligeramente amarillo a amarillo-anaranjado, además de que algunas presentan un chapeo rojo debido a la degradación de la clorofila conlleva a la desaparición del color verde. Además se presenta un incremento gradual en el contenido de carotenoides a medida que aparece una

coloración profundamente amarilla [Doreyappa y Huddar, 2001; Medicott *et al.*, 1986a; González-Aguilar *et al.*, 2001a]. Así el desarrollo de la coloración amarilla en los mangos fue debida probablemente a la degradación de la clorofila y síntesis de carotenoides con la asociación de los carotenoides contenidos en la pulpa subyacente [Medlicott *et al.*, 1986a].

A pesar de que el desarrollo del color esta asociado con la pérdida de la textura, incremento en el contenido de azúcares y el disminución de la acidez. En los frutos, la coloración verde y amarilla esta dada por los lípidos solubles, clorofilas y carotenoides presentes en los plástidos, mientras que el color rojo puede ser debido a los carotenoides o a las antocianinas hidrosolubles encontradas en la vacuola [Medlicott *et al.*, 1986a]. En mangos, el desarrollo del color es un parámetro difícil de correlacionar con la madurez ya que muchas variedades muestran diferentes grados de verde en la piel cuando están en madurez de consumo (Medlicott y Thompson, 1985).

Respecto al efecto de las bajas temperaturas se ha reportado que en mangos 'Kent' un retraso en el desarrollo del color de frutos almacenados a 5° C como consecuencia del almacenamiento a bajas temperaturas [González-Aguilar *et al.*, 2001a]. Mohammed y Brecht (2002) reportaron que solamente se observó un cambio apreciable del color en mangos maduros después de 18 días a 5° C, mientras que los mangos en los primeros estadios presentaron valores de HUE aproximadamente por arriba de 100, croma por arriba de treinta y valores de L por arriba de 50 mismos que decaen en los primeros tres día en que los frutos fueron transferidos a 20° C que corresponde al inicio del desarrollo de los síntomas de daño por frío en estos frutos. Los frutos almacenados a 20° C desarrollan color después de tres días a 20° C.

5.8 Evaluación de la susceptibilidad al almacenamiento a bajas temperaturas en diferentes variedades cultivadas en México.

El término 'sensibilidad a las bajas temperaturas' se utiliza en sentido comparativo y cuantitativo para describir y establecer diferencias entre la susceptibilidad de los frutos al daño por frío con referencia a la temperatura crítica por debajo de la cual se desarrollan los síntomas de daño (Paull, 1990).

La susceptibilidad o sensibilidad a las bajas temperaturas de los frutos esta determinada por la temperatura crítica por debajo de la cual se presenta la respuesta primaria del estrés por frío y la tolerancia se refiere a la capacidad que tienen los frutos a tolerar las respuestas secundarias y que se manifiesta en un retardo del desarrollo de los síntomas de daño por frío [Saltveit y Morris, 1990]. Como respuesta al estrés por frío los frutos sensibles presentan una serie de alteraciones a nivel bioquímico y fisiológico. La magnitud de estas y la habilidad del fruto para resistir estas alteraciones determinan su susceptibilidad y tolerancia a las bajas temperaturas (Wang,1982). Algunos tratamientos postcosecha incrementan la tolerancia de los frutos para desarrollar los síntomas de daño por frío pero no cambian su susceptibilidad a las bajas temperaturas [Saltveit y Morris, 1990].

La sintomatología del daño por frío, representan una manifestación de los cambios físicos bioquímicos y fisiológicos producidos por la exposición a bajas temperaturas. Generalmente se acepta que la respuesta inicial al frío es de naturaleza física esto es, cambios en la composición e integridad de la membrana. Sin embargo, existen cambios secundarios en los procesos fisiológicos tales como, aumento en la velocidad de respiración, incremento en la producción de etileno, cese en la corriente protoplasmática (Wang, 1982). Aunque en distinto grado y con diferente sintomatología los frutos de origen tropical y subtropical son susceptibles a daño por frío [Saltveit y Morris, 1990]. Dicha susceptibilidad depende de la variedad, de la temperatura y tiempo de exposición, del grado de madurez, de las características climáticas de la zona de cultivo y en especial las temperaturas anteriores a la cosecha [Wang, 1994].

En los mangos 'Keitt', 'Kent' y 'Manila', el daño por frío se manifestó por un picado en la superficie y aparición de manchas oscuras en la piel, lo cual fue evidente al ser transferidos a temperatura ambiente durante para la maduración. Aunque la manifestación de los síntomas visibles fue de manera diferente para cada variedad, en la variedad 'Keitt' los síntomas fueron evidentes aún durante el almacenamiento a 5° C y se desarrollaron con mayor severidad desde el preclimaterio hasta el postclimaterio, en la variedad 'Kent' los síntomas se manifestaron principalmente en el postclimaterio, sin embargo resultó ser la variedad más susceptible al ataque por patógenos, también se presentaron síntomas de daño por frío en la pulpa. La variedad 'Manila' resultó ser la

que presentó con menor intensidad los síntomas de daño por frío durante la maduración, pero al igual que la variedad 'Kent' resultó ser susceptible al ataque por patógenos en el postclimaterio, a pesar de esto fue la variedad con menor índice de daño por frío.

En cuanto a la concentración de compuestos fenólicos, la variedad 'Keitt' presentó una mayor concentración de fenoles totales en la piel que se incrementó en un 45% después de ser sometidos a bajas temperaturas, pero en la pulpa la variedad 'Kent' resultó ser la variedad que presentó una mayor concentración durante el postclimaterio (50%).

Respecto a la actividad de polifenoloxidasas, la variedad 'Keitt' resultó ser la que presentó una mayor actividad en la piel, esta se incrementó hasta tres veces, pero en la pulpa los mangos 'Kent' presentaron mayor actividad que las otras variedades esta se incremento hasta 8 veces, la variedad 'Manila' fue la que presentó una menor actividad tanto en la piel como en la pulpa.

En la variedad 'Keitt' se vio más alterada la producción de CO_2 se aumentó en un 14%, además de que presentó su máximo climaterio dos días antes que de lo que se presentó a 20° C, en la variedad 'Kent' por el contrario disminuyó en un 50%, pero el máximo climaterio coincide con el día en el que se presentó a 20° C (3° día), sin embargo la variedad 'Manila' resultó ser en la que se vio más alterada la producción de CO_2 con un aumento de 66%.

En lo que se refiere al porcentaje de pérdida de peso, la variedad 'Kent' fue la que presentó una mayor pérdida de peso, le sigue la variedad 'Keitt' y finalmente la variedad 'Manila' fue la que presentó una menor pérdida aún por debajo de la que se presentó a 20° C.

En cuanto al color de los frutos se afectó por la aparición de manchas pardas en la piel, lo que se reflejó principalmente en el valor de la saturación [croma] en mangos 'Keitt' este valor disminuye drásticamente en un 50% desde el inicio del climaterio, en la variedad 'Kent' también se afectó este parámetro, pero en menor intensidad, en la variedad 'Manila' no se vieron afectados estos parámetros.



En base a los resultados obtenidos se puede decir que todas las variedades son susceptibles a las bajas temperaturas, sin embargo la variedad 'Keitt' resultó ser la más susceptible a las bajas temperaturas debido a que los síntomas visibles afectaron la calidad de los frutos durante toda la maduración ya que estos se manifestaron desde el preclimaterio hasta el postclimaterio siendo más intensos que en cualquiera de las otras variedades, igualmente es la única variedad en la cual el máximo climaterio se manifestó anticipadamente. Posteriormente, le seguiría la variedad 'Kent' que a pesar de que los síntomas se manifestaron hasta en el postclimaterio, pero además presentó síntomas de daño por frío en la pulpa. La variedad 'Manila' resultó ser la que presentó una menor susceptibilidad a las bajas temperaturas. Aunque debe tomarse en consideración que las variedades 'Kent' y 'Manila' se ven afectadas por los síntomas de daño por frío en los últimos estadios cuando ya han alcanzado su madurez de consumo por lo que probablemente esto no representaría grandes pérdidas.

Debido a que la manifestación de los daños por frío dependen de la variedad de los frutos, la información obtenida nos sirve para definir las condiciones del manejo postcosecha para cada una de las variedades estudiadas, además tomando en cuenta la relación que existe entre los síntomas de daño por frío y la actividad de polifenol oxidasa, se puede proponer algunos tratamientos en los que se pueda inhibir la actividad de esta enzima para así disminuir la aparición del síntoma más común de daño por frío en mangos (extensas manchas marrón). Sin embargo se deben de tomar en cuenta otros factores tales como las diferencias en composición, condiciones de manipulación durante la cosecha y postcosecha, se debería profundizar en algunos de estos puntos para llegar a una conclusión final.



6. CONCLUSIONES.

Con base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir lo siguiente:

1 La actividad máxima de polifenoloxidasas en extractos crudos en la piel de mango 'Manila' se obtuvo a pH 8.5 a 40° C y en pulpa a pH 7.5 y 40° C. Se presentó mayor afinidad por dopamina hidroclicada con una Km aparente de 0.477 mM y 0.801 mM para piel y pulpa, respectivamente. La PPO resultó ser moderadamente sensible a la temperatura y no se encontró diferencia en la estabilidad térmica de la piel y pulpa.

2 La actividad máxima de Peroxidasa en extractos crudos en piel de mango 'Manila' se obtuvo a pH 5.0 y 60° C y en pulpa fue obtenida a pH 5.0 y 30° C. Se presentó mayor afinidad por *p*-Fenilendiamina con una Km aparente de 16.37 mM y 7.41 mM para piel y pulpa, respectivamente. La POD de la piel resultó ser más estable térmicamente que la de la pulpa.

3 Las bajas temperaturas de almacenamiento afectaron de manera diferente el comportamiento fisiológico de las tres variedades. En la variedad 'Manila' y 'Kent' se inhibió la respiración, mientras que en la variedad 'Keitt' se aceleró al ser transferidos a temperatura de 20° C.

4 Las bajas temperaturas de almacenamiento no tienen un efecto en los parámetros de calidad (pH, acidez, sólidos solubles y firmeza), únicamente en el porcentaje de pérdida de peso y en el color.

5 Las variedades 'Keitt' y 'Kent' presentaron una concentración de compuestos fenólicos 100 veces mayor en la piel, que en la pulpa. Estos se incrementaron después de la exposición a bajas temperaturas y presentaron relación los síntomas de daño por frío.

La intensidad de los síntomas de daño por frío está relacionado con los cambios en la actividad de PPO y el contenido de fenoles totales en la piel de las diferentes variedades de mango.

Las bajas temperaturas de almacenamiento no presentaron un efecto en la actividad de la POD de piel y pulpa en los mangos de las tres variedades.

La variedad del mango es un factor importante en la susceptibilidad al desarrollo del daño por frío. Los mangos 'Keitt' presentaron mayor susceptibilidad al desarrollo del daño por frío que los 'Kent' y por último se encuentran los 'Manila'.

7. RECOMENDACIONES.

Con base a los resultados obtenidos se recomienda:

1. Estudiar la susceptibilidad al frío en otras variedades de mangos cultivados en México como, 'Ataulfo', 'Haden', 'Criollo' y 'Tommy Atkins', para establecer la tolerancia al almacenamiento a bajas temperaturas y de esta manera ayudar a evitar posibles pérdidas postcosecha.

2. Desarrollar y aplicar nuevas tecnologías postcosecha como, las atmósferas controladas y modificadas, tratamientos térmicos, tratamientos hormonales (aplicación exógena de poliaminas, etileno, metil jasmonato) y radiaciones no ionizantes (UV-C) que permitan modificar la respuesta de frutos sensibles a las bajas temperaturas y aplicar estos, como métodos alternativos para el control de los daños por frío en mangos.

3. Retomar los resultados fisiológicos y bioquímicos como base para aplicarlo en crear tecnologías que permitan desarrollar nuevas especies resistentes a las bajas temperaturas, utilizando técnicas del área de biología molecular.

4. Estudiar el efecto de las bajas temperaturas en la actividad de otras enzimas, tales como la fenilamonoliase (PAL), ACCoxidasa, ACCsintasa, poligalacturonasa y β -galactosidasa que posiblemente están relacionadas con el desarrollo de los síntomas de daño por frío en mangos.

5. Identificar las diferentes isoenzimas de PPO y POD presentes en el mango para así comprender más a fondo el comportamiento estas enzimas, durante las reacciones de oscurecimiento de tejidos en mangos que presentan síntomas de daños por frío.

6. Identificar los diferentes compuestos fenólicos y aminos presentes en el mango para establecer el tipo de actividad que presentan las oxido-reductasas relacionadas con el daño por frío.



8. REFERENCIAS.

- Adams, D.O. y Yang, S.F. [1979]. Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acids and intermediate in the conversions of methionine to ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **76**: 170-174.
- Ali, Z.M., Chin, L.H. y Lazan, H. [2004]. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Science*, **167**: 317-327.
- AOAC [1990]. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists AOAC, food composition; additives; natural contaminants, Volumen II, publicado por the association of official analytical chemist, inc. Arlington, Virginia, USA, 15ª ed, pp.1298.
- Arogba, S.S., Ajiboye, O.L., Ugboko, L.A., Essinete, S.Y. y Afolabi, P.O. [1998]. Properties of polyphenol oxidase in mango (*Mangifera indica*) kernel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **77**: 459-462.
- Ashraf, M., Khan, N., Ahmad, M. y Elahi, M. [1981]. Studies on Pectinesterase activity and some chemical constituents of some Pakistani mango varieties during storage ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **29**: 526-528.
- Barret, D.M., Lee, C.Y. y Liu, F.W. [1991]. Changes in the activity and subcellular distribution of PPO in 'Delicious' apples during controlled atmosphere storage. *Journal of Food Biochemistry*, **15**: 185-199.
- Billot, J. [2002]. El pardeamiento enzimático, en: *Tecnología de las Hortalizas*. Tirill Y.I. y Bourgeois, C.M, (eds.) Editorial ACRIBIA. pp. 233-257.
- Bordeu, S.E. y Scarpa, B-B.J. [1998]. *Análisis Químico del vino*. Textos universitarios, Facultad de agronomía, Ediciones U. Católica de Chile, Santiago de Chile, pp. 253.
- Braverman, J.B.S. [1967]. *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. Ediciones Omega S.A., Barcelona, España. pp. 355.
- Brinson, K., Dey, P.M., John, M.A. y Pridham, J. [1988]. Post-harvest changes in *Mangifera indica* mesocarp cell walls and cytoplasmic polysaccharides. *Phytochemistry*, **27**: 719-723.
- Campbell, R.J. [1992]. St Carlos Brand Fruits & Vegetables. Disponible en: www.stcarlos.ca/mangos.htm



- Cano, M.P.D., Marín, M.A. y Fúster, C. (1997). Differences among Spanish and Latin American banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. *Food Chemistry*, **59**: 411-419.
- Cheftel, J.C. y Cheftel, H. (1992). *Pardeamiento enzimático en Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los alimentos*. Vol. I, Editorial ACRIBIA, España, pp. 331.
- Chhatpar, H.S., Matoo, A.K. y Modi, V.V. (1971). Biochemical studies on chilling injury in mangoes. *Phytochemistry*, **10**: 1007-1009.
- Claridades Agropecuarias (1996), No. 31, Marzo. Disponible en: www.infoaserca.gob.mx
- Couey, H.M. (1982). Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. *Hortscience*, **17**: 162-165.
- Crane, J.H. (2000). Mango Crop Production. en: *The Mango Botany, Production and Uses*, Litz, R.E. (ed.), CAB International, USA, pp. 587.
- Dave's Garden. (2004), Mango. Disponible en : <http://plantsdatabase.com>
- De Pieri, T.E., Tomé, T.C. y Clemente, E. (2003). Peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) in grape (*Vitis vinifera* L.). *Cienc. Agrotec. Lavras, France*, **27**: 635-642.
- Díaz-Sobac, R., De la Cruz, J., Vázquez-Luna, A., Berinstain, C.I. y García, H.S. (1997). Evaluation of softening and associated enzyme activities during the ripening of coated 'Manila' mangoes. *Journal of Horticultural Science*, **72**: 749-753.
- Dincer, B., Colak, A., Aydin, N., Kadioglu, A. y Guner, S. (2002). Characterization of polyphenoloxidases from medlar fruits (*Mespilus germanica* L., Rosaceae). *Food Chemistry*, **77**: 1-7.
- DPIF Queensland Australia. (2004). Department of Primary Industries and Fisheries, State of Queensland. Disponible en: <http://dpi.qld.gov.au/horticulture>
- Doreyappa-Gowda, I.N. y Huddar, A.G. (2001). Studies on ripening changes in mango (*Mangifera indica* L.) fruits. *Journal of Food Science and Technology*, **38**: 135-137.
- Espín, J.C., Trujano, M.F., Tudela, J. y García-Canovas F. (1997). Monophenolase activity of polyphenol oxidase from Hass avocado. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 1091-1096.
- Fennema, O.R. (2000). *Química de los Alimentos*. Editorial ACRIBIA, 2da. Edición, Zaragoza, España. pp.1258.

- Flores-Gutierrez, A.A. (2000). *Manejo Postcosecha de frutas y hortalizas en Venezuela*. 2ª Edición, UNELLEZ, Universidad de la siembra, Venezuela. pp.224.
- Food and Agricultural Organization (2005). Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de Mango. Disponible en: [www.fao.org](http://apps.fao.org/faostat)
<http://apps.fao.org/faostat>
- Frylinck, L., Dubery, I.A. y Schabort, J.C. (1987). Biochemical changes involved in stress response and ripening behavior of γ -irradiated mango fruit. *Phytochemistry*, **26**: 681-686.
- Galán-Sauco, V. (1990). Mango en : *Los Frutales Tropicales en los Subtrópicos*, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, pp. 59-93.
- Galán-Sauco, V. (1999). *El Cultivo del Mango*, Ediciones Mundi-Prensa, Barcelona, España, pp. 298.
- Gómez-Lim, M.A. (2000). Postharvest Physiology. En: *The Mango Botany, Production and Uses*. Litz, R. E. (ed.), CAB International, USA, pp. 587.
- González-Aguilar, G.A., Buta, J.G. y Wang, C.Y. (2001a). Methyl jasmonate reduces chilling injury symptoms and enhances colour development of 'Kent' mangoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**: 1244-1249.
- González-Aguilar, G.A., Wang, C.Y., Buta, J.G. y Krizek, D.T. (2001b). Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe 'Tommy Atkins' mangoes. *International Journal of Food Science and Technology*, **36**: 767-773.
- Gooding, P.S., Bird, C. y Robinson, S.P. (2001). Molecular cloning and characterization of banana fruit polyphenol oxidase. *Planta*, **213**: 748-757.
- Guadarrama, A. y Rivas, N. (1995). Purificación y caracterización de la enzima polifenol oxidasa del Ocumo (*Xanthosoma sagittifolium*). *Revista Facultad de Agronomía (Maracay)*, **16**: 65-86.
- Hobson, G.E. (1993). Maduración del fruto, en : *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Azcon-Bieto (ed.), J. Interamericana Mcgrawhill. España, pp. 463-478.
- I.M.B. (2004). International Marine Bureau, S.L., Castelldefels- Barcelona, España, Mango, en: Diseases y disorders of fruits. Disponible en: <http://imbbcn.com/diseases>
- Jagtiani, J., Chan, H.T. y Sakai, W. (1988) *Tropical fruit processing*. Academic Press Inc. New York EUA, pp. 45-104.



- Kane, O., Boulet, M. y Castaigne, F. (1982). Effect of chilling-injury on texture and fungal rot mangoes (*Mangifera indica* L.). *Journal of Food Science*, **47**: 992-995.
- Katwa, L.C., Ramakrishna, M. y Raghavendra-Rao, M.R. (1982). Purification and Properties of polyphenol oxidase from mango peel (*Mangifera indica* var. Raspuri). *Journal of Food Biochemistry*, **6**: 217-228.
- Ketsa, S., Chidtragool, S., Klein, J.D. y Lurie, S. (1999a). Firmness, pectin components and cell wall hydrolases of mango fruit following low-temperature stress. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **74**: 685-689.
- Ketsa, S., Phakawatmongkol, W. y Subhadrabhandhu, S. (1999b). Peel enzymatic activity and colour changes in ripening mango fruit. *Journal of plant Physiology*, **154**: 363-366.
- Krishnamurthy, S. y Joshi, S.S. (1989). Studies on low temperature storage of Alphonso mango. *Journal of the Food Science and Technology*, **26**: 177-180.
- Krishnamurthy, S., Patwardhan, M.V. y Subramanyam, H. (1971). Biochemical changes during ripening of the mango fruit. *Phytochemistry*, **10**: 2577-2581.
- Kudachikar, V.B., Kulkarni, S.G., Aradhya, S.M., Aravinda-Prasad, B. y Ramana, K.V.R. (2003). Physico-chemical changes in mango (*Mangifera indica* L.) varieties 'Alphonso' and 'Raspuri' during fruit development and maturation. *Journal of the Food Science and Technology*, **40**: 285-289.
- Lakshimnarayana, S. y Subramanyam, H. (1970). Carbón dioxide injury and fermentative decarboxylation un mango fruti at low temperature. *Journal of the Food Science and Technology*, **7**: 148-152.
- Lamúa, S.M. (2000). *Aplicación del frío a los alimentos*. AMV Ediciones Mundi Prensa, España, pp. 350.
- Lee, C.Y., Kagan, V., Jaworski, A.W. y Brown, S.K. (1990). Enzymatic browning in relation to phenolic compounds and polyphenoloxidase activity among various peach cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **38**: 99-101.
- Lineweaver, H. y Burk, D. (1934). The determination of enzyme dissociation constant. *Journal of American Chemical Society*, **56**: 658-661.
- Lizada, C. (1993). Mango en: *Biochemistry of fruit ripening*. Seymour, J.G.(Ed.) Chapman y May, Londres, pp. 255-271.
- López-Munguía, C.A. (1987). *Tecnología enzimática, aplicaciones en alimentos y medicina*. 1ª Edición, UNAM, México. pp. 173.



- Lourenco, E.J., Neves, V.A. y Silva, M.A.D. [1992]. Polyphenol oxidase from sweet potato; Purification and properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**: 2369-2373.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., y Randall, R.J. [1951]. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, **193**: 265-275.
- Mango Information Network. (MIN). [2003]. Disponible en: <http://www.min.pcardd.dost.gov.ph/pest/fruit/pest-fruit.htm>
- Marshall, M.R., Kim, J. y Wei, C.I. [2000]. *Enzymatic Browning in fruits, vegetables and seafood*. Edit. FAO. Disponible en: www.fao.org/ag/agsi/EnzymeFinal
- Martínez-Tellez, M.A. y Lafuente, M.T. [1993]. Chilling-induced changes in phenylalanine ammonia lyase, preoxidase and polyphenol oxidase activities in citrus flavedo tissue. *Acta Horticulturae*, **343**: 257-263.
- McCollum, T.G., D'Aquino, S. y Mc Donald, R.E. [1993]. Heat treatment inhibits mango chilling injury. *HortScience*, **28**: 197-198.
- McGuire, R.G. [1992]. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, **27**: 1254-1255.
- Medlicott, A.P. y Thompson, A. K. [1985]. Analysis of sugars and organic acids in ripening mango fruits (*Mangifera indica* L. var Keitt) by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **36**: 561-566.
- Medlicott, A.P., Bhogal, M. y Reynolds, S.B. [1986a]. Changes in peel pigmentation during ripening of mango fruit (*Mangifera indica* var. Tommy Atkins). *Annals of Applied Biology*, **109**: 651-656.
- Medlicott, A.P., Reynolds, S.B. y Thompson, A.K. [1986b]. Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **37**: 469-474.
- Medlicott, A.P., Sigrist, J.M.M. y Sy, O. [1990]. Ripening of mangos fruit following low-temperature storage. *Journal of the American Society of the Horticultural Science*, **115**: 430-434.
- Mika, A. y Luthje, S. [2003]. Properties of guayacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. *Plant Physiology*, **132**: 1489-1498.
- Miller, G.L. [1959]. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, **31**: 426-428.

- Mitcham, E.J. y McDonald, R.E. [1992]. Cell wall modification during ripening of 'Keitt' and 'Tommy Atkins' mango fruit. *Journal of the American Society of the Horticultural Science*, **117**: 919-924.
- Mitra, S.K. y Baldwin, E.A. [1997]. Mango. en: *Postharvest Physiology and storage of Tropical and subtropical fruit*, Mitra, S.K. [ed.], CAB International, pp. 85-120.
- Mohammed, M., y Brecht, J.K. [2002]. Reduction of chilling injury in 'Tommy Atkins' mangoes during ripening. *Scientia Horticulturae*, **95**: 297-308.
- Mukherjee, S.K. [2000]. Mango botany and importance. En: *The Mango Botany, Production and Uses*. Litz, R.E. [ed.], CAB International, USA, pp. 1-25.
- Nair, S. y Singh, Z. [2004]. Chilling injury in mango fruit in relation to biosynthesis of free polyamines. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **79**: 515-522.
- Nair, S., Singh, Z. y Tan, S.C. [2004]. Chilling injury in relation to ethylene biosynthesis in 'Kensington Pride' mango fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **79**: 82-89.
- Pantastico, E.R.B. [1987]. *Fisiología de la posrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales*. C.E.C.S.A., México, pp. 663.
- Park, K.Y., Sato, H.H., Almeida, D.T. y Morett, H.R. [1980]. Polyphenol oxidase of mango (*Mangifera indica* var., Haden). *Journal of Food Science*, **45**: 1619-1621.
- Parkin, K.L., Marangoni, A., Jackman, R.L., Yada, R.Y. y Stanley, D.W. [1989]. Chilling injury. A review of possible mechanisms. *Journal of Food Biochemistry*, **13**: 127-153.
- Paull, R.E. [1990]. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. en: *Chilling injury of horticultural crops*, Wang, C.Y. [ed.] Boca Raton, Fl, USA: CRC Press, pp.17-36.
- Pearson D. [1986]. *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Editorial ACRIBIA, España, pp. 320.
- Perez-Tello, O.G., Espinosa S., Arispuro, V.I., Briceño, T.B.O y Martínez, T.M.A. [2001]. Effect of temperature on enzymatic and physiological factors related to chilling injury in carambola fruit [*Averrhoa carambola*, L]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **287**: 846-841.
- Pesis, E., Aharoni, D., Aarón, Z., Ben-Arie, R. y Aharoni, N. [2000]. Modified atmosphere and modified humidity packaging alleviates chilling injury symptoms in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*, **19**: 93-101.



- Pine Island Nursery tropical fruits, (2003). Mango. Disponible en: www.tropicalfruitnursery.com/mango-viewer/
- Ploetz, R.C. (2003). Diseases of mango. en: *Diseases of Tropical Fruits Crops*, CABI Publishing, CAB international, UK, USA, pp. 327-363.
- Prasanna, V., Yashoda, H.M., Prabha, T.N. y Tharanathan, R.N. (2003). Pectic polysaccharides during ripening of mango (*Mangifera indica*. L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**: 1182-1186.
- Primo Y.E. (1998). *Química de los alimentos*. Editorial Síntesis, España, pp. 461.
- Proexant, corporación. (1993). Promoción de exportaciones agrícolas no tradicionales, hojas técnicas, Mango. Disponible en: http://www.proexant.org.ec/HT_Mango.html
- Richard-Forget, F.C. y Guillard, F.A. (1997). Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear [*Pyrus communis* cv Williams] polyphenol oxidase and peroxidase: a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 2472-2476.
- Robinson, P.S., Loveys, B.R., Chacko, E.K. (1993). Polyphenol oxidase enzymes in the sap and skin of mango fruit. *Australian Journal of Plant Physiology*, **20**: 99-107.
- Roe, B. y Bruemmer, J.H. (1981). Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of 'Keitt' mangoes. *Journal of Food Science*, **46**:185-189.
- Saby, J.K., Bhat, S.G. y Prasada, R.J.S. (2002). Involvement of peroxidase and polyphenol oxidase in mango sap-injury. *Journal of Food Biochemistry*, **26**: 403-414.
- Saby, J.K., Bhat, S.G. y Prasada, R.J.S. (2003). Biochemical characterization of sap (latex) of few Indian mangoes varieties. *Phytochemistry*, **62**:13-19.
- Sakharov, Y.I., Bautista, A.G., Sakharova, V.I., Rojas, A. Y Pletjuschkina, Y.O. (1999). Peroxidasa de plantas tropicales. *Revista colombiana de química*, **28**: 45-60.
- Sakiroglu, H., Küfrevioglu, D.I., Kocacaliskan, I., Oktay, M. y Onganer, Y. (1996). Purification and characterization of Dog-rose (*Rosa dumalis* Rechst.) polyphenol oxidase. *Journal of agricultural and food chemistry*, **44**: 2982-2986.
- Saltveit, M.E. Jr. y Morris, L.L. (1990). Overview on chilling injury of horticultural crops. en: *Chilling injury of horticultural crops*, Wang, C.Y. (ed.), Boca Raton, FL, USA: CRC Press, pp. 3-15.

- Salunkhe, D.K. y Desai, B.B. (1984). Mango, en: *Postharvest Biotechnology of Fruits*. Vol. I, Chapter 6, C.R.C. Press INC. Boca Raton, Florida, pp. 77-94.
- Selvaraj, Y. Kumar, R. (1989). Studies on fruit softening enzymes and polyphenol oxidase activity in ripening mango [*Mangifera indica* L.] fruit. *Journal of Food Science and Technology*, **26**: 218-222.
- Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera SIAP, SIACON, SAGARPA (2004). Consulta de Indicadores de Producción Nacional y Márgenes de Comercialización de Mango [2003]. Disponible en : www.siap.sagarpa.gob.mx
- Shaw, P.E., Chang Jr, H.T. y Nagy, S. (1998). Mango, en: *Tropical and Subtropical Fruits*, A.G. Science Inc., USA, pp. 1-77.
- Shivashankara, K.S., Seiichiro, I., Al-Haq, M.I., Takenaka, M. y Shiina, T. (2004). Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin, and carotene of Irwin mango fruits stored at low temperature after high electric field pretreatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, **52**: 1281-1286.
- Singh, U.P., Singh, D.P., Singh, M., Maurya, S., Srivastava, R.S., Singh, R.B. y Singh, S.P. (2004). Characterization of phenolic compounds in some Indian mango cultivars. *International Journal of Food Science and Nutrition*, **55**: 163-169.
- Slinkard, K., Singlento, V.L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, **28**: 49-55.
- South African mangoes on line. (2003). Mango 'Sensation'. Disponible en: <http://www.mango.co.za/moreabout/sensation>
- Thomas, P. y Oke, M.S. (1983). Improvement in quality and storage of 'Alphonso' mangoes by cold adaptation. *Scientia Horticulturae*, **19**: 257-262.
- Tirill Y.I. y Bourgeois, C.M. (2002). *Tecnología de las Hortalizas*. Editorial ACRIBIA. pp. 591.
- Tomás-Barberán, F. y Espín, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**: 853-876.
- Toraskar, M.V. y Modi, V.V. (1984). Peroxidase and Chilling Injury in Banana Fruit. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **32**: 1352-1354.
- Vámos-Vigyázó, L. (1981). Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Critical Review of Food Science and Nutrition*, **15**: 49-127.

- Vela, G., León, D.M., García, H.S. y De la Cruz, J. (2003). Polyphenoloxidase activity during ripening and chilling stress in "Manila" mangoes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **78**: 104-107.
- Velasco, J. (2003). *Crece 9.6 por ciento exportación de mango*, Reforma, negocios, 27 de octubre. Disponible en: www.méxico.gob.mx
- Wang, C.Y. (1982). Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. *HortScience*, **17**: 173-86.
- Wang, C.Y. (1994). Chilling injury of tropical horticultural commodities. *HortScience*, **29**: 986-988.
- Wiley, R.C. (1997). *Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas*. Editorial ACRIBIA, España. pp. 362.
- Willemot, C. (2002). Incidencia fisiológica de la conservación en frío. En: *Tecnología de las Hortalizas*. Tirill Y.I. y Bourgeois, C.M, (eds.) Editorial ACRIBIA, pp. 297-311.
- Wills, H.H.R., Lee, H.T., Mcglasson, B.W., Hall, G.H. y Graham, D. (1989). *Fisiología y manipulación de frutas y hortalizas post-recolección*. Editorial ACRIBIA, Zaragoza España, pp. 195.
- Yahia, E.M. y Flores-Araiza, R.G. (2001). Tratamientos físicos en poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Horticultura*, **160**: 80-88.
- Yoruk, R. y Marshall, M.R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *Journal of Food Biochemistry*, **27**: 361-422.
- Zauberman, G., Fuchs, Y., Rot, I. y Wexler, A. (1988). Chilling injury, peroxidases and cellulase activities in the peel of mango fruit at low temperature. *HortScience*, **23**: 732-733.
- Zhu, S., Ji, Z., Lu, W. y Zhang, Z. (2003). The link between heat-induced polypeptides and chilling tolerance in mangoes (*Mangifera indica* L), with evidence from the same fruit partially heated. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **78**: 523-527.

ABREVIATURAS.

AC = Atmósferas controladas.
ACC = 1-aminociclopropano-1-carboxílico.
AIA = Ácido indol acético.
AM = Atmósferas modificadas.
ATP = Adenosintrifosfato.
AVG = Aminoetoxivinilglicina.
BSA = Albúmina de suero bovino.
DAB = 3-amino-9-etilcarbazol, 3,3'-diaminobencidina tetraclorada.
DIECA = Dietilditiocarbamato de sodio.
DOPA = Dopamina.
E₁ = Preclimaterio.
E₂ = Inicio del climaterio.
E₃ = Máximo climaterio.
E₄ = Post climaterio.
EDTA = Ácido etilendinitrilo tetra acético.
IDF = Índice de daño por frío.
ND = No determinado.
PAL = Fenilamonio liasa.
PEP = Fosfoenol piruvato.
PF = Peso fresco.
POD = Peroxidasa.
PPO = Polifenol oxidasa.
SAM = S-adenosil-metionina.

