



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“EFECTO DE BAJAS TEMPERATURAS EN EL PARDEAMIENTO
ENZIMÁTICO Y DAÑOS POR FRÍO EN: GUAYABA, CHAMPIÑÓN,
CHILE MANZANO Y NOPAL”.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

CLAUDIA ELIZABETH ROSADO RIVAS

ASESORA: DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2014



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
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efecto de bajas temperaturas en el pardeamiento enzimático y daños por frío en: guayaba, champiñón, chile manzano y nopal

Que presenta la pasante: Claudia Elizabeth Rosado Rivas
Con número de cuenta: 406098546 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 ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 30 de septiembre de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
2do. SUPLENTE	IA. Alberto Solís Díaz	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HHA/iac



DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

JEHOVA/ YOSHUA יהוה/ YEHOSHUA יהושוע, te doy gracias señor por permitirme seguir adelante, darme las fuerzas para no desistir y tener a mi lado a mis padres, hermanos, abuelito y a mí tío.

A mis padres:

CLAUDIA RIVAS LEZAMA Y ROLANDO ALBERTO ROSADO CANÚL

Con todo mi amor, pasión y dedicación, les agradezco infinitamente a mis queridos padres, por brindarme su apoyo incondicional y la oportunidad de seguir estudiando, GRACIAS. Soy yo quien se enorgullece en tenerlos como ejemplo y que ustedes sean los primeros en aprobar todo lo que yo he realizado hasta ahora, que dios los llene de bendiciones.

MAMÁ: Gracias por estar conmigo en todo momento, alentándome, escuchando cuando más lo necesitaba, gracias te doy por darme la confianza, creer en mí, tú me motivas, eres una gran mujer, pilar y fortaleza de la casa, madre hermosa, amorosa, cariñosa, fuerte y tenaz, difícil de vencer eres única y especial, gracias por ser mi madre y amiga *“doña clau”*. Que el señor te bendiga y llene de salud, te quiero, admiró y respeto mucho mamá.

PAPÁ(yuum): Gracias por creer en mí, por ser el pilar y el sostén de la casa, por ser ese gran hombre trabajador, luchador, fuerte, responsable y audaz, eres el ejemplo de que todo se puede hacer aunque no se tengan los medios y a pesar de las circunstancias en las que uno se encuentre; gracias *“don rolas”*, por sacarnos adelante, gracias (dyos bo’otik) Papá. Te quiero, admiró y respeto mucho, que el señor te bendiga y llene de salud.

A mi abuelito, Antolín Rivas Mena: gracias por sus pláticas, *“abue”*, sus consejos, es admirable todo lo que sabe hacer, su ingenio, creatividad y todo lo que nos ha hecho para nuestra utilidad, lo quiero mucho.

A mis hermanos: Sarahi Andrea, María del rosario y Alberto francisco Rosado Rivas, gracias por escucharme en todo momento, de hacerme reír, gracias por ser más que hermanos, mis mejores amigos, de ustedes aprendí a no caer cuando las cosas no van bien a mirar de frente, nunca hacia atrás y seguir adelante. GRACIAS por su apoyo para poder concluir con esta tesis.

A mi tío, Martin Rivas Lezama: gracias por apoyarnos, y si hemos de festejar como familia triunfos o fracasos será contigo siempre, tío.

A mi profesora y Asesora: DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ por su apoyo, dedicación y paciencia, brindada a este pequeño trabajo.

A los sinodales por dedicar su tiempo en la revisión y discusión del presente trabajo.

A la UNAM, FES- CUAUTITLÁN y al CAT, institución que me dio la oportunidad de estar en sus aulas y ser parte de esta gran comunidad. GRACIAS.

A mi amigo: MORGAN, gracias por haber estar a mi lado, sentado frente a la puerta cuidándome, aunque ya no estés con nosotros siempre te recordaremos.



Índice

Resumen	1
1. Introducción.....	3
2. Antecedentes	5
2.1 Generalidades de frutas y hortalizas.....	5
2.1.1 Guayaba	5
2.1.2 Chile manzano	9
2.1.3 Champiñón.....	12
2.1.4 Nopal.....	15
2.2 Procesos de Maduración y senescencia en frutas y hortalizas.....	19
2.2.1 Respiración	20
2.2.2 Compuestos fenólicos.....	20
2.3 Pérdidas Postcosecha	21
2.3.1 Desórdenes Fisiológicos	21
2.3.2 Daños por frío (DF)	21
2.4 Pardeamiento Enzimático	23
2.4.1 Descompartimiento celular.....	24
2.4.2 Reacción del pardeamiento enzimático	24
2.4.3 Enzimas de Oxidación.....	26
2.4.4 El papel de la polifenoloxidasa (PPO) y peroxidasa (PDO) en frutos y vegetales..	29
2.4.5 Color	30
2.5 Almacenamiento postcosecha.....	30
2.5.1 Tratamientos y métodos de conservación.....	31
2.5.2 Refrigeración “bajas temperaturas”.....	32
2.6 Condiciones para almacenamiento en frío.....	32
3. Objetivos	33
3.1 objetivo general:	33
3.2 objetivos particulares:	33
4. Materiales y métodos	34
4.1 Secuencia metodológica.	34
4.2 Material biológico.....	36
4.3 Tratamiento de la muestra.....	36
4.4 Evaluación del efecto del almacenamiento a bajas temperaturas en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.....	37
4.4.1 Establecimiento de las condiciones de temperatura, para el almacenamiento en frío de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.....	37
4.5 Determinación de la Actividad de PPO y PDO	38
4.5.1 Selección de condiciones óptimas para evaluar la actividad de las enzimas PPO y PDO.....	38
4.6 Evaluación de la relación de las actividades enzimáticas PPO y PDO con los síntomas de daño por frío e índice de color que se desarrolla en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón almacenados a diferentes temperaturas.....	39
4.7 Métodos analíticos	39
4.7.1 Parámetros químicos.....	39



4.7.2	Parámetros de calidad	39
4.7.3	Parámetros fisiológicos.....	41
4.7.4	Parámetros bioquímicos.....	42
4.7.5	Análisis estadístico	43
5.	Resultados y discusión	45
5.1	Selección de los parámetros adecuados para la medida de actividad enzimática polifenoloxidasasa (PPO) y peroxidasa (PDO).	45
5.1.1	Parámetros óptimos para la actividad de la enzima polifenoloxidasasa (PPO).	45
5.1.2	Parámetros óptimos para la actividad de la enzima peroxidasa (PDO).....	55
5.1.3	Selección de los parámetros adecuados para la medida de actividad enzimática; polifenoloxidasasa (PPO) y peroxidasa (PDO).	62
5.2	Efecto del almacenamiento a bajas temperaturas en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.	62
5.2.1	Efecto en los parámetros de calidad	63
5.2.2	Efecto de los parámetros fisiológicos	82
5.2.3	Efecto en los parámetros bioquímicos.....	89
5.3	Relación de los cambios de color y actividad enzimática en frutos (guayaba) y hortalizas (chile manzano, nopal y champiñón) almacenados a bajas temperaturas. .	96
5.4	Relación de los cambios de color e Índice de daño por frío en frutos (guayaba) y hortalizas (chile manzano, nopal y champiñón) almacenados a bajas temperaturas..	98
6.	Conclusión.....	101
7.	Recomendaciones	103
8.	Referencias.....	104



Índice de figuras

Figura 1. Guayaba	5
Figura 2. Producción de guayaba en México en el 2012.....	9
Figura 3. Chile manzano	9
Figura 4. Producción (Ton) de chile manzano en México en el 2012.....	12
Figura 5. Champiñón.....	12
Figura 6. Producción de Hongos silvestres de todas las especies.	15
Figura 7. Nopal.....	15
Figura 8. Producción de Nopal, clasificada por principales estados productores.	18
Figura 9. Estructura del etileno.	19
Figura 10. Estructura química del fenol.	20
Figura 11. Síntomas visibles del daño por frío en frutas y hortalizas sensibles a bajas temperaturas.....	22
Figura 12. Etapas del pardeamiento enzimático.....	26
Figura 13. Reacción de la peroxidasa (PDO).....	27
Figura 14. Mecanismo que describe la reacción catalizada por polifenoloxidasas (PPO).	28
Figura 15. Reacción generalizada de la (PPO) en plantas.....	28
Figura 16. Geometría de los centros activos de la polifenoloxidasas (PPO).	29
Figura 17. Cuadro metodológico.....	35
Figura 18. Frutas y hortalizas utilizadas como material biológico.....	36
Figura 19. Espectrofotómetro.....	39
Figura 20. Balanza semianalítica utilizada para la determinación de la pérdida de peso	40
Figura 21. Colorímetro	40
Figura 22. (A) Sistema cerrado con fruto adentro, (B) Analizador de CO ₂ utilizado para medir la intensidad respiratoria.	42
Figura 23. Efecto de la temperatura sobre la actividad específica de la polifenoloxidasas en extractos crudos de (A) Guayaba, (B) Chile manzano, (C) Nopal y (D) Champiñón.....	47
Figura 24. Efecto de la concentración de dopamina hidroclicorada (0.010, 0.04, 0.07, 0.1, 0.15M), sobre la actividad específica de la polifenoloxidasas (PPO), en extractos crudos de (A) guayaba, (B) chile manzano, (C) nopal y (D) champiñón..	53
Figura 25. Efecto de la temperatura sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO), en extractos crudos de (A) guayaba, (B) Nopal y (C) Champiñón.....	56
Figura 26. Efecto de la concentración de <i>p-fenilendiamina</i> (0.010, 0.04, 0.07, 0.1, 0.15M), sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO), en extractos crudos de (A) de guayaba (B) Nopal y (C) Champiñón.....	61
Figura 27. Efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento a 4 y 10±1°C, sobre el porcentaje de pérdida de peso en (A) guayaba, (B) chile manzano (C) nopal y (D) champiñón durante 20 días..	65
Figura 28. Efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento a 4 y 10±1°C, sobre el Índice de color en (A) Guayaba y (B) Chile Manzano, (C) nopal y (D) champiñón durante 20 días.....	70



Figura 29. Índice de daños por frío (IDF) en frutos de guayaba almacenada a 4 y 10±1°C, durante 20 días.	75
Figura 30. Índice de daños por frío (IDF) en frutos de (A) chile manzano almacenado a 4 y 10±1°C, durante 25 días.	77
Figura 31. Índice de daños por frío (IDF) en (A) nopal almacenado a 4 y 10±1°C, durante 20 días.	79
Figura 32. Índice de daños por frío (IDF) en (A) champiñón almacenado a 4±1°C durante 20 días.	81
Figura 33. Cambios en la respiración de guayabas, expuestas a diferentes temperaturas de almacenamiento 4 y 10±1°C; durante 20 días.	85
Figura 34. Cambios en la respiración de (A) Chile manzano, (B) nopal y (C) champiñón) expuestos a diferentes temperaturas de Almacenamiento; 4, 10 y 25±1°C durante 20 días.	87
Figura 35. Actividad de la polifenoloxidasas (PPO) en Guayaba almacenadas a bajas temperaturas 4 y 10±1°C, durante 20 días.	90
Figura 36. Actividad de la PPO en (A) chile manzano, (B) nopal y (C) champiñón, almacenados a bajas temperaturas 4, 10 y 25±1°C, durante 20 días.	91
Figura 37. Actividad de la Peroxidasas (PDO) en (A) Guayaba, (B) Nopal y (C) Champiñón almacenados a bajas temperaturas 4, 10 y el control a 25±1°C, durante 20 días.	94



Índice de tablas

Tabla 1. Variedades de guayaba.....	6
Tabla 2. Valor nutritivo de la guayaba en estudio.....	8
Tabla 3. Variedades del chile manzano.....	10
Tabla 4. Valor nutritivo del chile manzano en estudio.....	11
Tabla 5. Variedades del champiñón.....	13
Tabla 6. Valor nutritivo del champiñón en estudio.....	14
Tabla 7. Variedades del nopal.....	16
Tabla 8. Valor nutritivo del nopal en estudio.....	17
Tabla 9. Aspectos generales de la reacción del oscurecimiento.....	25
Tabla 10. Principales tratamientos postcosecha aplicados a frutas y hortalizas.....	31
Tabla 11. Principales Métodos denominados no-térmicos utilizados, en Frutas y Hortalizas..	32
Tabla 12. Temperaturas de almacén para las frutas y hortalizas en estudio.....	32
Tabla 13. Calidad inicial de los productos vegetales en estudio.....	36
Tabla 14. Diseño experimental 1. (Distribución de lotes).....	37
Tabla 15. Escala numérica que describe la intensidad del daño por frío, basada en observaciones visuales externas de los frutos.....	41
Tabla 16. Condiciones de la mezcla de reacción para determinar la actividad de (PPO) y (PDO).....	43
Tabla 17. Condiciones experimentales para determinar la actividad enzimática de (PPO) Y (PDO).....	43
Tabla 18. Efecto del pH del Buffer (5.5, 5.7, 6, 6.5 y 7) sobre la actividad específica de la polifenoloxidasas en extractos crudos de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.....	49
Tabla 19. Efecto del tipo de sustrato catecol y dopamina, sobre la actividad específica de la polifenoloxidasas (PPO) en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.....	51
Tabla 20. Efecto del pH del Buffer (5.5, 5.7, 6, 6.5 y 7) sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO) en extractos crudos de guayaba, nopal y champiñón.....	57
Tabla 21. Efecto del tipo de sustrato <i>p-fenilendiamina</i> , guayacol y resorcinol, sobre la actividad específica de la peroxidasa en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.....	59
Tabla 22. Condiciones para la enzima polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO).....	62
Tabla 23. Seguimiento visual de guayabas, almacenadas a bajas temperaturas 4 y 10°C.....	76
Tabla 24. Seguimiento visual de chile manzano, almacenado a bajas temperaturas 4 y 10°C.....	78
Tabla 25. Seguimiento visual de nopales, almacenados a bajas temperaturas 4 y 10°C.....	80
Tabla 26. Seguimiento visual de champiñones, almacenados a baja temperatura 4 y 10°C....	82
Tabla 27. Coeficientes de correlación entre Índice de color (IC) y actividades enzimáticas de peroxidasa y polifenoloxidasas.....	96
Tabla 28. Coeficientes de correlación entre Índice de daño por frío y actividad enzimática de peroxidasa y polifenoloxidasas.....	99



RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento sobre la actividad de enzimas responsables del pardeamiento enzimático (polifenoloxidasas y peroxidasa) en frutas; (guayaba) y hortalizas; (champiñón, chile manzano y nopal) que permita establecer su relación con los síntomas de daños por frío y su tiempo de vida útil.

Para seleccionar las condiciones óptimas de actividad [pH, temperatura y tipo de sustrato] de peroxidasa (PDO) y polifenoloxidasas (PPO) se utilizó el extracto crudo de la pulpa de cada producto vegetal y se evaluó la actividad de estas enzimas por el método espectrofotométrico. En la elección de las condiciones de PPO para guayaba, nopal, champiñón y chile manzano se encontró que su actividad máxima se presentó a pH 6.5, 7, 5.7 y 6, respectivamente a la temperatura óptima de 40°C, utilizando dopamina hidroclicorada como sustrato. La actividad máxima de PDO para guayaba, y champiñón fueron encontradas a pH 6.5, y 6, respectivamente a la temperatura óptima de 40°C, mientras que para nopal fue a pH de 5.5 y 30°C; para todos los productos el sustrato utilizado fue *p-fenilendiamina*.

Posteriormente los productos vegetales se almacenaron a diferentes temperaturas de refrigeración a 4 y 10±1°C durante 20 días y se evaluaron los siguientes parámetros: la respiración, índice de color (IC), pérdida de peso (%) y la actividad enzimática de Polifenoloxidasas (PPO) y Peroxidasa (PDO), así como la relación entre las actividades de estas enzimas con los síntomas del daño por frío y el índice de color.

Los resultados se analizaron estadísticamente (relación entre variables) de acuerdo a la correlación de Pearson, encontrándose que el índice de color y la actividad de la PPO presentaron correlación significativa en guayaba, chile manzano y champiñón almacenados a 4 y 10°C, sin embargo en nopal no se registró relación significativa.



Del mismo modo se realizó el análisis considerando el índice de color y la actividad de la PDO y se encontró correlación significativa en nopal a 25°C, en champiñón a 4°C, mientras que en guayaba no se registró una correlación significativa.

Considerando el análisis estadístico realizado al índice de daño por frío y la actividad de la enzima PPO se reportó que existe una correlación significativa en guayaba almacenada a 4 y 10°C y en champiñón a 4°C, mientras que en el chile manzano y nopal no se registró una correlación.

El índice de daño por frío y la actividad de la enzima PDO registraron una correlación significativa en champiñón almacenada a 4°C, sin embargo en nopal y guayaba el efecto no es el mismo ya que no presentan diferencia significativa.



1. Introducción

Las frutas tropicales y hortalizas son productos con un consumo nacional importante, debido a sus propiedades nutritivas, sabor, color y olor (FAO, 2012). El subsector hortícola de México aporta 16% del valor de la producción agrícola con sólo el 2.7% de la superficie agrícola y 2.1% de la producción total durante el período de 2007-2010 (SAGARPA; SIACON 2010); y de acuerdo a los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), los mexicanos hemos disminuido nuestro consumo de frutas y verduras en un 30% durante los últimos 20 años (INSP, 2013).

Las estadísticas demuestran que la guayaba se puede encontrar en todos los continentes especialmente en países tropicales, la exportación de este fruto es escasa; la mayor parte es consumida en México y su producción nacional oscila entre los 722.13 ton (SIAP-SAGARPA, 2012).

Por otra parte, el nopal presenta una producción de 599,446.32 ton; mientras que el chile manzano es una alternativa para agricultores de zonas serranas que se cultivan 1,500 has. Es un cultivo muy rentable que puede cubrir fácilmente en poco tiempo los costos de inversión y se alcanzan rendimientos promedio de 20 toneladas de chile por hectárea (ha) al año. Mientras tanto, en condiciones de invernadero se llegan a obtener aproximadamente 80 toneladas de chile por ha al año (Imagen Agropecuaria, 2013).

Las técnicas de almacenamiento como: la refrigeración, atmósferas controladas y/o modificadas, e irradiación se utilizan después de la cosecha y una vez que las frutas han sido empacadas para su distribución con el propósito de ofrecer productos frescos a mercados distantes y reducir pérdidas durante su comercialización, sin embargo el almacenamiento en frío resulta ser más económico que las técnicas ya mencionadas (Parikh *et al.*, 1990). La refrigeración es uno de los métodos comúnmente usados para extender la vida útil de frutas frescas y vegetales ya que retarda los procesos metabólicos controlando los cambios postcosecha en la respiración y maduración, sin embargo uno de los problemas es la presencia de daños por frío (Castro, 2000). El inadecuado uso de la refrigeración después de la cosecha puede reducir la vida de anaquel y la calidad del fruto tropical y hortaliza (Ponce y Bózquez, 1997). Los productos tropicales como la guayaba que se desarrolla en lugares con temperaturas entre los 16 a 34°C, son propensos a desarrollar daños por frío (Kader y



Mitcham, 1994) mientras tanto; el champiñón; hongo comestible; que requiere temperaturas de 3-4°C no presenta estos desordenes fisiológicos, pero si manifiesta perdida de su calidad si este se almacena por un periodo excesivamente prolongado. Un alto porcentaje de las pérdidas post-cosecha son ocasionadas por este desorden fisiológicos y los síntomas son decoloraciones o ennegrecimiento (Martínez *et al.*, 1997). Es sabido que el grado de madurez de ciertos frutos tropicales y hortalizas ha mostrado tener efecto positivo al disminuir los síntomas de daño por frío al ser refrigerados (Chan *et al.*, 1988). El daño por frío es diferente en las distintas especies que lo padecen y representan una manifestación de los cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos producidos por la exposición a las bajas temperaturas. En frutas y hortalizas, los síntomas visibles característicos del daño por frío incluyen: exudación del tejido, decoloración interna, disfunciones de algunos procesos fisiológicos y depresiones del tejido por debajo de la piel, entre algunos parámetros usados para evaluar el daño por frío están los síntomas visuales; el efecto de encerado en frutos sensibles al frío puede ayudar a evitarlo (Cuenca Rural, 2013).

Existe escasa información técnica que sustente el empleo adecuado de la temperatura y tiempo de almacenamiento refrigerado, uno de los mayores problemas en la calidad es el pardeamiento enzimático; hay una relación directa entre enzimas que causan oscurecimiento del fruto tropical y hortaliza con los daños por frío que causan daño físico al tejido. Existen trabajos que relacionan el comportamiento de las actividades enzimáticas (PPO y PDO) en frutas y hortalizas almacenadas en refrigeración con los daños por frío (Briseño-Contreras *et al.*, 2008; Trejo *et al.*, 2010); sin embargo se requiere el estudio en diversos productos de importancia para México como son los ensayados en el presente trabajo.

Además los productores requieren conocer las condiciones de refrigeración (temperatura y tiempo) para colocar su producto con alta calidad en el mercado de forma directa y lista para consumo, lo que les reportaría mayor beneficio económico. Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de bajas temperaturas en las enzimas relacionadas con el pardeamiento (Polifenoloxidasa y Peroxidasa) y daños por frío en guayaba, champiñón, chile manzano y nopal almacenados durante 20 días.



2. Antecedentes

2.1 Generalidades de frutas y hortalizas

Las frutas y hortalizas, son especies vivas que siguen respirando después de la cosecha, es decir, absorben oxígeno y expelen bióxido de carbono, y se definen de la siguiente manera:

- **Frutos:** En botánica, el fruto es el órgano procedente de la flor, infrutescencias ó partes carnosas de órganos florales que han alcanzado el grado de madurez adecuado y que son aptas para el consumo humano.
- **Hortalizas:** partes de los vegetales en estado fresco que bien; crudas, conservadas o preparadas de diferentes formas se utilizan para consumo humano, el término hortaliza incluye a las verduras, estas son órganos verdes de la planta como tallos y hojas se incluyen las legumbres verdes “guisantes y habas” (ESCET.URJC, 2013).

Tras la recolección continúan desarrollando procesos metabólicos que operaban mientras se hallaban unidos al vegetal. El crecimiento implica la división celular que dan cuenta del tamaño final alcanzado por el producto, posteriormente los términos: (crecimiento y maduración fisiológica) suelen hacer referencia al desarrollo del fruto y la hortaliza (Wills, 1999).

2.1.1 Guayaba

Las guayabas son frutos redondos, achatados en los polos, verdes o amarillas, con un peso de 100 g, mesocarpio grueso de 2.5 cm, sabor dulce y una textura crujiente antes de su completa madurez, que es el momento ideal de corte (SIAP, 2012) (Figura 1). La clasificación taxonómica de la guayaba es la siguiente:

Familia: *Myrtaceae*

Género: *Psidium*

Especie: *Guajava*

Nombre científico: *Psidium guajava L.*



Figura 1. Guayaba



- **Origen del cultivo:**

La guayaba es originaria de América tropical posiblemente siendo su centro de origen en Brasil o en algún lugar entre México, Perú, Colombia, Ecuador, Costa Rica y Puerto Rico; esta fruta se propago a otros continentes, a tal grado que llego a creerse que era originaria de Indochina y de Malasia (SIAP, 2012).

- **Origen climatológico:**

Es una especie que se encuentra en todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo, se adapta a distintas condiciones climáticas, y climas secos, es sensible a bajas temperaturas. Los más altos rendimientos se obtienen con temperaturas entre 23 y 28°C (FAO, 2013).

- **Variedades de guayaba:**

La guayaba puede tener forma redondeada semejante a un limón o pera, cáscara cerosa, lisa, o rugosa y de color verde a amarillento, de pulpa beige ó rosada consistente y con semillas de constitución leñosa. Existen numerosas variedades de guayaba por ejemplo (limón, fresa, rosa, manzana y peruana) es por eso, que solo algunas se describen a continuación (Tabla 1):

Tabla 1. Variedades de guayaba.

Variedad	Descripción
<p data-bbox="305 1226 776 1262"><i>Psidium friedrichtalianum (Berg) Nied</i></p> 	<p data-bbox="837 1226 1412 1413">Originaria de América Central “Guayaba de Costa rica”, “Cas” ó “Guayaba limón” es pequeña y amarilla, ovalada, de 3.8 a 6.4 cm de ancho, pocas semillas, cáscara delgada, pulpa blanca, suave y ácida, alto contenido de pectina.</p>
<p data-bbox="272 1499 808 1570"><i>Psidium littorale Raadi var. Longipes (Berg) Fosb. y Psidium cattleianum</i></p> 	<p data-bbox="837 1499 1412 1686">“Guayabas fresa” originarias de Brasil, las frutas son redondas a ovaladas con una corteza delgada, que contiene numerosas semillas, posee un sabor dulce y un fuerte aroma, siendo esta variedad la de mejor sabor.</p>

Fuente: SAGARPA (2012).

Tabla 1. Variedades de guayaba (Continuación).

<p>Guayaba criolla</p> 	<p>En esta clasificación se ubican varios tipos de guayaba, tanto de tamaño y formas variables encontrándose, con pulpa de color blanca, rosada y salmón.</p>
<p><i>Psidium littorale Raddi var. Littorale Bailey.</i></p> 	<p>“Guayaba china” originaria de Brasil, fruto pequeño, ovoide, amarillo-verdoso en su exterior o amarillo claro en plena madurez; pulpa blanca, amarillenta, rosada o roja, dulce o ácida y aromática, con numerosas semillas amarillas, con tamaño menor a 3cm; este tipo de guayaba se destina para la industria.</p>
<p>Guayaba media china</p> 	<p>Fruto ovoide, pulpa color crema y sabor agradable; su tamaño es de 5 a 6 centímetros de diámetro y peso de 100 a 140 gramos en los frutos clasificados como calidad "extra", se ha establecido en el 90% de las huertas, esta variedad, dada su aceptación en el mercado.</p>

Fuente: COLPOS (2012).

- **Composición química y valor nutritivo**

Las características y propiedades de las frutas y hortalizas, están relacionadas con su composición química y su estado de madurez, la composición química de los alimentos es un elemento clave para mejorar el suministro de nutrientes hacia la población mundial, a continuación se mencionan algunos componentes (FAO, 2012b):

- **Agua:** Más del 80 y hasta el 90% de la composición de la fruta es agua.
- **Glúcidos:** Entre el 5 y el 18% de la fruta está formado por carbohidratos. Los carbohidratos son generalmente azúcares simples.
- **Fibra:** Aproximadamente el 2% de la fruta es fibra dietética.

La guayaba es una fruta muy nutricional por tener alto contenido de vitamina C y fibra, es rica en minerales, especialmente en hierro, potasio y fósforo; contiene bajos niveles de grasa, azúcares y proteína (FAO, 2012b) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Valor nutritivo de la guayaba en estudio.

Compuesto químico	g/100g
Agua	81.2
Fibra	6.8
Hidratos de carbono	10.0
Proteínas	1.1
Grasas totales	0.2
Minerales (mg/100g)	84.2
Vitaminas (mg/100g)	161.25

Fuente: FAO (2012b).

- **Importancia económica.**

En México las hortalizas han cobrado un auge sorprendente desde el punto de vista social y de la superficie sembrada, debido a la gran demanda de mano de obra y a la captación de divisas que generan. Por su parte, México posee una riqueza de climas y ecosistemas que permiten la adecuada producción de hortalizas durante todo el año, lo cual constituye una de las principales ventajas ante otros competidores potenciales. En el país se producen alrededor de 70 variedades de hortalizas, sin embargo, si se observa desde el ángulo de la dieta alimenticia del mexicano este factor es casi nulo, debido al desconocimiento de la gran cantidad de frutas y hortalizas que se pueden explotar en nuestro país. También sucede que cuando se les conoce se ignoran sus propiedades nutritivas (Financiera-Rural, 2013).

La guayaba en México es una fruta que se ha cultivado por más de un siglo en nuestro país, los inicios de su producción fueron en el municipio de Calvillo en el estado de Aguascalientes, con el paso del tiempo la producción de esta fruta se ha llevado a cabo en otros estados de la República como Michoacán quien es el principal productor con el 46% de la producción nacional, Zacatecas, Jalisco, Estado de México entre otros, sin embargo a nivel nacional la producción de guayaba no es muy relevante, representa el 1.6% de la producción de frutas en volumen de producción nacional para el año 2012 el registro fue de 295397.63 Ton.



El siguiente gráfico indica los estados que se dedican a la producción de guayaba y el porcentaje de producción nacional en toneladas métricas (SIAP/SAGARPA, 2012) (Figura 2).

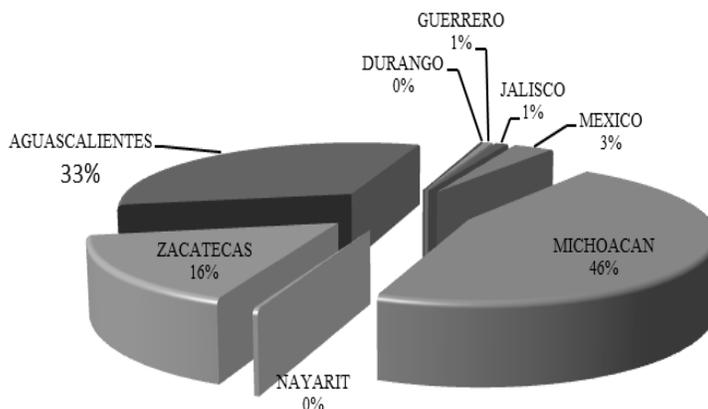


Figura 2. Producción de guayaba en México en el 2012.
Fuente: SIAP/SAGARPA (2012).

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) indicó que se han obtenido 255 mil 461 toneladas de guayaba en 20 entidades del país, en el más reciente informe de avance de cosechas a noviembre de 2012.

2.1.2 Chile manzano

El chile manzano es carnoso, bulboso con 2 formas; manzana y pera, de piel brillante y amarilla, de 5 cm de largo y 3 cm de ancho, picoso; existen dos tipos: verdes y maduran a tono amarillo y los que son verdes y tornan un rojo al madurar, cuando secan toman el nombre de Chile Cascabel; (SIAP, 2012) (Figura 3). La taxonomía del chile manzano es:



Figura 3. Chile manzano

Familia: *Solanaceae*

Género: *Capsicum*

Especie: *Annuum pubescens*

Nombre científico: *Capsicum pubescens*.



- **Origen del cultivo:**

Es originario de América del sur, en las zonas altas de Bolivia y Perú se ubica su centro de origen; es el único tipo de chile que se adapta a las condiciones altas mexicanas y al clima templado-frío, cuyas semillas son de color negro (Teorema Ambiental, 2012).

- **Origen climatológico:**

Se desarrolla bien en zonas altas y frías, necesita una temperatura de 24°C debajo de 15° C el crecimiento es malo, a 10°C el desarrollo del cultivo se paraliza y con 5°C la planta fructifica, a los 35°C la fructificación es muy débil (Grupo Nikkol, 2013).

- **Variedades de Chile manzano:**

En Michoacán lo llaman chile perón, en Veracruz cera y en Oaxaca canario, las principales variedades desarrolladas por la universidad de Chapingo se describen a continuación (Tabla 3):

Tabla 3. Variedades del chile manzano

Variedad	Descripción
<p>Chapingo Amarillo</p> 	<p>Esta variedad cuenta con tres lóculos, el fruto mide de 8 a 10 centímetros. El crecimiento de las plantas alcanza dos metros y los frutos son uniformes.</p>
<p>Variedad Puebla</p> 	<p>Es un fruto más grande y tiene cuatro lóculos, por lo que es más cuadrado, la parte carnosa (pericarpio) es más gruesa.</p>
<p>Zongolica por Puebla</p> 	<p>Es un fruto más pequeño, y uniforme pero las plantas tienen los entrenudos más cortos por lo que nos da un mayor número de frutos.</p>

Fuente: UACH (2012).



- **Composición química y valor nutritivo**

Los chiles amarillos son una buena fuente de la mayoría de las vitaminas B, especialmente de la B₆, son muy ricos en potasio, hierro y magnesio (Tabla 4). Su alto contenido en vitamina C también pueden incrementar sustancialmente la absorción de hierro en otros ingredientes de la comida, como legumbres y cereales (Wikipedia, 2013).

Tabla 4. Valor nutritivo del chile manzano en estudio.

Compuesto químico	g/100g
Agua	93.0
Fibra	
Hidratos de carbono	5.40
Proteínas	1.35
Grasas totales	
Minerales (mg/100g)	233
Vitaminas (mg/100g)	655.39

Fuente: FAO (2012b).

- **Importancia económica**

El chile es el saborizante más utilizado en México y a nivel mundial. Debido a la gran cantidad de tipos encontrados a lo largo de la República Mexicana y no presentes en otros lugares del mundo. A pesar de su importancia, el chile, así como otras especies nativas de México no han recibido la atención debida por parte de investigadores, evolucionistas y agencias gubernamentales.

La importancia del cultivo de chile en México es evidente tanto por la amplia distribución como por su amplio consumo en el país. Este fruto se siembra comercialmente desde el nivel del mar, en las regiones tropicales de la costa, hasta los 2,500 metros de altura en las regiones templadas de la Mesa Central. Es además de un amplio rango ambiental que permite su producción durante todo el año, con lo que se satisface la demanda del producto en las principales ciudades.



En México, las entidades con mayor superficie destinada a este chile originario de Perú son: Michoacán, Puebla, Veracruz, Estado de México y en menor escala Chiapas y Oaxaca; su consumo es insustituible en Toluca, y Morelia, donde forma parte de los hábitos alimenticios, el total de la producción oscila entre 2131,740 toneladas (SIAP/ SAGARPA, 2012) (Figura 4).

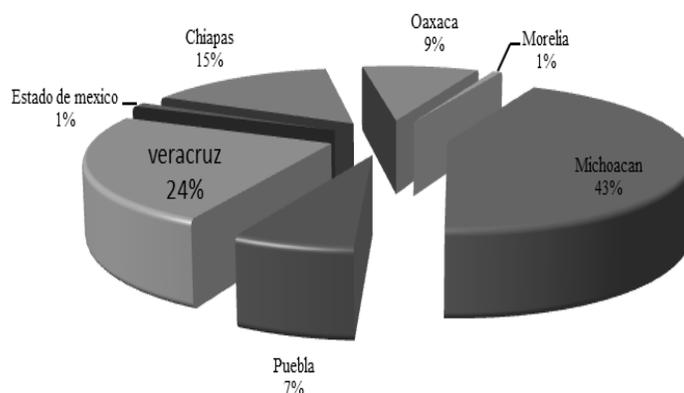


Figura 4. Producción (Ton) de chile manzano en México en el 2012
Fuente: SIAP/SAGARPA (2012).

El chile manzano se considera un cultivo rústico que no necesita demasiado manejo agronómico y fitosanitario, pero con la exigencia del producto en el mercado local y nacional se ha tenido que intensificar su cultivo invernadero (EDOMEX, 2013).

2.1.3 Champiñón

El champiñón de París, formado por un sombrero semiesférico plano de 5 a 12 cm de diámetro, pie cilíndrico, blanco con cutícula, fibrillas y escamitas oscuras, rosa al principio que pasa a marrón chocolate, carne blanca con tonos rosados al corte, de sabor agradable y olor poco perceptible (INFOAGRO, 2012) (Figura 5) La taxonomía del champiñón es:



Figura 5. Champiñón

Familia: *Agaricales*

Género: *Bisporus*

Especie: *Basidiomiceto*

Nombre científico: *Agaricus bisporus*.



- **Origen del cultivo:**

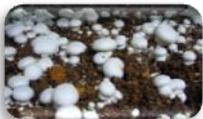
Empezó a cultivarse cerca de las canteras de París durante el siglo XVIII en el reinado de Napoleón. Por este motivo se le conoce como champiñón de París (Champiñones, 2012).

- **Origen climatológico:**

El cultivo del champiñón requiere oscuridad (la luz los mata), la humedad ambiental ideal para este cultivo es un 80%, y buena ventilación, aunque necesitan calidez no debemos permitir que la temperatura supere los 30° C (Botanical, 2012).

- **Variedades del Champiñón:** Las principales variedades de champiñones se describen a continuación (Tabla 5):

Tabla 5. Variedades del champiñón.

Variedad	Descripción
<p>Champiñones cultivados</p> 	<p>Son aquellos que se cultivan artificialmente sobre un fondo de estiércol o compost y se inocula el micelio procedente de algún cereal (ejemplo: trigo).</p>
<p>Champiñón de París silvestre (<i>Agaricus bisporus</i>)</p> 	<p>Este champiñón silvestre se caracteriza por poseer un sombrero de color blanco manchado de gris con láminas de color marrón.</p>
<p>Champiñón de doble anillo (<i>Agaricus bitorquis</i>)</p> 	<p>La carne es blanca, dura, con sabor fuerte, enrojece con el aire, en el pie presenta un doble anillo; no se cultiva artificialmente y debe buscarse al lado de caminos, campos y otros lugares con suelos duros.</p>
<p>Bola de nieve anisada (<i>Agaricus silvicola</i>):</p> 	<p>La carne amarillea en contacto con el aire presenta un olor a anís o almendras amargas, sus láminas tienen un color marrón o rosado. Es uno de los champiñones de mejor calidad que existe</p>

Fuente: Botanical (2012).



- **Composición Química y Valor nutritivo**

Entre las propiedades comestibles de los champiñones se puede destacar su bajo nivel de azúcar y colesterol, un alto contenido de proteínas (de 20 a 40 por ciento de su peso seco), los coloca por arriba de la mayoría de los vegetales, frutas, verduras, por su elevada cantidad de aminoácidos, entre ellos fenilalanina (UNIVERSO, 2013). En la Tabla 6 se muestra la composición química del champiñón:

Tabla 6. Valor nutritivo del champiñón en estudio.

Compuesto químico	g/100g
Agua	91.81
Fibra	1.2
Hidratos de carbono	4.08
Proteínas	2.9
Grasas totales	0.33
Minerales (mg/100g)	497
Vitaminas (mg/100g)	227

Fuente: FAO (2012b).

Los champiñones pueden abatir la desnutrición, sobre todo en las poblaciones marginales y serranas, de las miles de especies existentes en el mundo, sólo cuatro han sido cultivadas para la alimentación humana: el champiñón “*Agaricus bisporus*”, el shiitake “*Lentinula edodes*”, el ostra “*pleurotus*” y el de la paja “*Volvariella volvacea*” (UNIVERSO, 2013).

- **Importancia económica**

El cultivo de los hongos se llama micocultura, y se practica por su interés económico o científico. En el primer caso se trata por ejemplo de especies comestibles de géneros como *Agaricus*, SIAP/SAGARPA (2012) estimó una producción total de 4,105.70 toneladas de hongos y setas durante el año 2012, siendo el principal productor el estado de Jalisco con 2,159.00 toneladas lo que representa el 53 % de la producción anual a nivel nacional, dejando muy por debajo a los estados de Oaxaca, Hidalgo y Veracruz quienes representaron el 30% de la producción en el año 2011, el estado de México siguió siendo uno de los estados de mayor



producción de setas y hongos con 1,882.20 toneladas representado el 46% en el año 2012 (Figura 6).

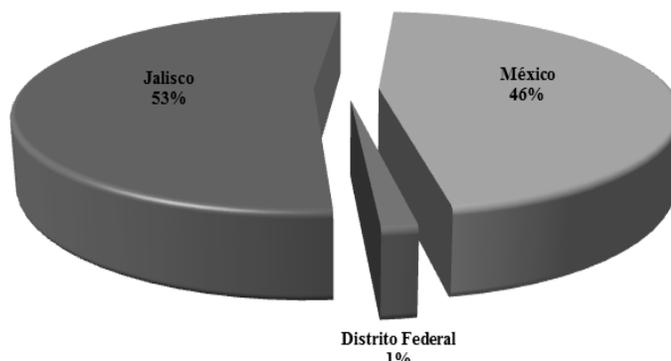


Figura 6. Producción de Hongos silvestres de todas las especies.
Fuente: SEMARNAT (2012).

El cultivo de hongos comestibles ha sido bien recibido por pequeños productores del campo que han demostrado flexibilidad para moverse hacia este cultivo y les ha costado menos trabajo relacionarse con empresas comercializadoras y grandes industrias de alimentos. La producción comercial de hongos comestibles, medicinales y funcionales frescos, en 2011, fue cercana a las 62 mil 374 toneladas (Crónica, 2012).

2.1.4 Nopal

Los nopales se caracterizan por pencas en forma de paletas cubiertas de espinas; se adapta a la escasez de agua, temperaturas extremas y zonas áridas, el sabor se debe al desarrollo de parénquimas que permiten acumular gran cantidad de agua en sus células (Figura 7) (SIAP, 2012), la taxonomía del nopal es:



Figura 7. Nopal

Familia: *Cactácea*

Género: *Opuntia spp. Y Nopalea*

Especie: Se agrupan en tres tipos: *La Tunera, la verdulera y la Forrajera*

Nombre científico: *Opuntia spp.*



- **Origen de Cultivo:**

Las cactáceas son nativas del Continente Americano, en específico de la América Tropical.

- **Origen climatológico:**

Las condiciones climáticas son: (16 y 28°C), las bajas temperaturas afectan al cultivo causando la muerte, su tolerancia a temperaturas mínimas están en el orden de 10° a 0°C.

- **Variedades del Nopal:**

En México los nopales presentan 2 géneros 104 de *Opuntia* y 10 de *nopalea*; es en las zonas semiáridas donde existe la variación más amplia, las principales variedades de nopal se describen a continuación (CONABIO, 2012) (Tabla 7):

Tabla 7. Variedades del nopal.

Variedad	Descripción
Cardón (<i>O. streptacantha</i>) 	Lo podemos encontrar en forma arborescente, arbustivas o rastreras, son espinosos, ovalados y aplanados, éstos se llaman cladodios; tienen flores que abren de día. No todos los nopales y tunas son aptos para el consumo humano o tienen importancia económica.
chaveña (<i>O. chavena</i>) 	Son anchamente obovados, brillantes, amarillo- verdosos a verde oscuro-azuloso, recubierto de cera blanca. Su epidermis, es opaca con espinas ligeramente anguladas, divergentes, aplanadas, pero no torcidas, blancas con ápice translúcido amarillo.
Nopal cochinilla (<i>Nopalea cochenillifea</i>) 	Existen dos tipos de cochinilla, silvestre y fina. La silvestre es un complejo de ocho especies que crece como una plaga en las huertas de nopal.
Nopal verdura 	Son planos denominados cladodios, tiernos, muy suculentos, poco lignificados y con abundante espina, tradicionalmente de mayor consumo por el pueblo mexicano.

*Solo se mencionan algunas especies

Fuente: CONABIO (2012)



- **Composición Química y Valor nutritivo**

Los estudios realizados por el Instituto Mexicano del Seguro Social han demostrado que la administración en ayunas de cladodios de nopal a individuos sanos y diabéticos causa disminución de glucosa, existiendo una mayor sensibilidad a la insulina inducida por la ingestión del nopal.

Se cree que la función del nopal sobre la glucosa se debe a que contiene una sustancia identificada como polisacáridos aislados que secuestran las moléculas de glucosa, de tal modo que la insulina si es mínima, sea suficiente para regular los niveles de azúcar.

Adicionalmente, la fibra del nopal disminuye el nivel de lipoproteínas de baja densidad que son las que se acumulan en las arterias causando problemas de arterioesclerosis. También disminuye el colesterol en la sangre al interferir en la absorción de grasas que realizan los intestinos (INECC, 2013) en la tabla 8 se muestran los componentes químicos del nopal.

Tabla 8. Valor nutritivo del nopal en estudio.

Compuesto químico	g/100g
Agua	90.1
Fibra	3.5
Hidratos de carbono	5.6
Proteínas	1.7
Grasas totales	0.3
Minerales (mg/100g)	94.60
Vitaminas (mg/100g)	8.12

Fuente: FAO (2012b).

Tomando en consideración que más del 50% del territorio nacional puede catalogarse como árido y semiárido y que gran parte de la población nativa de estas zonas depende principalmente del aprovechamiento de plantas adaptadas a estas condiciones, se comprende la necesidad que se tiene de contar con información cualitativa y cuantitativa relacionada con la riqueza de elementos nutritivos de estos recursos (UAM, 2013).



- **Importancia económica**

La importancia económica y social del cultivo del nopal en México radica sobre todo en la superficie ocupada por nopaleras tanto silvestres como cultivadas, en el tipo y número de productores involucrados, tipo de regiones en que se cultiva nopal y en la variedad de los productos generados (ASERCA, 2012).

El cultivo de nopal es una alternativa para reintegrar a la productividad zonas desgastadas por otros cultivos. Por cuestión de costos es viable el producir nopal que otro producto, además el nopal es un producto vegetal que no requiere de técnicas complicadas para su producción, ya que su crecimiento en ambientes hostiles, permite su fácil adaptación y distribución (UAM, 2013).

Los principales estados productores de esta hortaliza exquisita, con propiedades curativas y de un extraordinario uso culinario orgullosamente nacional, es el distrito federal y Morelos con un 40%, seguido del estado de México con 10%, Baja California 2%, cerrando con Jalisco 3%, (SIAP-SAGARPA, 2012) (Figura 8).

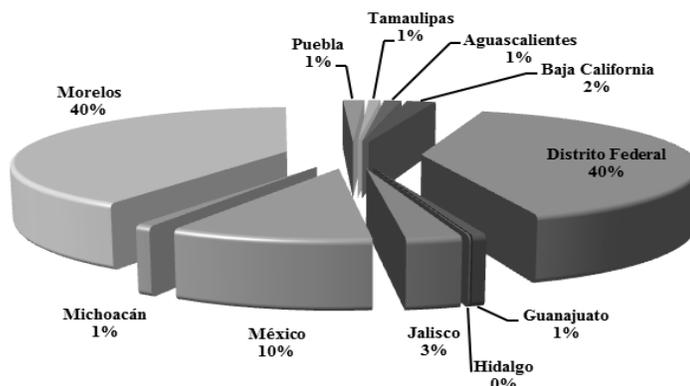


Figura 8. Producción de Nopal, clasificada por principales estados productores.
Fuente: SIAP/SAGARPA (2012).

En nuestro país existen alrededor de 2,500 productores de nopal con unas 10,000 ha, sin embargo entre el D.F. y Morelos abarcan un 55% de la producción y un 82% de la superficie que se destina al cultivo del nopal. En el D.F., el mayor productor es Milpa Alta, en Morelos el más importante es Tlalnepantla con 350 ha, en esta entidad existen 4 grupos con aproximadamente 403 productores (UAM, 2013).



2.2 Procesos de Maduración y senescencia en frutas y hortalizas

Un aspecto fundamental a tener en cuenta en el manejo postcosecha de frutas y hortalizas es que éstas continúan vivas y continúan respirando, madurando y en algunos casos iniciando procesos de senescencia, todo lo cual implica una serie de cambios estructurales y bioquímicos (FAO, 2013b).

Durante el periodo de maduración de los frutos climatéricos existe una producción auto catalítica de etileno. El etileno (C_2H_4), es una fitohormona naturalmente producida por las plantas y en los tejidos vegetales es capaz de promover la maduración tanto en frutos como en vegetales (Wills *et al.*, 1999) (Figura 9).

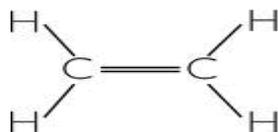


Figura 9. Estructura del etileno.
Fuente: Kotz *et al.* (2005).

Se sabe que la maduración es un proceso dramático en la vida de las frutas y hortalizas, pues durante ella los principales cambios se observan en el sabor el cual es determinado por el tipo de ácidos, fenoles, compuestos volátiles y azúcares que generalmente aumentan durante la fase de madurez del fruto siendo la fructosa el azúcar mayoritario seguido de la glucosa y la sacarosa, la proporción de estos constituyentes, puede variar dependiendo del estado fisiológico, posteriormente tenemos el aroma el cual sufre cambios debido a la síntesis de numerosos compuestos orgánicos volátiles (Wills *et al.*, 1999). La textura la cual va asociada a una disminución en los niveles de pectina total y a un aumento en la solubilización de los carbohidratos de la pared celular, oxidando así sus reservas de carbohidratos, produciendo cambios químicos, como desaparición de la astringencia, cambios de acidez, desaparición de clorofila, síntesis de pigmentos, una vez que el producto es cosechado y sufre esta serie de cambios, comienza de inmediato la senescencia, haciéndolo más sensible al deterioro microbiano (Wiley, 1994).

2.2.1 Respiración

La respiración es un proceso metabólico en el que se produce la degradación oxidativa de sustratos complejos; azúcares y ácidos orgánicos, hasta moléculas simples (CO_2 y H_2O), la velocidad a la que transcurre la respiración de un producto constituye un índice de la actividad metabólica de sus tejidos y una guía útil de su vida comercial. La respiración aerobia es la que predomina en los frutos y hortalizas recién recolectados, pero la respiración anaerobia puede ser significativa en especies conservadas en atmósferas modificadas con un contenido demasiado bajo en O_2 ó demasiado alto en CO_2 (Flores, 2000).

2.2.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de origen vegetal; su biosíntesis es necesaria para la función entre el vegetal y el medio ambiente, las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo (Tomás *et al.*, 2001) (Figura 10).

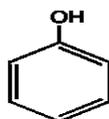


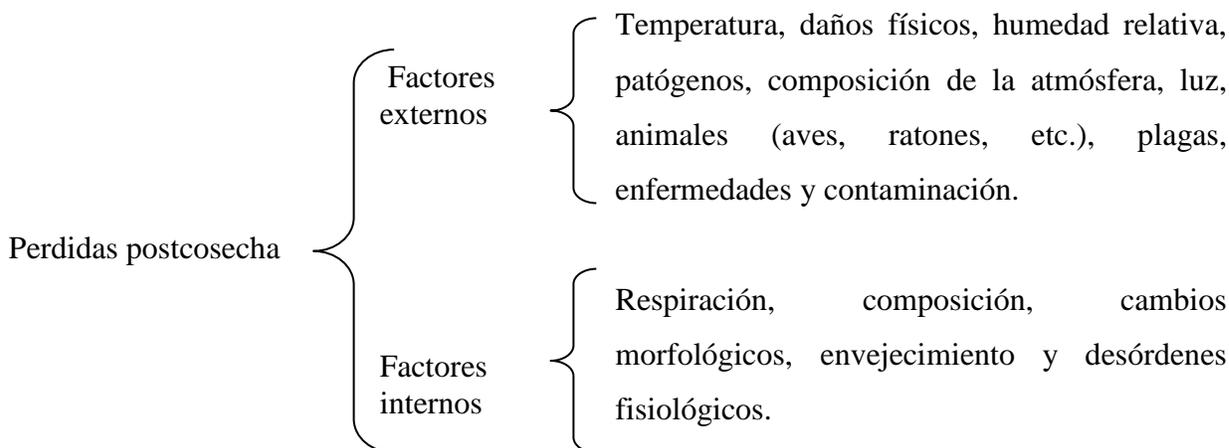
Figura 10. Estructura química del fenol.
Fuente: Red Escolar Nacional (2013).

La relación de los compuestos fenólicos en los procesos de madurez se dan en el sabor, los ácidos fenólicos proporcionan acidez, las dihidrochalconas sabor dulce, ciertas flavonas como la naringina aportan amargor, y los taninos son responsables de la astringencia (Cheynier, 1999), el papel de los polifenoles en la percepción organoléptica del alimento se complementa con su implicación en la cualidad del color, importantísima en vegetales (Robards *et al.*, 1999), la concentración de polifenoles disminuye al madurar el fruto, aunque el contenido total fenólico siga aumentando, debido a que los incrementos en volumen de agua son muy superiores (Lee, 1992).



2.3 Pérdidas Postcosecha

Las pérdidas postcosecha de los productos alimentarios, se originan en el hecho de que los productos agro alimentarios son productos vivos, que respiran y se transforman. No se deben confundir pérdidas y daños, porque el daño es la señal visible de una degradación o deterioro, por ejemplo de los granos roídos, que puede ser solamente parcial. Los daños limitan la utilización del producto mientras que las pérdidas la hacen imposible (FAO, 2013b).



Fuente: FAGRO (2013).

2.3.1 Desórdenes Fisiológicos

Los desórdenes fisiológicos simplemente se refieren al colapso del tejido de la planta o de la fruta que no es causado ni por la invasión de patógenos, ni por daños mecánicos. Ellos pueden desarrollarse en gran medida como respuesta a un ambiente adverso, especialmente a la temperatura, o a la deficiencia nutricional durante el crecimiento y el desarrollo (Wills *et al.*, 1999).

2.3.2 Daños por frío (DF)

Las bajas temperaturas provocan “daños por frío”, en productos tropicales y subtropicales. Encontrándose cambios en la estructura de las membranas celulares, lo que afecta al metabolismo y da lugar a los síntomas, muchos de los cuales se manifiestan al poner al producto bajo condiciones de temperatura ambiente (Postcosecha, 2013).

- **Síntomas de Daño por frío**

Los síntomas del daño varían en función de la especie, cultivar, tipo de tejido, grado de madurez, estado metabólico, factores ambientales y tiempo de permanencia por debajo de la temperatura crítica. Cuando ocurren daños severos, la piel del fruto en estado verde puede oscurecer durante la maduración, debido a la acumulación de sustancias fenólicas oxidadas en las áreas epidérmicas y subepidérmicas (Ponce de León, 1997). El oscurecimiento aparece por la actividad de la enzima polifenoloxidasa sobre los compuestos fenólicos liberados de la vacuola luego del enfriamiento. Los síntomas que presentan; son decoloración y excoりaciones en la piel, maduración no homogénea, susceptibilidad al ataque de hongos, aumento de la actividad enzimática peroxidasa y amilasa (Kader y Mitcham, 1994). Algunos síntomas de (DF) se observan en la (Figura 11).

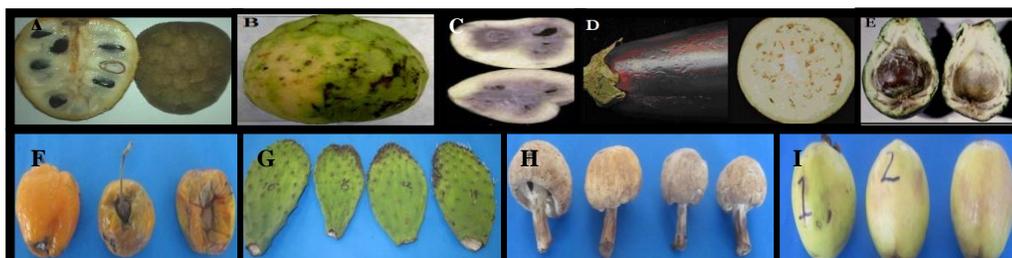


Figura 11. Síntomas visibles del daño por frío en frutas y hortalizas sensibles a bajas temperaturas (A) color de la pulpa y presencia de exudados. (B) Chirimoya con signos de “pitting” en la piel. (C) patata con pardeamiento interno y descomposición de tejidos. (D) Berenjena con síntomas de “Pitting en la piel y oscurecimiento de la pulpa y semillas. (E) Aguacate con pardeamiento interno y descomposición de la pulpa. (F) Chile manzano con picado, zonas hundidas y podredumbre por alternaria. (G) Nopal con ligera decoloración a verde olivo, deshidratación y arrugamiento. (H) Champiñón con arrugamiento, marchitez y firmeza. (I) Guayaba con daño en la piel, picado e incapacidad para seguir madurando.

Fuente: FAO (2013c).

- **Etiología de los daños por frío**

La intensidad a la que tienen lugar los procesos metabólicos de los órganos vegetales depende de la temperatura del organismo y la del medio exterior de los vegetales, los frutos son sensibles a bajas temperaturas por lo que la aplicación de frío superior al punto de congelación (entre -1 y -3°C, según los productos), reduce la velocidad de las reacciones metabólicas al modificar la energía de activación, la velocidad máxima y la constante de Michaelis de las reacciones enzimáticas. La respiración y la fotosíntesis son los principales procesos ligados



al metabolismo energético del fruto y del vegetal, así todo el metabolismo en general, se perturba por las temperaturas bajas de refrigeración (Lance y Moreu, 1992).

- **Mecanismo de daño por frío**

El mecanismo tiene dos fases la primera fase se prolonga desde algunas horas, semanas o hasta meses, en la inicial las alteraciones son tan poco severas, que no se manifiestan los síntomas, lo que se denomina umbral de inducción o fase de latencia. La segunda fase tiene lugar cuando superado el umbral de inducción, aparecen los síntomas, siendo ya irreversibles. Varios metabolitos gaseosos como el CO₂, C₂H₄, etanol y acetaldehído, pueden ser bioindicadores para evaluar y detectar las alteraciones organolépticas, fisiológicas y patológicas antes de que se manifiesten los síntomas (Hardenburg *et al.*, 1990).

2.4 Pardeamiento Enzimático

El pardeamiento enzimático es un fenómeno que se produce en el transcurso de las manipulaciones que se realizan después de la recolección, durante la conservación y por las transformaciones tecnológicas. Los órganos vegetales carnosos pueden presentar dos tipos de pardeamiento (Badui, 2002):

1. Pardeamiento superficial: Se presenta como consecuencia de una lesión en la cual se observa que, la superficie cortada se colorea más o menos rápidamente de un color pardo.
2. Pardeamiento interno: Aparece después de las enfermedades ocasionadas a bajas temperaturas (“chilling injury”), se produce cuando los órganos, después de estar sometidos a bajas temperaturas, se colocan a temperaturas más elevadas.

Para que el fenómeno de pardeamiento enzimático tenga lugar se requiere de cuatro compuestos: oxígeno molecular, sustratos apropiados, la PPO y la presencia de cobre en el centro activo de la enzima. Estos factores determinan la velocidad de pardeamiento, que puede tener lugar muy rápidamente, incluso en 30 min (Laurila *et al.*, 1998).



Esta velocidad dependerá de factores como la concentración y actividad de la enzima, la cantidad y naturaleza de los compuestos fenólicos, pH, temperatura, actividad del agua y de la cantidad de oxígeno disponible en el entorno del tejido vegetal (Mayer, 1987).

Otros factores intrínsecos que influyen en la intensidad del pardeamiento son: la especie, la variedad y el estado fisiológico de los frutos (Amiot *et al.*, 1992). El champiñón es sensible a la oxidación enzimática y aparentemente ciertas frutas como los cítricos o la piña contienen relativamente pocos sustratos fenólicos, no contienen polifenol oxidasa o su actividad es tan baja que, el pardeamiento enzimático no causa problemas de coloraciones (Robards *et al.*, 1999).

La formación del color oscuro no es siempre un inconveniente. Así, se busca un ligero pardeamiento en la maduración de los dátiles, en la preparación de la sidra, fermentación del té, secado de los granos fermentados del cacao, o en el secado del tabaco, el pardeamiento enzimático es un fenómeno que caracteriza los alimentos de origen vegetal (McEvily *et al.*, 1992).

2.4.1 Descompartimiento celular

Para que tenga lugar el comienzo del pardeamiento es indispensable que se produzca una modificación en la compartimentalización subcelular que ponga en contacto a los compuestos fenólicos (localizados principalmente en la vacuola), con las enzimas de oxidación. Esta desorganización celular puede ser debida a múltiples factores de alteración de los tejidos, como: traumatismos mecánicos, choques térmicos o alteraciones fisiológicas (Billot, 2002).

2.4.2 Reacción del pardeamiento enzimático

Las frutas y vegetales tienen tejidos biológicamente activos y por tanto muchas enzimas y su actividad más común es por parte de las peroxidasas y polifenoloxidasas entre otras.

Las polifenoloxidasas, son conocidas como tirosinasas, fenoloxidasas, cresolasas, o-difenol, oxígeno-oxidoreductasa, catecol oxidasa o potato oxidasa, y se encuentran en plantas y animales (UDLAP, 2013).



La polifenoloxidasas tiene dos actividades enzimáticas ó actúa sobre dos tipos de sustratos: monohidroxifenoles como por ejemplo el *p*-cresol hidroxilándolos en posición *orto* con respecto al grupo hidroxilo original, cresolasa (EC 1.14.18.1) y sobre *o*-dihidroxifenoles tales como catecol, oxidándolos a benzoquinona por remoción de hidrógenos del grupo hidroxilo, catecolasa (EC 1.10.3.1), dependiendo de la fuente, la actividad “cresolasa” es mayor o menor, incluso inexistente en algunos casos. En cambio, todas las enzimas tienen actividad “catecolasa” (Ramírez *et al.*, 2003). En la tabla 9 se observa si se requiere de ciertos aspectos para llevar a cabo la reacción.

Tabla 9. Aspectos generales de la reacción del oscurecimiento.

Mecanismo	O ₂	cobre	fenoles necesarios	Grupos amino	Temperatura elevada	pH óptimo	Azúcares reductores
Polifenoloxidasas	si	si	si	no	no	ácido	no

Fuente: UDLAP (2013)

La formación de productos coloreados que caracterizan el pardeamiento se realiza en dos etapas (Billot, 2002):

1. Etapa enzimática: conduce a la formación de *orto-quinonas* generalmente inestables, con gran reactividad y tóxicas para las células. Esta oxidación en quinonas constituye una primera etapa en la que intervienen la descompartmentalización celular, la PPO y PDO, el oxígeno (segundo sustrato de la enzima) así como otros factores (inhibidores naturales, pH y temperatura).
2. Etapa no enzimática: Etapa donde se termina con la polimerización y condensación de las quinonas en “complejos pardos”. La complejidad de esta segunda etapa, se debe principalmente a la intervención de mecanismos de oxidaciones acopladas que permiten explicar que los compuestos fenólicos no son sustratos de la polifenoloxidasas (o son malos sustratos) puedan ser sin embargo, degradados durante el fenómeno de pardeamiento (Billot, 2002) (Figura 12):

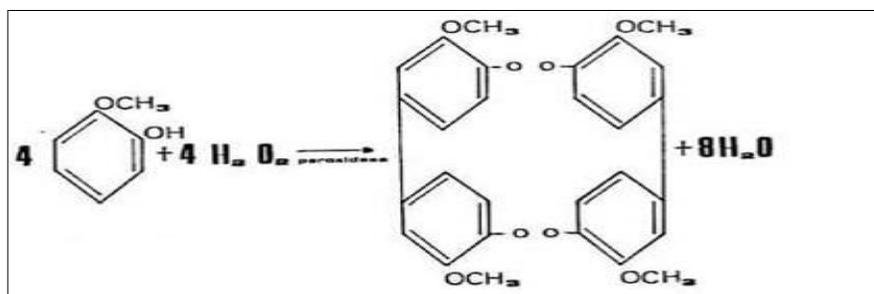


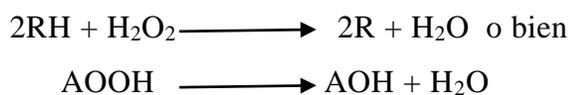
Figura 13. Reacción de la peroxidasa (PDO).

Fuente: Universidad de Chile (2013).

La peroxidasa puede ser inactivada por el calor, siendo una de las que precisan mayor temperatura y más tiempo para su inactivación. Posee además, la propiedad peculiar de la regeneración enzimática, este efecto del calor sobre la actividad peroxidásica es muy importante en la industria de alimentos pero puede causar problemas en los caracteres organolépticos (Universidad de Chile, 2013).

- **Tipo de reacciones que catalizan**

Es una oxidoreductasa que cataliza reacciones usando oxígeno o peróxido como aceptor de hidrógeno, como se observa en la siguiente reacción:



Dónde:
 H₂O₂: peróxido de hidrógeno
 AOOH: peróxido orgánico
 El RH se oxida

- **Sustratos de la peroxidasa**

La peroxidasa (PDO), es altamente específica al peróxido su principal sustrato, a altas concentraciones de peróxido es inactivada. Alguno de estos sustratos son: guayacol, *o*-dianisedina, *o*-fenildiamina, *o*-toludina, fenol, pirogalol y catecol (BIOPRODIN, 2013).

- **Características**

1. Es una enzima hemo: tiene grupo Fe⁺ protoporfirínico
2. El agente oxidante debe ser siempre un peróxido
3. Alta estabilidad térmica: resisten altas temperaturas; esto hace que midiendo la actividad peroxidasa se indique la eficacia de los tratamientos térmicos aplicados.

- **Enzima polifenoloxidasas (PPO)**

Las polifenoloxidasas (E.C.1.14.18.1), son metaloproteínas que contienen cobre (Mayer *et al.*, 1987) causando oscurecimiento aeróbico del alimento durante el daño físico del tejido, la acción de la PPO resulta de las quinonas que actúan con grupos amino y sulfhidrilo de proteínas y enzimas (Figura 14).

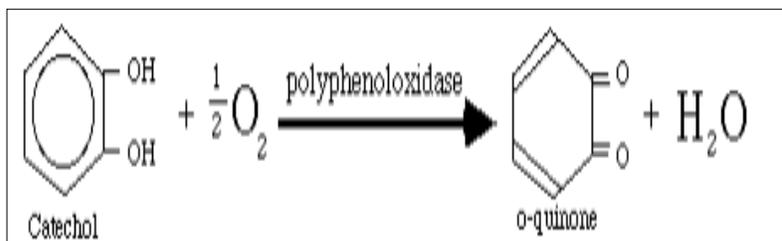


Figura 14. Mecanismo que describe la reacción catalizada por polifenoloxidasas (PPO).

Fuente: Ramírez-Villatoro (2005).

- **Tipo de reacciones que cataliza**

Estas reacciones pueden provocar cambios físicos, químicos y se clasifican dentro de las Oxidoreductasas, actuando sobre difenoles con oxígeno como aceptor (Nevin-Ridley, 2009). Conocida como tirosinasa, fenolasa, catecol oxidasa, entre otras se puede observar una reacción llevada a cabo por la polifenoloxidasas (Figura 15).

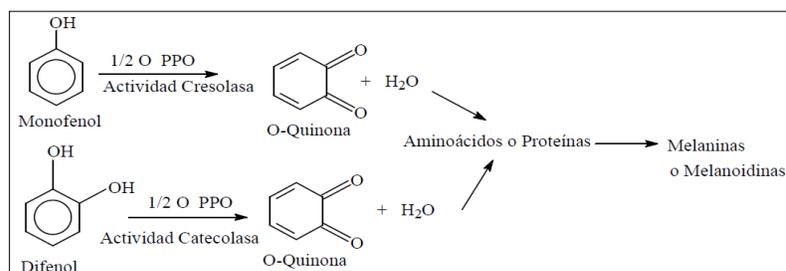


Figura 15. Reacción generalizada de la (PPO) en plantas.

Fuente: Gacche *et al.* (2003).

- **Sustratos de la polifenoloxidasas**

Los principales sustratos naturales de las polifenoloxidasas; son las catequinas, derivados hidroxycinámicos, algunos compuestos insaturados (monofenoles, *o*-difenoles, flavonoides, taninos, dihiroxifenilalanina, ácido gálico, hidroquinonas y tirosina) las dos últimas siendo de mayor importancia en los alimentos (Mayer *et al.*, 1987).



En las frutas se encuentran de manera natural los sustratos para llevar a cabo las reacciones enzimáticas. El ácido cloragénico, ácido cafeico, ácido protocatequico, catecol, guayacol y resorcinol, son compuestos fenólicos que están en frutas y que permiten que se lleve a cabo las reacciones para formar los compuestos coloridos que varían su color desde un ligero amarillo hasta un café oscuro (Badui, 2002).

- **Características**

El cobre le sirve a esta enzima para llevar a cabo la oxidación ó reducción reversible en el proceso de oxidación. Las fenolasas pueden presentar dos tipos de actividad enzimática, fenolhidrolasas ó polifenoloxidasas también conocidas como catecolasas (Fennema, 1995). En el centro activo existen dos átomos de cobre, unidos a histidinas; alrededor de los cobres se sitúan aminoácidos hidrofobicos, con anillos aromáticos importantes para la unión de los sustratos (Calvo, 2007) como se observa en la (Figura 16).

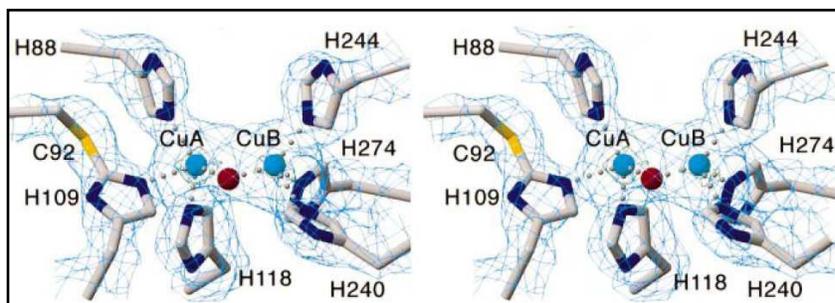


Figura 16. Geometría de los centros activos de la polifenoloxidasas (PPO).
Fuente: Klabunde *et al.* (1998).

2.4.4 El papel de la polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO) en frutos y vegetales.

La actividad de PPO está presente en todos los organismos fotosintéticos, animales, microorganismos y en algunas funciones esenciales como la de hongos; se localiza en vacuolas dentro de la célula; mientras que en la fruta inmadura se localiza en organelos diversos, en algunos frutos aumenta en la cascara conforme su maduración y disminuye en la pulpa, mientras que en otros frutos la actividad de polifenoloxidasas se localiza únicamente en la cáscara (Lamikanra *et al.*, 2001). La actividad de PDO es responsable de



la aparición de sabores extraños, olores y colores desagradables, su implicación en el pardeamiento está muy limitada debido a la baja disponibilidad de H₂O₂ en el interior de las células vegetales (Robinson, 1991). Son capaces de aceptar una amplia gama de donantes de hidrógeno, incluidos los mono y difenoles (Richard-Forget y Gauillard, 1997). Debido a su gran termoestabilidad, el control de su actividad suele utilizarse como indicador de la eficacia del escaldado en frutas y hortalizas (Nicolás *et al.*, 1994).

2.4.5 Color

El color, es totalmente decisivo al comprar un producto, por ejemplo, se asocia el color marrón con tejidos excesivamente maduros, heridos o almacenados por tiempo excesivo, al contrario, los colores amarillos, verdes, rojos claros y brillantes son los preferidos (Pérez *et al.*, 2001).

Los cambios de color en frutas y hortalizas tienen orígenes diferentes, la disminución de la pigmentación verde hacia colores amarillos, por ejemplo en nopal puede ser el resultado de la senescencia, exposición al calor o acidificación, mientras tanto el pardeamiento de hongos como el champiñón es provocado a través de la acción de enzimas como la polifenol oxidasa (Bolin y Huxsoll, 1991).

El color de las frutas y hortalizas frescas se ve alterado por la oxidación de compuestos fenólicos catalizada por la PPO. El fruto y la hortaliza puede ser rechazado si la impresión visual que nos produce no coincide con el estándar al que estamos acostumbrados, además, el color es el único criterio de elección que actúa como indicador cuantificador de la vida útil del producto (Clydesdale, 1993), el color del producto alimentario comercial es indiscutible, pues en los puntos de venta se valora el alimento sólo por la apariencia. Generalmente es asumido "*Que si luce bien, sabe bien*" (Dorantes-Álvarez y Chiralt, 2000).

2.5 Almacenamiento postcosecha

El uso adecuado del almacén previene el oscurecimiento de los tejidos el cual reduce el valor comercial del fruto y la hortaliza, este desorden fisiológico se presenta en respuesta a varios factores como infección fúngica, pérdida de agua, senescencia del fruto, daño por calor y frío, una vez que esté presente, es difícil identificar el estrés inicial que causo el daño (Wills *et al.*, 1999).



2.5.1 Tratamientos y métodos de conservación

Los métodos desarrollados para controlar, minimizar o inhibir el proceso de pardeamiento enzimático suelen ser preventivos (Tablas 10 y 11).

Tabla 10. Principales tratamientos postcosecha aplicados a frutas y hortalizas.

Tratamientos	Efecto	Característica	Defecto	Referencia
Térmicos	Inactivación de polifenoloxidas (PPO)	Temperaturas de 75-95°C por tiempos de 1 a 10 min.	Pérdidas de peso y calidad nutricional.	McEvily <i>et al.</i> (1992)
Efectos sinérgicos	Mezcla de compuestos	Alteración del centro activo de la PPO.	Sabores extraños de la fruta.	Dong <i>et al.</i> (2000)
Ondas electromagnéticas	Inactivación enzimática	Ruptura de interacciones moleculares “puentes de hidrógeno”.	Alteración en clorofilas y antocianos.	Porcelli <i>et al.</i> (1997)
Métodos químicos	Agentes antipardeantes	Secuestran el cobre del centro activo de la enzima.	Impacto organoléptico.	Anónimo (1996).
Recubrimientos comestibles	Retraso en la producción de etileno.	Micro-atmósfera controlada, restringe el intercambio de gases.	Alteración del sabor, por el recubrimiento.	Baldwin <i>et al.</i> (1995)
Irradiación	Control de enfermedades.	(FDA) limita la dosis a 1kGy para productos frescos.	Estimula el pardeamiento.	Gunes <i>et al.</i> (2000)
Deshidratación osmótica	Disminución o inactivación de la PPO.	Disminución de la actividad de agua.	Tratamiento irreversible.	Raoult-Wack (1994)
Modificaciones genéticas	Variedades sin las enzimas, PPO y PDO.	Variedades pobres en sustratos.	Hay rechazo en el consumidor.	Coetzer <i>et al.</i> (2001)
Atmósferas modificadas	Inhibe la síntesis de metabolitos fenólicos	Inyección de gases (O ₂ , CO ₂ , CO y N ₂) o generación interna de atmósferas.	Costo de gases y materiales, para envasado.	Varoquaux <i>et al.</i> (1996)



Tabla 11. Principales Métodos denominados no-térmicos utilizados, en Frutas y Hortalizas.

	Efecto	Característica	Defecto	Referencia
Radiación ionizante	Daño en ADN.	Aplicación de pequeñas dosis de esta radiación hacia los frutos y hortalizas.	Rechazo del consumidor.	Yousef (1996)
Pulsos eléctricos	Genera estrés y desestabiliza la membrana celular.	Ruptura eléctrica de la membrana celular.	Cambia la estructura de las enzimas, PPO PDO.	Castro <i>et al.</i> (2000)

2.5.2 Refrigeración “bajas temperaturas”

Parikh (1990), menciona que la conservación a temperaturas bajas, inactiva la actividad enzimática, y permite prolongar la vida comercial de los productos hortofrutícolas, con calidad idónea para consumo en fresco o industrial, siendo necesario el control de esta en los locales de almacenamiento, sin embargo, existen limitaciones en cuanto a las temperaturas mínimas que pueden aplicarse en la frigoconservación (Martínez- Jávega, 1997).

2.6 Condiciones para almacenamiento en frío.

Varios autores mencionan condiciones de almacén de frutos y hortalizas cuyos parámetros varían en dependencia de la especie y variedad (Tabla 12).

Tabla 12. Temperaturas de almacén para las frutas y hortalizas en estudio.

Fruta/Hortaliza	T°C crítica	T°C óptima	% HR	Tiempo vida útil.	Referencias
Guayaba	8.3	10	85-90	2-5 semanas	Postharvest (2012)
Champiñón	No presenta daño por frío	-1-4 10 15	90-95 90-95 90-95	2-3 semanas 3 días 4 días	Wills <i>et al.</i> (1999)
Chile Manzano	7.5	10	85-90	2-3 semanas	Postharvest (2012)
Nopal	5	10	90-95	2-3 semanas	Postharvest (2012)



3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto de bajas temperaturas de almacenamiento sobre la actividad de enzimas responsables del pardeamiento (polifenoloxidasas y peroxidasas), en frutas (guayaba) y hortalizas (nopal, champiñón, chile manzano), que permita establecer su relación con los síntomas de daños por frío y su tiempo de vida útil.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES:

Particular 1.

Establecer las condiciones óptimas de: pH, temperatura, concentración y tipo de sustrato, para evaluar las actividades de las enzimas polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasas (PDO) en frutas (guayaba) y hortalizas (nopal, champiñón, chile manzano) que permita contar con un método adecuado para cada producto vegetal.

Particular 2.

Evaluar los cambios en las actividades enzimáticas de polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasas (PDO) en el pardeamiento enzimático, durante el almacenamiento refrigerado a 4 y 10±1°C en frutas (guayaba) y hortalizas (nopal, champiñón y chile manzano).

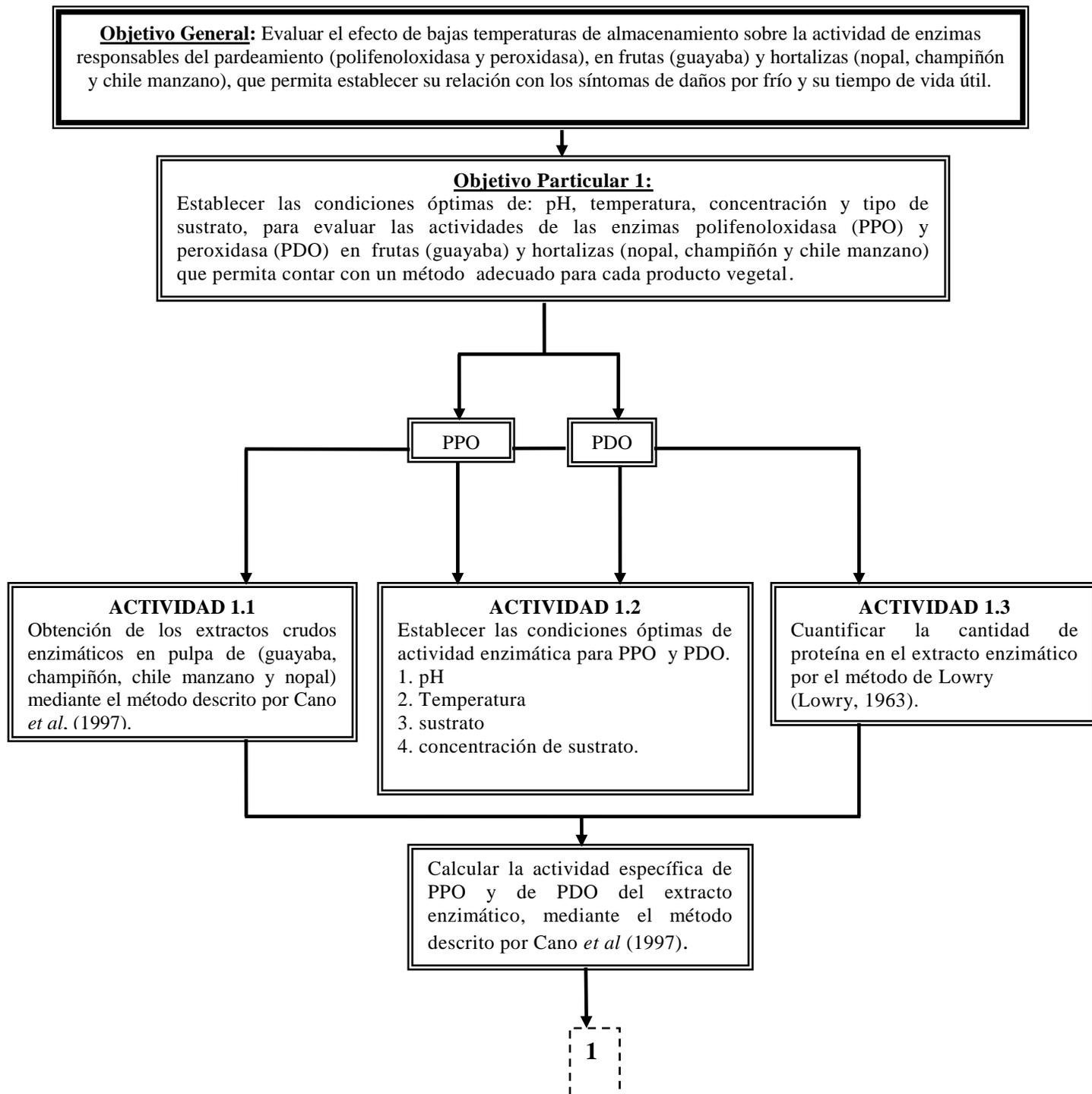
Particular 3.

Relacionar los cambios de color y la actividad de polifenoloxidasas y peroxidasas en frutos (guayaba) y hortalizas (nopal, champiñón y chile manzano), con los síntomas asociados a los daños por frío; presentados durante el almacenamiento a bajas temperaturas; 4 y 10±1°C.



4. Materiales y métodos

4.1 Secuencia metodológica.



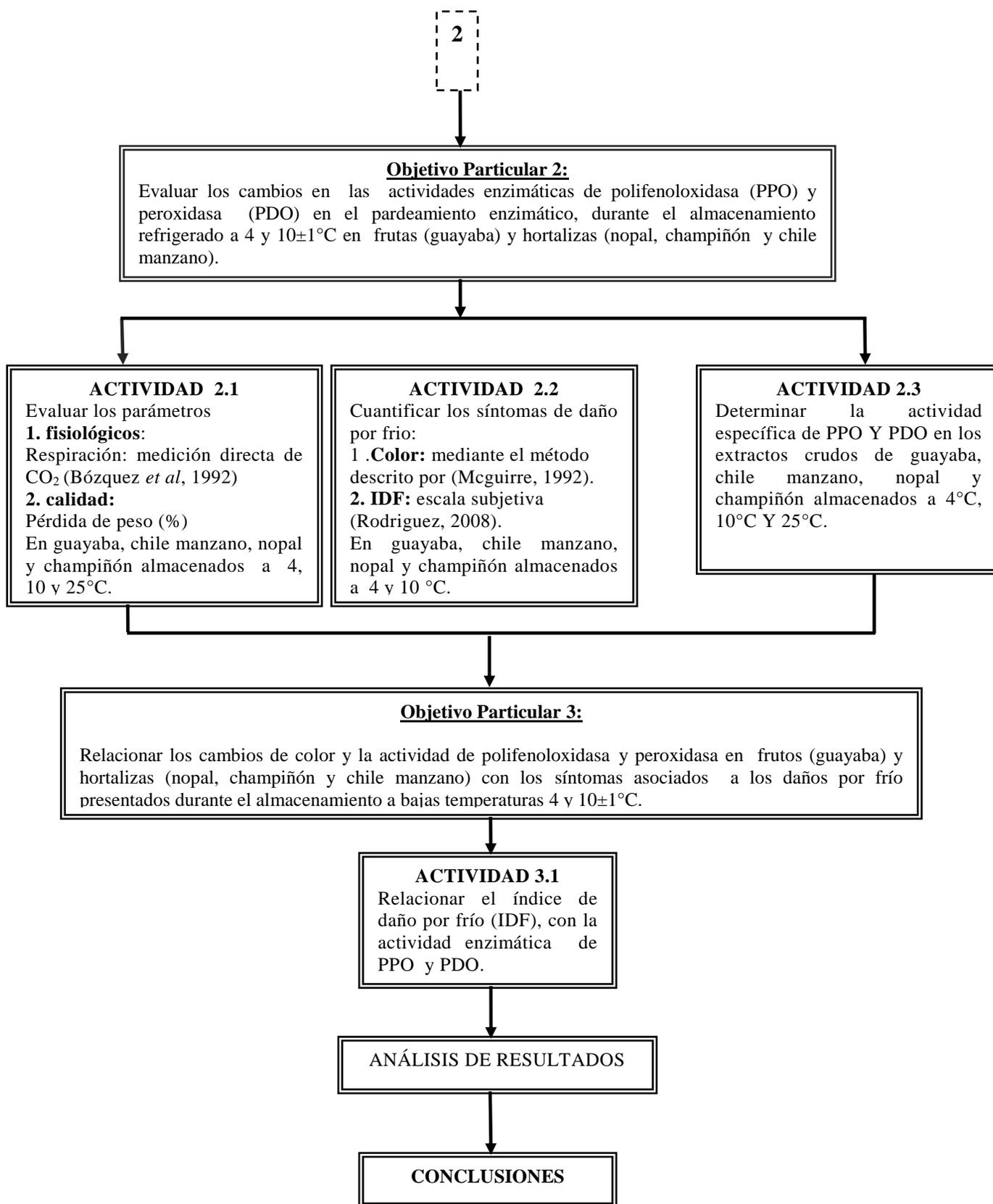


Figura 17. Cuadro metodológico

4.2 Material biológico

Guayaba, chile manzano, champiñón y nopal, fueron adquiridos en la Central de Abastos de la ciudad de México, en su etapa comercial, los frutos se transportaron por vía terrestre en cajas de cartón y cubiertos de papel, posteriormente llevados al Laboratorio postcosecha de Productos vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la UNAM, donde fueron seleccionados cuidadosamente para contar con lotes homogéneos y así realizar su estudio posterior (Figura 18).



Figura 18. Frutas y hortalizas utilizadas como material biológico.

4.3 Tratamiento de la muestra.

Para contar con lotes con características homogéneas se eliminaron las frutas y hortalizas, que presentaron daños físicos y se enumeraron para facilitar su manipulación. Los criterios de selección fueron: tamaño, ausencia de daños en la piel, ausencia visible de microorganismos, madurez y color (Tabla 13).

Tabla 13. Calidad inicial de los productos vegetales en estudio.

Vegetal	Color de la cáscara	Dureza al tacto	Tamaño promedio(cm)	Daños en cáscara	Madurez
Guayaba	Verde-amarilla	Firme y dura	6	Sin daños	comercial
Chile manzano	Verde-amarillo	Firme	5	Sin daños	comercial
Nopal	verde	Firme	10	Ligeramente picado.	
champiñón	crema	Firme	3	Ligeras lesiones	comercial

Nota: El análisis se realizó visualmente.

Los frutos y hortalizas fueron tomados y ordenados en grupos completamente al azar, distribuyendo en 4 lotes a cada producto vegetal con 84 piezas cada uno; posteriormente se ordenaron 30 piezas de cada fruto y hortaliza, formando 3 lotes, representando cada



temperatura de almacén con 10 piezas para pruebas subjetivas y 3 lotes con 18 piezas para pruebas destructivas respecto a cada temperatura crítica, óptima y de almacén como se muestra en la (Tabla 14).

Tabla 14. Diseño experimental 1. (Distribución de lotes).

		Pruebas subjetivas			Pruebas destructivas		
Fruto/ hortaliza	Piezas	T°C crítica 4 ±1°C	T°C óptima 10 ±1°C	T°C control 25 ±1°C	T°C crítica 4 ±1°C	T°C óptima 10 ±1°C	T°C control 25 ±1°C
Guayaba	84	10	10	10	18	18	18
Champiñón	84	10	10	10	18	18	18
Chile manzano	84	10	10	10	18	18	18
Nopal	84	10	10	10	18	18	18

4.4 Evaluación del efecto del almacenamiento a bajas temperaturas en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.

Para evaluar el efecto sobre los parámetros fisiológicos, de calidad “respiración y color”, actividad enzimática (PPO, PDO), y daños por frío durante la conservación de frutos y hortalizas, cada evaluación se realizó por triplicado para obtener resultados representativos de las muestras analizadas de acuerdo a las técnicas descritas, realizando muestreos cada 0, 5, 10, 15 y 20 días de almacenamiento, para cada temperatura.

4.4.1 Establecimiento de las condiciones de temperatura, para el almacenamiento en frío de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.

Para establecer el efecto de las bajas temperaturas en guayaba, chile manzano y nopal se almacenaron 4 lotes de 10 frutas y hortalizas respectivamente a 4, 10, y 25 ±1°C, durante 20 días. Tres lotes de 10 frutos/hortalizas fueron utilizados para el índice de daño por frío, a lo largo de su almacenamiento. Cabe resaltar que el champiñón fue almacenado sólo a 4 y 25 ±1°C, debido a que este producto vegetal no es susceptible a los daños por frío, ya que soporta temperaturas por debajo de los 2°C, por lo que almacenarlo a 10 ±1°C, no lo perjudica.



4.5 Determinación de la Actividad de PPO y PDO

Para las enzimas PPO y PDO se obtuvieron las condiciones óptimas para evaluar la actividad de los productos vegetales en estudio. Se tomaron al azar 3 frutos. Posteriormente fueron obtenidos sus respectivos extractos crudos de pulpa de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón en estado comercial, de acuerdo al método propuesto por cano *et al.* (1997). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

4.5.1 Selección de condiciones óptimas para evaluar la actividad de las enzimas PPO y PDO

La actividad enzimática de los frutos de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón fue previamente determinada con el fin de obtener condiciones óptimas de actividad específica. Las condiciones evaluadas para ambas enzimas fueron:

- **Efecto del pH.**

El efecto del pH se determinó sobre la actividad de PPO y PDO en los extractos crudos de la pulpa, utilizando solución buffer fosfato 10mM en un intervalo de 5.5, 5.7, 6, 6.5 y 7, los ensayos se llevaron a cabo mediante el método propuesto por Cano *et al.*(1997).

- **Efecto de la temperatura.**

La temperatura óptima de actividad de PPO y PDO se determinó en los extractos crudos a 20, 30 y 40°C. Las mezclas de reacción utilizadas para los ensayos de actividad fueron incubadas a las temperaturas antes mencionadas, en baño maría teniendo cuidado en el control de la temperatura.

- **Efecto del tipo de sustrato**

La actividad de la PPO se determinó con distintos sustratos entre ellos el catecol y la dopamina hidroclicada [marca Sigma]. Para la enzima PDO se utilizó guayacol, resorcinol y *p-fenilendiamina* [marca Sigma] los datos obtenidos fueron expresados como $\Delta\text{Abs}/\text{mg}*\text{prot}$.

- **Efecto de la concentración de sustrato**

La actividad de PPO y PDO fue determinada a 420 y 485 nm respectivamente, con el sustrato óptimo a concentraciones de 0.010, 0.04, 0.07, 0.10 y 0.15M, posteriormente los datos obtenidos fueron observados mediante un gráfico para cada uno de los productos vegetales.

4.6 Evaluación de la relación de las actividades enzimáticas PPO y PDO con los síntomas de daño por frío e índice de color que se desarrolla en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón almacenados a diferentes temperaturas.

Las actividades PPO y PDO, se determinaron y fueron correlacionadas con el índice de daño por frío y posteriormente índice de color, con el fin de obtener la relación que existe entre la actividad de las enzimas antes mencionadas.

4.7 Métodos analíticos

4.7.1 Parámetros químicos

- **Determinación de proteína**

La cantidad de proteína presente en los extractos crudos de los frutos y hortalizas en estudio se determinó por el método de Lowry *et al.* (1963), con albúmina sérica bovina (sigma) 0.1%. Los valores de concentración de proteína se determinaron por interpolación grafica en una curva patrón obtenida a una longitud de onda de 720nm utilizando un espectrofotómetro (marca termo spectronic). Los resultados se expresaron en mg de proteína/mL de extracto crudo (Figura 19).



Figura 19. Espectrofotómetro

4.7.2 Parámetros de calidad

- **Pérdida de peso fisiológica**

La pérdida de peso de los frutos y hortalizas se determinó comparando el peso inicial del primer día a su llegada al centro de estudio, mediante una diferencia del peso inicial y final

de los frutos /hortalizas y fue determinada utilizando una balanza semianalitica (marca Orus) (Figura 20). El resultado se expresó como el porcentaje del peso perdido del fruto/hortaliza durante el almacenamiento.



Figura 20. Balanza semianalitica utilizada para la determinación de la pérdida de peso

- **Determinación de color**

Los cambios de color en piel de guayaba, champiñón, chile manzano y nopal se registraron mediante un colorímetro (marca Minolta, CR-300), permitiendo obtener valores L, a y b; donde L* indica la luminosidad o brillo, a* representa la gama del color desde el verde para valores negativos, hasta el rojo para los valores positivos, b* representa la gama de color desde el azul para los valores negativos, hasta el amarillo para valores positivos (Figura 21).



Figura 21. Colorímetro

Los resultados se expresaron, mediante el índice de color IC* obtenido por la ecuación (1) donde L, a, y b son los parámetros del sistema color (Vignoni, 2006).

$$IC^* = \frac{a * 1000}{L * b} \quad \boxed{\text{Ec. (1)}} \quad \boxed{} \quad \boxed{}$$

Si IC* es negativo (-40 a -20): los colores van desde el azul-violeta al verde profundo.

Si IC* es negativo (-20 a -2): los colores van del verde profundo al verde amarillento.

Si IC* está entre -2 a +2, representa el amarillo verdoso.

Si IC* es positivo (+2 a +20): los colores van desde el amarillo pálido al naranja intenso.

Si IC* es positivo (+20 a +40): los colores van desde el naranja intenso al rojo profundo.



- **Determinación de índice de daño por frío (IDF)**

Los síntomas de daño por frío o índice de severidad se calculó mediante la ecuación (2) descrita por Pérez-Tello *et al.* (2001), basada en la intensidad del oscurecimiento y la escala de índice de daño por frío (Tabla 15). La ecuación se presenta de la siguiente forma.

$$IDF = \Sigma \left(\frac{x_i * 1 + x_i * 2 + x_i * 3 + x_i * 4 + x_i * 5}{N} \right) \quad \boxed{\text{Ec. (2)}}$$

X_i= Número de frutos en cada grado de daño.

1, 2, 3, 4 y 5 = grado de daño en la escala utilizada

N= número total de frutos/hortalizas, por unidad experimental.

Tabla 15. Escala numérica que describe la intensidad del daño por frío, basada en observaciones visuales externas de los frutos.

Puntaje	1	2	3	4	5
Severidad del daño	0% (Ninguno)	1-25% (Incipiente)	26-50% (Moderado)	51-75% (Severo)	76-100% (Muy severo)
Síntomas	No visibles	Punteo incipiente	Zonas pequeñas de color pardo.	Lesiones superficiales grandes, necrosis, frutos no comercializable.	Necrosis, severo daño.

Fuente: Rodríguez (2008).

4.7.3 Parámetros fisiológicos.

- **Determinación de respiración**

La respiración de los frutos/hortalizas se determinó tomando en cuenta la producción de CO₂ generado por los fruto/hortalizas, utilizando el método del sistema cerrado que se basa en la medición directa de CO₂, los frutos/hortalizas se mantienen en un contenedor sellado y se mide la acumulación de CO₂ en la atmósfera del contenedor sellado después de un período de tiempo específico, no mayor a 1 hora para evitar daño al fruto/hortaliza por agotamiento de O₂ y acumulación de CO₂ en la atmósfera que lo rodea, para la cuantificación se conectó la salida del contenedor a un analizador de oxígeno/carbono y dióxido (marca 902D-Dual trak).

Los resultados de la producción de CO₂ se expresaron en mg CO₂ Kg⁻¹h⁻¹ (Figura 22).



Figura 22. (A) Sistema cerrado con fruto adentro, (B) Analizador de CO₂ utilizado para medir la intensidad respiratoria.

4.7.4 Parámetros bioquímicos

La actividad de las enzimas (PPO y PDO), se realizó tomando como referencia el método propuesto por Cano *et al.* (1997), el cual se basó en la determinación espectrofotométrica del color que se genera a partir de la acción del extracto de la enzima sobre un sustrato fenólico.

- **Extracción de la enzima**

El extracto crudo enzimático fue preparado de acuerdo al método descrito por Cano *et al.* (1997) con las siguientes condiciones se pesaron 200 mg de pulpa del fruto/hortalizas y se maceraron con nitrógeno líquido en cámara de refrigeración a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Se mezclaron con 1mL de buffer fosfato 0.2 M a pH 7.0, se centrifugaron a 12000 rpm por 30 min, posteriormente se extrajo el sobrenadante y se consideró como extracto de la enzima, se congeló hasta la determinación de la actividad de la (PPO) y (PDO).

- **Actividad de la enzima polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO).**

La actividad enzimática (PPO) y (PDO) se determinó por medición de la velocidad de aumento de la absorbancia a 420 y 485nm respectivamente en un espectrofotómetro (marca Termo spectronic, GENESIS 10 UV), durante 4 min. Se utilizó como blanco la muestra de la reacción sin el extracto enzimático en lugar de este se le agregaron 100 μL de agua destilada, la mezcla de cada reacción contenía una solución como se muestra en la (Tabla 16):



Materiales y métodos

Tabla 16. Condiciones de la mezcla de reacción para determinar la actividad de (PPO) y (PDO).

*Buffer [0.2M]	*Concentración [M]	*pH	*sustrato	*T°C Mezcla	*Extracto enzimático		*Resultados
1.45mL	0.07	7	Dopamina Hidroclorada	40	100µL		$\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ mg de prot}^{-1}$.
•Buffer [0.2M]	•Concentración [M]	•pH	•sustrato	•T°C Mezcla	•Extracto enzimático	•reactivo	•Resultados
1.35mL	0.07	5.0	100 µL de <i>p-fenilendiamina</i>	30	100 µL	50 µL H ₂ O ₂ (15%)	$\Delta A_{485} \text{ min}^{-1} \text{ mg de prot}^{-1}$.

*Condiciones para PPO ■
 •Condiciones para PDO ■
 Sin uso de algún reactivo ■

- **Condiciones óptimas para la actividad específica de la enzima polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO).**

Con la finalidad de establecer las condiciones óptimas de actividad de polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO) en guayaba, chile manzano, champiñón y nopal en estudio se evaluaron las diferentes condiciones que intervienen en la actividad específica de las enzimas (Tabla 17).

Tabla 17. Condiciones experimentales para determinar la actividad enzimática de (PPO) Y (PDO).

	T°C óptima	pH óptimo	Tipo de sustrato	Concentración de sustrato [M]
Polifenoloxidasas (PPO).	20, 30 y 40	5.5, 5.7, 6.0, 6.5 y 7.0	Dopamina hidroclorada (C ₈ H ₁₁ NO ₂ HCL) y Catecol.	0.010, 0.04, 0.07, 0.1 y 0.15
Peroxidasas (PDO).	20, 30 y 40	5.5, 5.7, 6.0, 6.5 y 7.0	Guayacol, resorcinol y de <i>p-fenilendiamina</i> (C ₆ H ₈ N ₂) (10mg/ mL).	0.010, 0.04, 0.07, 0.1 y 0.15

4.7.5 Análisis estadístico

Para determinar el efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento, cambios de color y la actividad de polifenoloxidasas y peroxidasa en frutos (guayaba) y hortalizas (nopal, champiñón y chile manzano) con los síntomas asociados a los daños por frío se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) y se aplicó la prueba de rango múltiple por medio del programa estadístico “The (SAS) System for Windows 9.0”.



Para establecer posibles relaciones entre las actividades enzimáticas y los parámetros de color e índice de daño por frío se realizaron correlaciones que miden el grado de covariación entre distintas variables, a las cuales se les aplicó un análisis estadístico de significancia (prueba t para el coeficiente de correlación r de Pearson), utilizando la ecuación (3), con el fin de probar la existencia de una relación entre dos variables (Ritchey, 2005).

$$t_r = r \left(\sqrt{n - 2} / \sqrt{1 - r^2} \right) \quad \boxed{\text{Ec. (3)}}$$



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Selección de los parámetros adecuados para la medida de actividad enzimática polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO).

Con la finalidad de establecer condiciones óptimas de actividad específica de las enzimas polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO). Diversas condiciones experimentales se estudiaron en diferentes productos vegetales evaluando los factores capaces de influir en la actividad enzimática.

5.1.1 Parámetros óptimos para la actividad de la enzima polifenoloxidasas (PPO).

- **Temperatura óptima (°C)**

Al evaluar la temperatura óptima de la actividad enzimática de polifenoloxidasas (PPO), en extractos crudos de guayaba, se observó que a 40°C se reportó una máxima actividad específica de 0.309 Δ abs/mg.proteína, sin embargo a temperaturas menores se mostró un descenso paulatino en la actividad enzimática con un 0.001 Δ abs/mg. proteína a 20°C (Figura 23-A).

Mientras que para los extractos crudos de chile manzano, la máxima actividad específica de la polifenoloxidasas (PPO) se presentó a 40°C con 4.255 Δ abs/mg.proteína; contrario a 20 y 30°C donde se observaron actividades de 0.078 y 0.283 Δ abs/mg.proteína, respectivamente (Figura 23-B).

En la figura 23-C se observa un comportamiento constante ya que la máxima actividad específica para los extractos crudos de nopal se mostró a 40°C, reportando 1.230 Δ abs/mg.proteína respecto a 0.018 Δ abs/mg.proteína a 20°C.

La figura 23-D muestra la temperatura óptima para extractos crudos de champiñón alcanzando una máxima actividad de 1.773 Δ abs/mg.proteína con 40°C, mientras que a 20 y 30°C se reportó 0.272 y 0.223 Δ abs/mg.proteína, respectivamente.



Resultados y discusión

La temperatura de máxima actividad para los extractos crudos de guayaba, champiñón, chile manzano, y nopal fue a 40°C, sin embargo Yoruk y Marshall (2003) mencionan, que a altas temperaturas la integridad de la delicada estructura tridimensional de la molécula de la enzima polifenoloxidasasa puede ser desnaturalizada, en un estudio realizado por Villatoro (2005) muestra que después de 40°C la actividad enzimática de los extractos crudos en piel y pulpa de mango disminuyen considerablemente, con la obtención de un punto máximo y posteriormente su disminución.

Por lo que la temperatura a la cual la actividad catalítica es máxima se llama temperatura óptima y por arriba de esta temperatura el aumento de velocidad de la reacción, es contrarrestada por la pérdida de actividad catalítica, debida a la desnaturalización térmica, así la actividad enzimática decrece rápidamente hasta anularse (Soko, 2013).

Las velocidades de reacción son generalmente sensibles a la temperatura. En el caso de las reacciones biomoleculares, un aumento de 10° C incrementa su velocidad entre 1,5 y 5 veces. Para muchas enzimas la región de inactivación térmica está muy próxima de la temperatura óptima.

Para explicar este hecho se postuló que al acrecentar la temperatura aumenta la fracción de moléculas capaces de tener una energía suficiente para alcanzar un "estado activado". Los límites de actividad para la mayor parte de las enzimas tiene lugar entre los 10 y 50°C (Mathews, 2002).

Trejo-Márquez *et al* (2010), reportó en pulpa de frutos de mango una temperatura óptima de (40°C), Cob *et al.* (2010) obtuvo en pitaya amarilla un comportamiento similar logrando un valor máximo de actividad específica de 45°C.

Cabe mencionar que no tiene que ser una relación de más temperatura más velocidad de reacción, porque hay muchas enzimas que su punto máximo puede estar en unos grados más bajos (Soko, 2013).

El cambio de la actividad de la polifenoloxidasasa (PPO), puede ser atribuido a que la variación en la temperatura, puede alterar la solubilidad del oxígeno, necesario para llevar a cabo su actividad catalítica (Trejo-Márquez *et al.*, 2010).

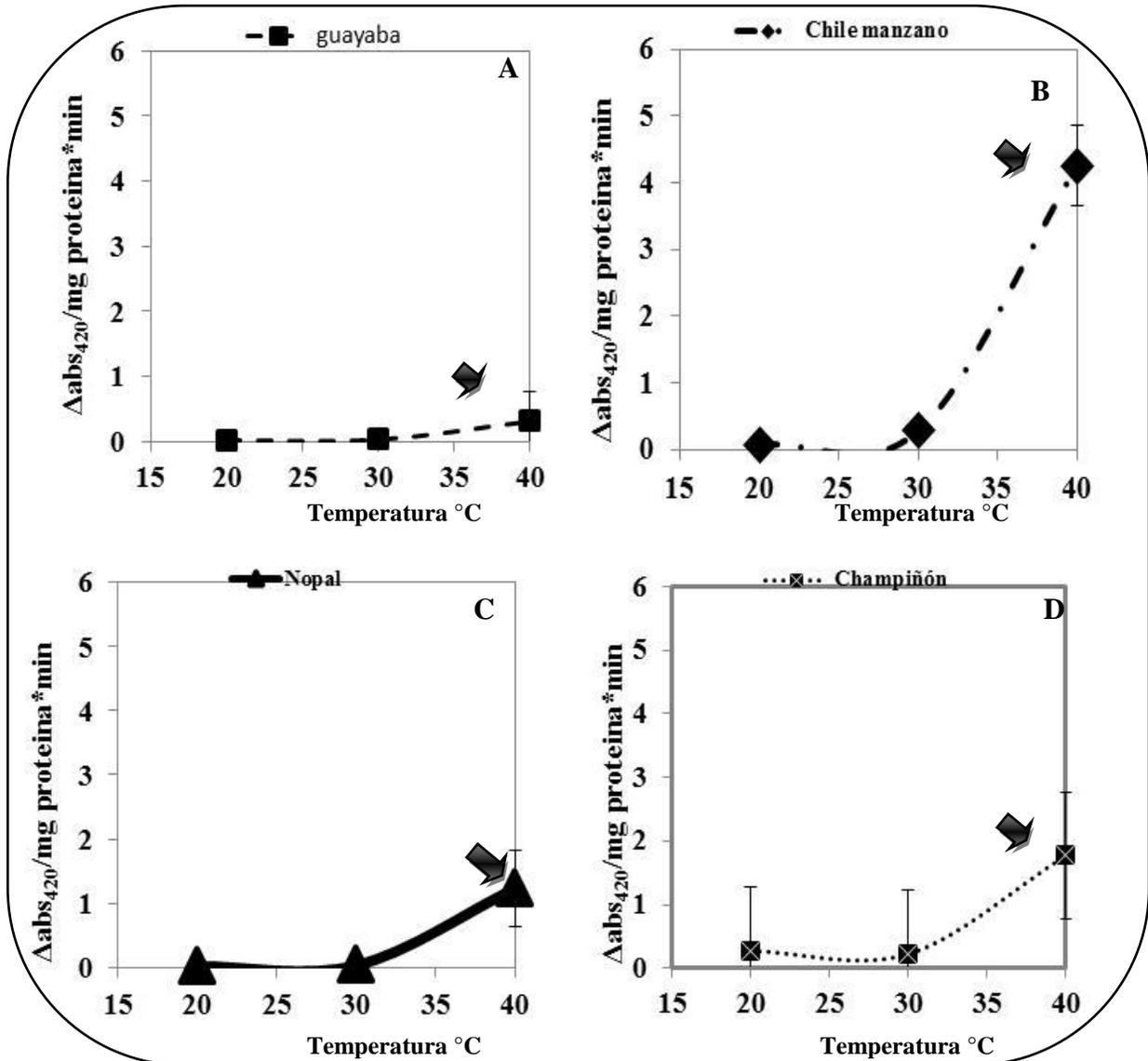


Figura 23. Efecto de la temperatura sobre la actividad específica de la polifenoloxidasasa (PPO), en extractos crudos de (A) Guayaba, (B) Chile manzano, (C) Nopal y (D) Champiñón. La flecha indica la máxima actividad específica alcanzada. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

A medida que aumenta la temperatura, las moléculas que forman parte del sustrato van a incrementar su energía cinética, es decir un aumento en la temperatura provocará un aumento en la movilidad de las moléculas de los sustratos y de esta manera aumentará la velocidad de reacción, esto termina hasta un punto, donde si se sigue aumentando la temperatura óptima,



Resultados y discusión

disminuye la velocidad de reacción, hasta que la proteína pierda su estructura cuaternaria y su capacidad de actuación, entre 50° y 60 °C (Selectividad, 2013).

Si la enzima pierde su estructura por la desnaturalización, ya no será capaz de realizar su función, así la actividad enzimática y la velocidad de reacción disminuirán, por esta razón se considera una temperatura óptima, donde la enzima alcanza una velocidad máxima para la reacción, por lo tanto no se consideró realizar el estudio a temperaturas mayores de 40°C.

McKee (2003) establece que la actividad específica de la polifenoloxidasas (PPO) se lleva a cabo a una temperatura de 40°C, la temperatura óptima para la mayoría de las reacciones enzimáticas, con pocas excepciones, está entre 30 y 40°C, en que la actividad es máxima. Las enzimas muestran, a menudo, una marcada fragilidad térmica. Cuando se calientan a temperaturas superiores a los 50°C la mayoría de las enzimas, pero no todas, se desnaturalizan. La mayoría de las enzimas son, pues, muy termolábiles y habitualmente es suficiente aplicar una temperatura de 40 a 80°C, a fin de destruir su actividad.

- **pH Óptimo**

El pH modifica la concentración de protones, responsables de alterar la estructura tridimensional de la enzima y el sustrato, 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 la enzima, el grado de ionización de aminoácidos de la proteína; incluyendo a los del sitio activo y sustrato, o del complejo enzima-sustrato y a su vez sobre la afinidad que tenga la enzima por el sustrato; aunque la actividad de las enzimas depende fuertemente de la concentración de iones hidronio del medio (Fennema, 1995).

En la tabla 18 se muestra el efecto del pH del buffer fosfato sobre la actividad específica de la polifenoloxidasas (PPO) en extractos crudos de guayaba, chile manzano, champiñón y nopal.



Resultados y discusión

Tabla 18. Efecto del pH del Buffer (5.5, 5.7, 6, 6.5 y 7) sobre la actividad específica de la polifenoloxidasas (PPO) en extractos crudos de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.

	pH				
	5.5	5.7	6	6.5	7
	$\Delta\text{abs}_{420}/\text{mg. proteína}*\text{min}$				
Guayaba	0.042	0.065	0	*0.309	0.029
Chile manzano	1.841	0.247	*4.255	0.277	3.791
Nopal	0.100	0.334	0	0.619	*1.230
Champiñón	1.731	*1.953	1.707	1.364	1.773

*Máxima actividad de la PPO alcanzada con el pH óptimo

El extracto crudo de chile manzano alcanzó su máxima actividad específica con la enzima polifenoloxidasas (PPO) a pH 6.0, mientras que una unidad por arriba y por debajo de este pH disminuye su actividad enzimática. Este hecho puede atribuirse a que a un pH de 6.0, la carga neta de los aminoácidos del sitio activo y de la enzima, pueden favorecer las interacciones con el sustrato (Flores *et al.*, 2000).

Los extractos crudos de nopal presentaron su máxima actividad específica a pH de 7, Estudios realizados con plantas de vainilla demuestran que a pH de 7-8, se presentó un aumento en su actividad enzimática (Krzysztof-Pardio, 2009). Coincidiendo con estudios para el fruto de litchi, quienes reportan un pH de 7.0 para esta enzima. A pH's menores de 7.0 la actividad de la enzima polifenoloxidasas (PPO) extraída de la pulpa del frutos de litchi fue apenas detectable (Phunchaisri y Apichartsrangkoon (2005).

Por otro lado los extractos de champiñón presentaron su máxima actividad específica a pH de 5.7. Lamikanra (2001) reporta que la mayor parte de frutas y hortalizas tienen un pH óptimo de 6-6.5, en el caso de hongos comestibles se encontró a pH 6.5. Otros autores reportan que el pH óptimo para la PPO del champiñón se encuentra entre 5.5 a 7.0

Mientras que para los extractos crudos de guayaba se presentó la máxima actividad específica de la polifenoloxidasas (PPO) a pH de 6.5. Se ha publicado frecuentemente que el pH óptimo para la actuación de esta enzima (PPO), comprende valores entre 5.0 y 7.0 (Kader *et al.*, 1997).



Ashie *et al.* (1996) afirmaron que generalmente las polifenoloxidasas procedentes de varias fuentes son inactivadas a valores de pH inferiores a 4 y que el factor pH es determinante en el pardeamiento enzimático. Por otro lado la intensidad y croma resultante del oscurecimiento varían ampliamente dependiendo del fenol precursor y de las condiciones químicas ambientales, entre ellas el pH (Nicolas *et al.*, 1994).

La influencia del pH sobre la actividad específica de la polifenoloxidasa (PPO), permite la identificación de 2 puntos un ácido y un neutro y se ha demostrado que dependiendo de su pH existen 2 tipos de polifenoloxidasa (PPO).

En el caso del champiñón con un pH de 5.7 se consideró una PPO ácida, estudios realizados reportan que el primer tipo de PPO son las acídicas, quienes presentan un pH óptimo en torno a 4.5 unidades como las descritas en fresa 4.2 (Wesche y Montgomery, 1990) y en tomate 4.6 (Casado, 2004). Mientras que el chile manzano, guayaba, y el nopal presentan un pH óptimo de 6-6.5 y 7 respectivamente perteneciendo a un segundo grupo con pH ligeramente neutro como los reportados en peras con un pH de 7.0 y alcachofas a pH de 7.8 (Zhon y Feng, 1991; Tülin-Aydemir *et al.*, 2003). En general, la mayoría de los frutos muestran una actividad máxima a valores cercanos a pH's Neutros (Mathews *et al.*, 2002).

- **Sustrato óptimo**

La gran diversidad estructural y funcional característica de los compuestos fenólicos y polifenoles ha dificultado la tarea de definir este extenso conjunto de sustancias naturales a las que se agrupó por el hecho de poseer un anillo aromático con sustituyentes hidroxilo. Los sustratos responsables son de tipo *orto-fenólico* como el ácido clorogénico-tirosina-catecol, ácido cafeico, ácido gálico-hidroquinonas y antocianos-flavonoides (Fennema, 1995).

Para poder registrar la máxima actividad de la enzima PPO, se utilizó catecol y dopamina hidroclicorada con el fin de elegir el mejor sustrato. En la tabla 19 se observó el efecto del tipo de sustrato sobre la actividad específica de la polifenoloxidasa (PPO) en extractos crudos de guayaba y chile manzano registrando 0.309, 1.707 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, respectivamente con el sustrato dopamina hidroclicorada; en cuanto al sustrato catecol se presentó una mínima



Resultados y discusión

actividad, mientras que en nopal y champiñón de 1.230 y 1.953 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, para dopamina hidroclicorada, respecto al sustrato catecol se presentó una mínima actividad específica (Tabla 19).

Tabla 19. Efecto del tipo de sustrato catecol y dopamina, sobre la actividad específica de la polifenoloxidasasa (PPO) en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.

Vegetal	Sustrato	$\Delta\text{abs}_{420}/\text{mg proteína}\cdot\text{min}^{-1}$
Guayaba	Dopamina hidroclicorada	0.309
	Catecol	*N.D
Chile manzano	Dopamina hidroclicorada	1.707
	Catecol	0.502
Nopal	Dopamina hidroclicorada	1.230
	Catecol	*N.D
Champiñón	Dopamina hidroclicorada	1.953
	Catecol	0.650

Cada valor representa la máxima actividad específica alcanzada con el sustrato óptimo.

Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

**N.D. No se detectó.*

Estos resultados fueron similares a los estudios realizados en mango (variedad Haden), donde se presentó mayor afinidad por el sustrato dopamina (Trejo-Márquez *et al.*, 2010).

Contrario a diversos estudios realizados han demostrado que los derivados de catecol son los sustratos más adecuados para la medida de la reacción de polifenoloxidasasa (PPO) debido a la estabilidad de los compuestos quinónicos resultantes (Robards *et al.*, 1999).

Sin embargo se ha demostrado en estudios realizados con banano, “*Musa acuminata*”, que la dopamina es el sustrato más reactivo para la polifenoloxidasasa (PPO) en comparación con otros sustratos, como por ejemplo: L-dopa, catecol y ácido clorogénico; debido a que algunas de las reacciones de pardeamiento resultan de la oxidación enzimática de la dopamina (3,4 dihidroxi fenil-etil- amina). Respecto al efecto generado por el sustrato catecol en los extractos crudos de guayaba no se registró actividad; aunque se sabe que existe una amplia variedad de compuestos fenólicos y entre ellos las catequinas o el catecol que es uno de los sustratos naturales de la polifenoloxidasasa (Queiroz *et al.*, 2008), sin embargo, solo una parte relativamente pequeña de ellos sirve como sustrato para PPO. El 4-metilcatecol es el sustrato más afín con el sitio activo de la enzima (Dogan *et al.*, 2005).



Casado (2004), menciona que las variables como la carga, negativa o positiva, cerca del anillo fenólico interfiere en el proceso catalítico, resultando en una disminución de la actividad específica. Tal es el caso de algunos sustratos como el ácido Cafeico, ácido protocatequico y el catecol utilizado como sustrato para la reacción enzimática en este estudio.

Como se sabe el sustrato es cualquier sustancia orgánica o inorgánica sobre la que actúan las enzimas produciendo su modificación en productos finales de la reacción. Cada enzima actúa sobre un sustrato en particular, ya que una de las características de las enzimas es su especificidad por el sustrato.

Por ejemplo, para los extractos crudos de guayaba y nopal solo el sustrato dopamina resultó tener mayor actuación en la reacción lo que significaría un 100% respecto al catecol, lo que corresponde decir respecto al porcentaje del sustrato catecol sobre la actividad de chile manzano y champiñón frente al sustrato dopamina fue de 29.41 y 33.28% respectivamente. Por lo que existe una diferencia significativa $p \leq 0.05$ respecto al estudio de la actividad enzimática presentada con catecol y dopamina.

- **Efecto de la concentración de sustrato óptimo**

La concentración del sustrato afecta, también a la velocidad de la reacción enzima-sustrato, y ordinariamente se duplica la velocidad de formación de productos finales hasta un punto donde la concentración del sustrato ya no influye sobre la velocidad de formación de productos finales (Trejo-Márquez *et al.*, 2010).

Para las diferentes medidas de actividad de PPO, bajo cada concentración experimental evaluada, se realizó una gráfica de concentración de sustrato (dopamina) contra la absorbancia leída y se tomó la parte lineal de la curva obtenida. Con el dato del contenido de proteína de cada extracto enzimático evaluado, se calculó la actividad específica como el cambio de absorbancia a $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1}$.

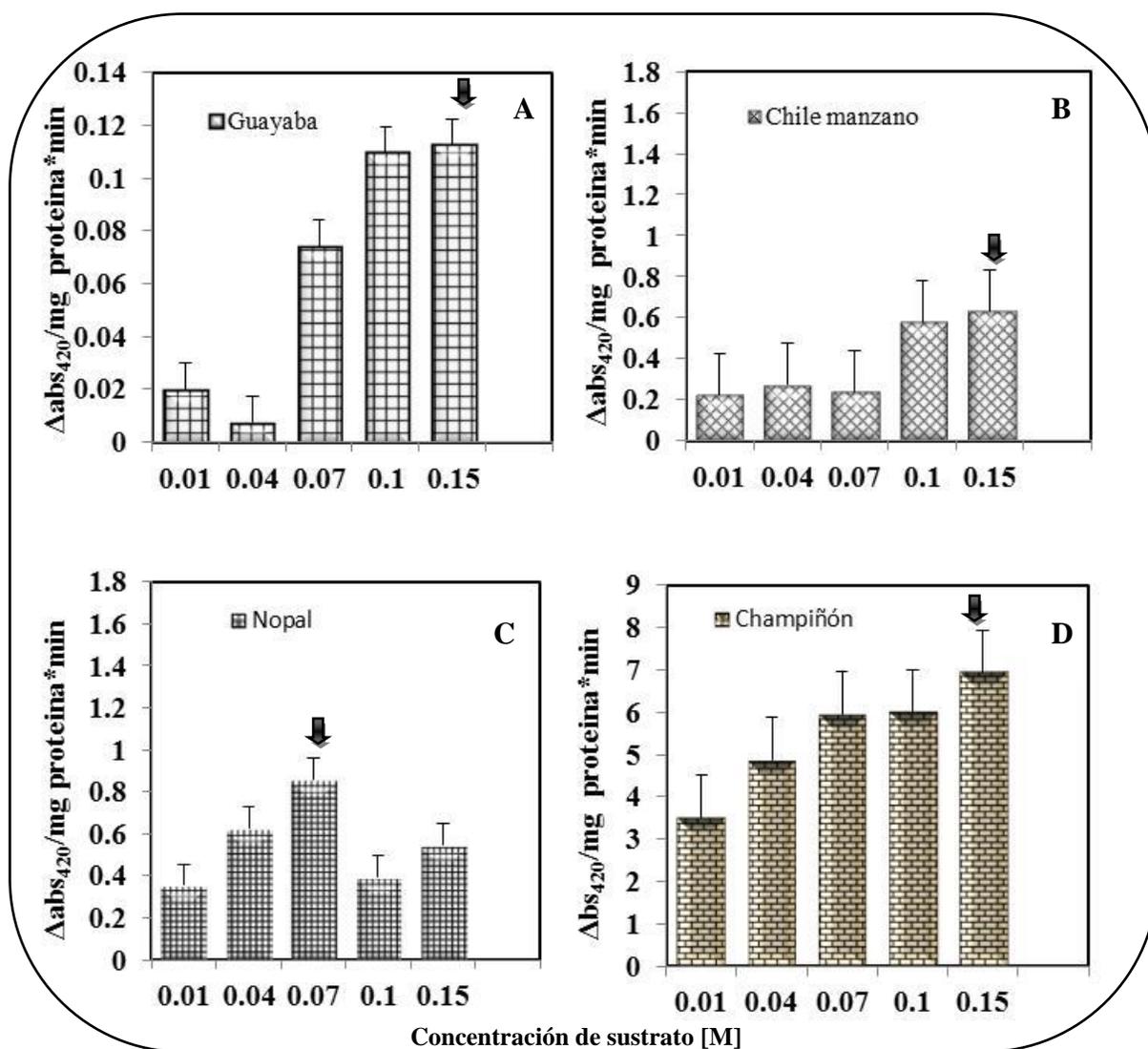


Figura 24. Efecto de la concentración de dopamina hidrocloorada (0.010, 0.04, 0.07, 0.1, 0.15M), sobre la actividad específica de la polifenoloxidas (PPO), en extractos crudos de (A) guayaba, (B) chile manzano, (C) nopal y (D) champiñón. La flecha indica la máxima actividad específica alcanzada. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

En la figura 24-A se observa que la actividad específica de polifenoloxidas en extractos crudos de guayaba no presentó una clara tendencia en su comportamiento debido a los valores bajos en su actividad, encontrándose un máximo de 0.112 Δ abs/mg*prot a 0.15 M, frente a 0.0073 Δ abs/mg*prot con 0.04M. Estos valores pudieron estar fuertemente afectados por el manejo de la muestra en el momento de la determinación o por errores humanos.

Por otro lado la figura 24-B muestra el máximo de actividad a 0.15 M con 0.633 Δ abs/mg*prot, frente a 0.222 Δ abs/mg*prot con 0.01M, para los extractos crudos de chile manzano.



Resultados y discusión

En la figura 24-C se observa la actividad específica de polifenoloxidasas (PPO) en extractos crudos de nopal donde el máximo de actividad específica fue a 0.07M con 0.859 $\Delta\text{abs}/\text{mg}*\text{prot}$, frente a 0.15 M con 0.547 $\Delta\text{abs}/\text{mg}*\text{prot}$, sin embargo se observa que a altas concentraciones disminuye la actividad específica, la razón por la que la velocidad no aumentó a mayores concentraciones de sustrato, es porque el centro activo de la enzima está saturado de sustrato, así la enzima está trabajando al máximo de su capacidad y por lo tanto la velocidad de reacción es independiente de la concentración (Biología-arizona, 2013).

El comportamiento presente en los extractos crudos de nopal, no era de esperarse, ya que se muestra en la figura 24-C una tendencia inconstante respecto a dos concentraciones, sin embargo se debe tomar en cuenta que al trabajar con extractos crudos, las enzimas se encuentran formando parte de mezclas complejas, usualmente en el interior de células que además poseen cientos de otras enzimas y pueden formar parte de agregados moleculares complejos con otras enzimas, proteínas inertes, ácidos nucleídos, polisacáridos o lípidos, por lo tanto no se puede descartar la existencia de otras enzimas como las isoenzimas y aloenzimas (Payala-mayo, 2013).

Mientras que la actividad específica de polifenoloxidasas (PPO) en los extractos crudos de champiñón figura 24-D, se presentó un máximo a una concentración de 0.15 M con 6.942 $\Delta\text{abs}/\text{mg}*\text{prot}$ frente a 3.529 $\Delta\text{abs}/\text{mg}*\text{prot}$ a 0.01M.

Teniendo en cuenta estos resultados y dados los mayores valores de actividad específica para la enzima PPO, en cada uno de los extractos crudos de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón se reportan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) respecto a cada concentración evaluada.

Toda reacción catalizada por una enzima, si se mantiene constante la concentración del extracto, la velocidad de reacción aumentará exponencialmente al incrementarse la concentración del sustrato, ya que al existir más moléculas de sustrato es más probable el encuentro con la enzima y la formación del complejo enzima-sustrato (Fennema, 1995).



Este aumento de velocidad es rápido para concentraciones bajas de sustrato y, a medida que este aumenta, se va haciendo más lento hasta que la concentración del sustrato alcanza un cierto valor, a partir del cual, aunque aumente la concentración del mismo, no aumenta la velocidad de la reacción (Hernández, 2008).

5.1.2 Parámetros óptimos para la actividad de la enzima peroxidasa (PDO)

- **Temperatura óptima (°C)**

Los extractos crudos de guayaba presentaron su máxima actividad específica para la enzima peroxidasa (PDO) a una temperatura óptima de 40°C reportando 4.229 $\Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$, mostrando mayor actividad respecto a 20 y 30°C por lo que se presentó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en la peroxidasa respecto a la temperatura de incubación (Figura 25-A).

Mientras que para los extractos crudos de nopal la actividad máxima fue de 4.294 $\Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ a 30°C; en extractos crudos de champiñón se presenta una actividad máxima de 4.358 $\Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ a 40°C (Figura 25-B y C) respectivamente.

Los extractos crudos de nopal, champiñón y guayaba; reportaron temperaturas de 30-40°C. Estudios demuestran que las peroxidasas en múltiples tejidos de plantas presentan temperaturas óptimas altas entre los 30 y 60°C (Mika y Luthje, 2003).

Chang *et al.* (1984) señala que la temperatura óptima de la peroxidasa de coliflor es de 40°C, aun cuando a (0°C) presenta un 35% de actividad., esta actividad comenzó a descender a temperaturas mayores de 40 y a 48°C permanece un 50% de la actividad, a 60°C no se presenta.

Sin embargo en estudios realizados con melocotón cuya temperatura óptima se encontró en torno a los 37°C por lo que se puede decir, que las enzimas de los frutos estudiados actúan a altas temperaturas (Brandelli y López, 2005).

Estudios realizados con diversos productos han destacado algunos valores para la enzima peroxidasa (PDO), extraída de repollo cuya temperatura óptima se encuentra en los 45°C

Resultados y discusión

(Fujita *et al.*, 1995), mientras que en frutos de uva caimaron (corteza más pulpa) la actividad enzimática se presentó mejor en el intervalo de 30 a 40°C (Narváez *et al.*, 2002).

Rivera *et al.* (2004) reportó en la pulpa de frutos de uva caimaron una actividad máxima a una temperatura de 37°C.

La mayor parte de las enzimas, en el rango de 30 –40°C se encuentran en el óptimo de su actividad y sobre los 45°C comienzan a desnaturalizarse mientras que a temperaturas bajas de refrigeración y/o congelación las enzimas operan a velocidades muy bajas, pero recuperan su actividad cuando la temperatura se acerca a su óptimo (Chandía, 2000).

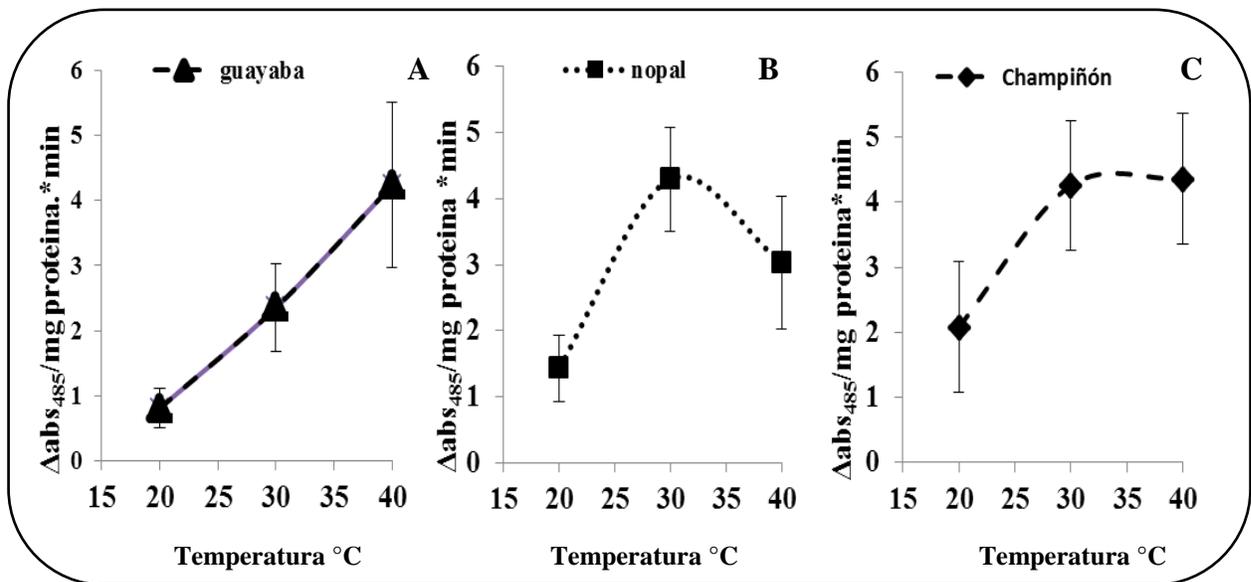


Figura 25. Efecto de la temperatura sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO), en extractos crudos de (A) guayaba, (B) Nopal y (C) Champiñón. La flecha indica la máxima actividad específica alcanzada. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

Se puede observar que al aumentar la temperatura aumenta la actividad específica y esto se le atribuye a que la velocidad aumenta debido al incremento de la energía cinética de las moléculas ocasionando que a temperaturas mayores a 30 °C se obtuviera una actividad específica mayor. Cabe mencionar que la peroxidasa parece ser la enzima más estable al calor y tiene fracciones con diferente resistencia térmica, además posee la capacidad de regenerarse, lo cual no influye en forma importante en el deterioro del producto (Ganthavorn *et al.*, 1991).



Resultados y discusión

• pH óptimo

Varios parámetros son los que determinan el pH óptimo de una enzima, el cual es importante dado que puede afectar el grado de ionización de los aminoácidos que se encuentran situados dentro del sitio activo de la enzima, los grupos ionizables o los del complejo enzima-sustrato (Lee, 1995). Por lo que se determinó el efecto del pH sobre la actividad específica de la Peroxidasa (PDO) y se encontró que en los extractos crudos de guayaba presentaron un pH óptimo de 6.5 con $1.7 \Delta\text{abs}/\text{mg} \cdot \text{prot}$ respecto a $0.97 \Delta\text{abs}/\text{mg} \cdot \text{prot}$ con pH 5.5 (Tabla 20).

Tabla 20. Efecto del pH del Buffer (5.5, 5.7, 6, 6.5 y 7) sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO) en extractos crudos de guayaba, nopal y champiñón.

	pH				
	5.5	5.7	6	6.5	7
	$\Delta\text{abs}_{420}/\text{mg. proteína} \cdot \text{min}$				
Guayaba	0.977	1.009	1.007	*1.720	0.293
Nopal	*4.751	4.294	3.244	3.577	0.720
Champiñón	2.965	4.256	*12.295	4.522	1.752

*Máxima actividad de la PDO alcanzada con el pH óptimo

En la tabla 20 se observó que la actividad específica de la peroxidasa (PDO) en extractos crudos de nopal presentaron un valor máximo de $4.751 \Delta\text{abs}/\text{mg} \cdot \text{prot}$, a un pH óptimo de 5.5; mientras que la máxima actividad alcanzada en extractos crudos de champiñón se presentó a pH óptimo de 6, presentando $12.9252 \Delta\text{abs}/\text{mg} \cdot \text{prot}$.

Todos los resultados anteriormente expuestos fueron similares a los encontrados en soya y plátano en los que se reportan valores de pH de 5.5 y 4.5-5, respectivamente y en diversos frutos a pHs óptimos en torno a 5.0, unidades descritas en manzana, berenjena, patatas, peras, olivas y uva (Vamos-Vigázquez, 1981., Hakim *et al.*, 1998). También se han reportado valores más altos como 6.5 para el camote y la coliflor (Hakim *et al.*, 1998).

Cabe mencionar que la peroxidasa (PDO) al igual que la polifenoloxidasas (PPO) son enzimas que se ven muy afectadas por la concentración de iones fosfato, por lo tanto, la fuerza iónica del medio puede alterar su actividad (Muñoz *et al.*, 2007).



Resultados y discusión

En estudios realizados anteriormente, se obtuvo una alta respuesta de la peroxidasa (PDO), a valores de pH comprendidos entre 5.0 hasta 6.5, estos valores están en el intervalo de los encontrados para esta enzima extraída de la corteza de pitaya amarilla “*Acanthocereus pitajaya*” que fueron desde 5.0 a 5.5 (Baquero *et al.*, 2006).

En repollo “*Brassica oleracea*” se encontró a pH de 6.4 según Fujita *et al.* (1995), para pulpa más corteza de uva caimaroná “*Pourouma cecropiifolia*” de 6.0 (Narvaez *et al.*, 2002), en pulpa de uva caimaroná de 6.0 (Rivera *et al.*, 2004) y para arveja o comúnmente llamada chicharo “*Pisum sativum*” 5.0, 6.0 y 5.0 (Halpin *et al.*, 1984).

En diferentes estudios realizados sobre las condiciones óptimas para otros productos vegetales señalan que a veces el pH óptimo de actividad de la enzima puede ser diferente en función del sustrato utilizado (Bernards *et al.*, 1999) pues se encontró que el pH óptimo para PDO de papa fue de 4.5 con el uso de fenoles ácidos, mientras que utilizando guayacol estuvo entre 5 y 6 (Kahn *et al.*, 1981) esto indicó que el pH óptimo varía también en función del sustrato.

El efecto del pH en la PDO varía de acuerdo a los donadores de hidrógeno, debido a las especificidades de las isoenzimas que se encuentran en un solo vegetal (Ramírez-Villatoro, 2005). La mayoría de las enzimas presentan su máxima actividad a pH entre 4.0 y 9.0; los pH extremos inactivan las enzimas por desnaturalización proteica (Chandía, 2000).

Chang *et al.* (1984) señala que el pH óptimo de la peroxidasa es de 6,5 y según esto está basado en que fuera del pH óptimo la enzima sufre una variación en la conformación de la cadena debido a una variación de la carga de la proteína anfótera (pérdida de parte de la estructura terciaria responsable de la parte activa de la enzima). Esto puede ocasionar un efecto irreversible en la actividad si la variación de pH es drástica; si el efecto es reversible puede deberse a ionizaciones parciales de los grupos ácidos y básicos del centro activo (Jiménez, 1993). La influencia de las condiciones estudiadas: pH y temperatura varían ampliamente dependiendo de la fuente de extracción de la enzima y del sustrato.



• Sustrato óptimo

Un amplio abanico de sustratos como: Guayacol, resorcinol y *p-fenilendiamina* se han elegido por su alta afinidad que tiene con la enzima PDO, por lo tanto se ha estudiado el efecto de estos tres sustratos sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO) y los resultados se muestran a continuación:

Tabla 21. Efecto del tipo de sustrato *p-fenilendiamina*, guayacol y resorcinol, sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO) en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.

Vegetal	Sustrato	$\Delta\text{abs}_{485}/\text{mg proteína}\cdot\text{min}^{-1}$
Guayaba	<i>p-fenilendiamina</i>	4.229
	Guayacol	0.202
	Resorcinol	0.36
Nopal	<i>p-fenilendiamina</i>	4.751
	Guayacol	*N.D
	Resorcinol	0.013
Champiñón	<i>p-fenilendiamina</i>	4.35
	Guayacol	0.57
	Resorcinol	*N.D

Cada valor representa la máxima actividad específica alcanzada con el sustrato óptimo.

Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

*N.D. No se detectó.

En la tabla 21 se puede observar el efecto que tiene el tipo de sustrato sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO), en extractos crudos de guayaba se presentó su máxima actividad enzimática con el sustrato *p-fenilendiamina* registrando 4.229 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, contrario a los sustrato guayacol quien presentó solo 0.202 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$., mientras que para el sustrato resorcinol solo registró 0.36 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$ muy por encima de guayacol. En los extractos crudos de nopal se observó una actividad específica con el sustrato *p-fenilendiamina* y resorcinol de 4.751 y 0.013 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, respectivamente mientras que para los extractos crudos de champiñón su máxima actividad enzimática se observó con *p-fenilendiamina* registrando 4.358 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, sin embargo con el sustrato guayacol solo presentó 0.57 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, obteniendo así una diferencia significativa ($P\leq 0.05$), para cada sustrato respecto a la actividad enzimática de cada producto vegetal en estudio.



Resultados y discusión

La mayoría de los productos vegetales estudiados mostraron una actividad máxima de la enzima peroxidasa (PDO) con el sustrato *p-fenilendiamina*; por lo tanto es importante saber que de acuerdo con la literatura existe una gran variedad de compuestos que pueden actuar como donadores de hidrógeno, incluyendo fenoles tales como: *p-cresol*, guayacol y resorcinol, algunas aminas aromáticas (anilina, bencidina, *o-fenildiamina*, *o-dianisedina*), para que se presente la reacción con la PDO se requiere de O_2 y cofactores como Mn^{2+} y un fenol como la *p-fenilendiamina* (Vamos-Vigyazo., 1981).

Hemeda y Klein (1990) señalan que los mecanismos de acción de la peroxidasa están basados en la formación de un complejo enzima-donante de hidrógeno y cataliza la reacción de ciertos compuestos dadores de hidrógeno.

Sin embargo la PDO tiene una baja especificidad por los sustratos donadores de hidrógeno esto es interpretado como resultado de las diferentes especificidades de las isoenzimas de PDO presentes en los productos vegetales. La peroxidasa (PDO), es una oxidoreductasa que cataliza reacciones usando oxígeno o peróxido como aceptor de hidrógeno. La afinidad de la PDO por el sustrato donador depende de la fuente de la enzima y del grado de pureza de ésta (Vamos-Vigyazo, 1981).

- **Concentración de sustrato óptimo**

De acuerdo a las convenciones de la bioquímica, la proporción de cambio de una reacción química se describe por el número de moléculas de reactante(s) que es convertida a producto(s) en un periodo de tiempo específico. La proporción de cambio de la reacción siempre depende de la concentración de los sustratos involucrados en el proceso y de las constantes que son características de la reacción (Nelson, 2009).

En la figura 26-A se muestra la actividad específica de peroxidasa (PDO) en los extractos crudos de frutos de guayaba a diferentes concentraciones de sustrato óptimo *p-fenilendiamina* donde se observó un máximo de actividad específica a una concentración de 0.1M con 0.12 $\Delta\text{abs}/\text{mg}*\text{prot}$, con una mínima en 0.01M con 0.027 $\Delta\text{abs}/\text{mg}*\text{prot}$ y respecto a la concentración 0.15 no se registró actividad específica, obteniendo diferencia significativa de ($P \leq 0.05$) para las concentraciones utilizadas.

Resultados y discusión

Mientras que el efecto de la concentración de sustrato óptimo *p-fenilendiamina*, sobre la actividad específica de la peroxidasa en extractos crudos de nopal mostrando un máximo a la concentración de 0.15M con 3.22 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$ y 0.066 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$ con 0.01M concentración que mostró ser la más baja (Figura 26-B).

En la figura 26-C se observó el efecto de la concentración de sustrato óptimo sobre la actividad específica de la peroxidasa en extractos crudos de champiñón, donde la máxima fue a una concentración de 0.15M con 5.43 $\Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$.

La velocidad de reacción se incrementa cuando la concentración de sustrato aumenta hasta un determinado valor; de acuerdo con el patrón general de reacciones enzimáticas (McKee, 2003).

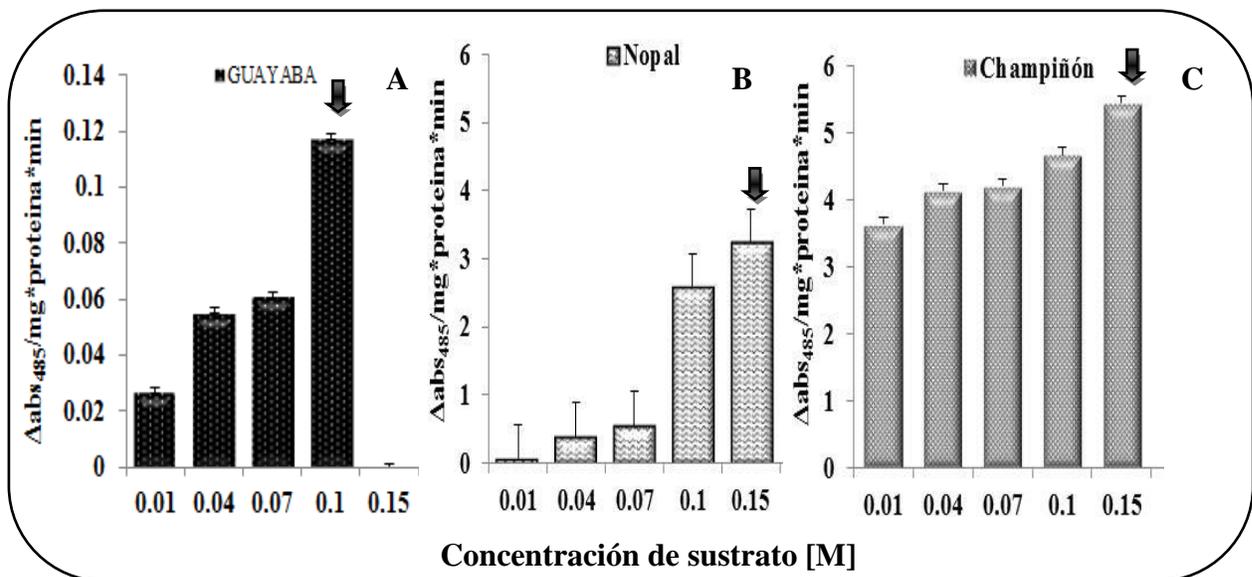


Figura 26. Efecto de la concentración de *p-fenilendiamina* (0.010, 0.04, 0.07, 0.1, 0.15M), sobre la actividad específica de la peroxidasa (PDO), en extractos crudos de (A) de guayaba (B) Nopal y (C) Champiñón. La flecha indica la máxima actividad específica alcanzada. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

Es indispensable que para cada fruto y hortaliza se deba conocer el tipo de enzima que predomina para así poder obtener las condiciones óptimas que harán que esta tenga una mejor reacción ante diferentes procesos y así medir el contenido de esta (Fennema, 1995).



5.1.3 Selección de los parámetros adecuados para la medida de actividad enzimática; polifenoloxidas (PPO) y peroxidasa (PDO).

De acuerdo a los resultados ya antes mencionados en la tabla 22, se pueden ver las mejores condiciones para cada producto vegetal en estudio.

Tabla 22. Condiciones para la enzima polifenoloxidas (PPO) y peroxidasa (PDO).

Vegetal	PPO				PDO			
	pH	T°C	sustrato	[M]	pH	T°C	sustrato	[M]
<i>Guayaba</i>	6.5	40	Dopamina	0.15	6.5	40	<i>p-fenilendiamina</i>	0.1
<i>Nopal</i>	7	40	Dopamina	0.07	5.5	30	<i>p-fenilendiamina</i>	0.15
<i>Champiñón</i>	5.7	40	Dopamina	0.15	6	40	<i>p-fenilendiamina</i>	0.1
<i>Chile Manzano</i>	6	40	Dopamina	0.20	N.D	N.D	N.D	N.D

N.D=No determinado

Las condiciones pueden variar o cambiar, debido al tipo de técnica de extracción, método o protocolo utilizado en la determinación de la actividad enzimática polifenoloxidas (PPO) y peroxidasa (PDO), Tipo, variedad, porción, condición fisiológica y química del fruto y hortaliza a evaluar, incluyendo errores experimentales que se puedan presentar en el transcurso del estudio.

Los resultados obtenidos ofrecen un panorama amplio para el posterior estudio del efecto del almacenamiento a bajas temperaturas en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón, ya que las condiciones óptimas de reacción permiten contar con un método confiable para la determinación de la polifenoloxidas y peroxidasa.

5.2 Efecto del almacenamiento a bajas temperaturas en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.

El almacenamiento de los frutos y hortalizas a bajas temperaturas ejerce efectos deseables debido a que disminuye la actividad respiratoria y el ritmo metabólico. Sin embargo; no frenan en la misma extensión todos los aspectos del metabolismo, pero el objetivo perseguido por el almacenamiento a refrigeración es el de restringir el deterioro, sin acarrear una



maduración anómala u otros cambios perjudiciales manteniendo así el producto, durante periodos largos como sea posible, en condiciones aceptables para el consumo (Wills, 1999).

5.2.1 Efecto en los parámetros de calidad

- **Porcentaje de la pérdida de peso**

Las pérdidas de agua representan un descenso del peso comercial y por tanto una disminución de su valor en el mercado, pérdidas de un solo 5% marchitan y arrugan numerosos productos, lo que en ambientes secos y cálidos puede ocurrir en unas pocas horas. Fuentes reportan que la mayoría de los productos hortofrutícolas frescos ya no se pueden comercializar si pierden entre el 3 y el 10% de su peso (Fennema, 1995).

La pérdida de peso evaluada durante el almacenamiento a bajas temperaturas en guayaba, por un periodo de 20 días, presentó una pérdida de peso del 0.9% a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ el primer día de almacén, mientras que para los días 10 y 20 los frutos alcanzaron de 2.5 y 6.2% de pérdida, respectivamente.

Sin embargo en el almacenamiento a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ se presentó un 5 y 10.5% de pérdida de peso los días 5 y 10, respectivamente hasta alcanzar un porcentaje final del 20.47% en el día 20, mientras que a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ se reportó 9.81 y 19.45% de pérdida de peso para el día 5 y 10 respectivamente, y al terminó del almacén el día 15 alcanzó un porcentaje de 30%, debido al estado en el que se encontraban las guayabas no fue posible seguir su análisis por más tiempo, ya que esta temperatura no permite mantener productos vegetales en buen estado (Figura 27-A).

Las pérdidas se encuentran en mayor proporción a temperaturas de exposición altas, tal fue el caso de la guayaba conservada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, siendo en menor proporción la pérdida de peso en frutos almacenados a bajas temperaturas 4 y $10\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Así mismo, la pérdida de peso presentó una tendencia creciente a medida que avanzó el período de almacén; donde se observó el comportamiento de la variable con respecto a cada



Resultados y discusión

una de las temperaturas, predominando la pérdida de peso en la guayaba a temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, estadísticamente no existe diferencia significativa respecto a las temperaturas de conservación, pero sí en cuanto al tiempo de almacén ($P\leq 0.05$).

Díaz-Pérez *et al.* (2000), indicaron que la rapidez de maduración está asociada con las altas velocidades de pérdida de peso, lo cual fue similar en el presente estudio. La pérdida de peso está relacionada con la actividad respiratoria, las cuales regulan el estado hídrico de los tejidos.

La pérdida de agua a través de los estomas y lenticelas localizadas en la cutícula de los productos vegetales determina la calidad y vida de anaquel de estos productos perecederos (Muy-Rangel, 2004).

La tasa de transpiración es influenciada por factores internos (características morfológicas, anatómicas, daños en la superficie, estado de madurez) y externos o ambientales (temperatura, humedad relativa, movimientos de aire, y la presión atmosférica) (Kader, 1997).

Doreyappa y Hudder (2001) mencionan que la pérdida de peso está influenciada por la temperatura, por lo que a menor temperatura existe una menor pérdida de peso y puede ser atribuida a la transpiración de agua a través de la piel, que está influenciada por el tamaño del fruto, la temperatura de almacenamiento y variedad.

Knee (2001) también señala que la temperatura de almacenamiento tiene un efecto directo sobre el peso fresco y en las características de apariencia y calidad.

Laguado *et al.* (1999) reportó resultados similares de pérdida gradual de peso en frutas de guayaba tipo “Criolla Roja”.

El efecto de la temperatura sobre la pérdida de peso de chile manzano almacenado a bajas temperaturas 4 y $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, como se aprecia en la figura 27-B muestra que el efecto general fue similar a los frutos de guayaba, donde si hubo diferencias significativas ($P\leq 0.05$) después de

Resultados y discusión

20 días entre cada temperatura; y también respecto al tiempo de almacén; sin embargo, fue notorio que con la temperatura de $4\pm 1^\circ\text{C}$, los frutos de chile manzano tuvieron menor pérdida de peso aproximadamente un 4.9% al final del almacén, por otro lado a $10\pm 1^\circ\text{C}$, se pudo apreciar dicha disminución de peso en el día 5, provocando un arrugamiento en la piel y presencia de necrosis; por lo tanto una disminución de su calidad.

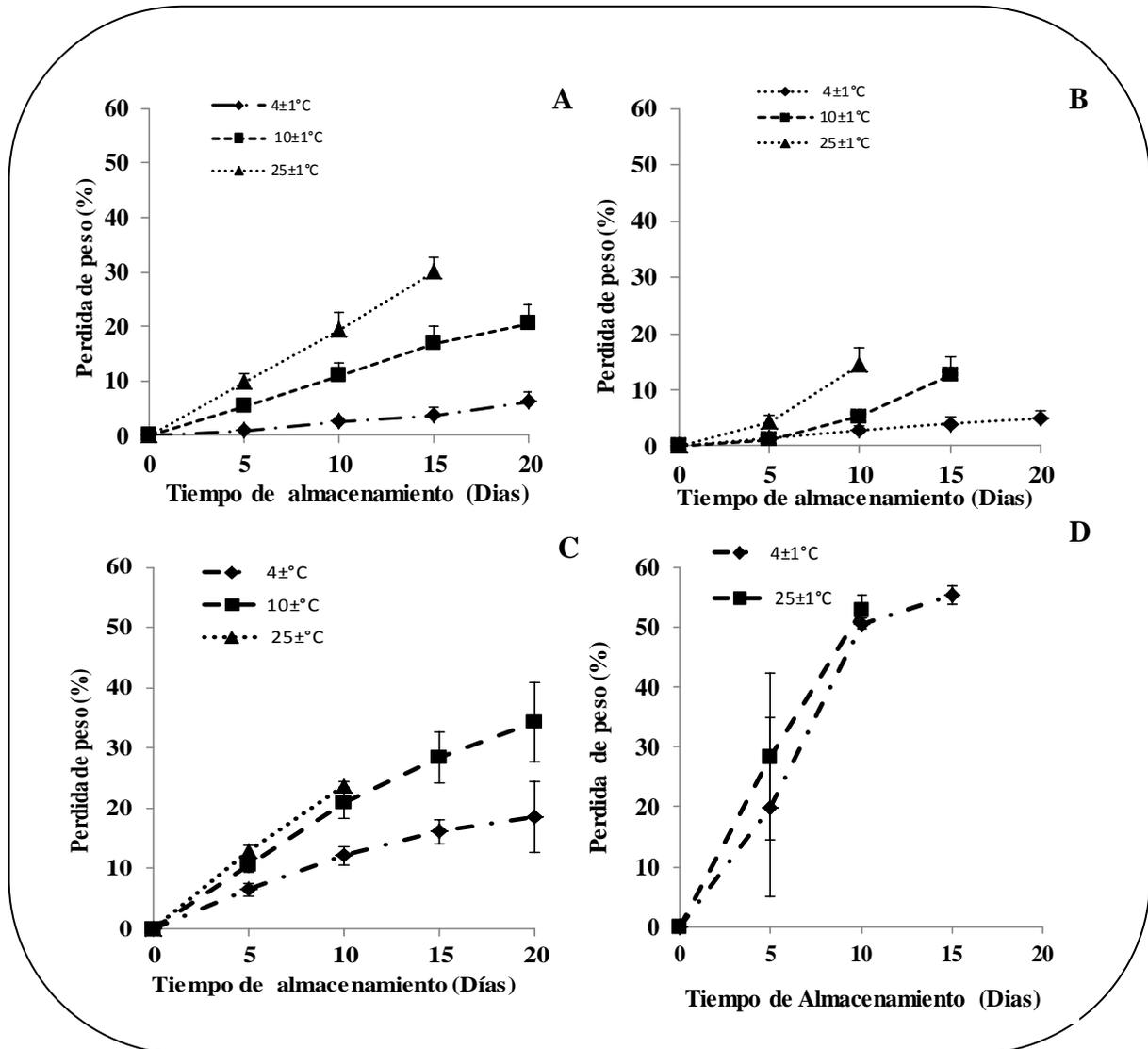


Figura 27. Efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento a 4 y $10\pm 1^\circ\text{C}$, sobre el porcentaje de pérdida de peso en (A) guayaba, (B) chile manzano (C) nopal y (D) champiñón durante 20 días. Los valores obtenidos son la media de tres replicas \pm desviación estándar.



Resultados y discusión

El peso del chile manzano inicialmente fue del 1%, observándose que el peso fue disminuyendo en el transcurso de los días, resultando un aumento del porcentaje de pérdida de peso al final del almacenamiento del 12% en un periodo de 15 días, a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, se presentó una pérdida de peso de 14% en un periodo de almacén de 10 días, a partir de entonces la actividad fisiológica aumentó, dando paso a procesos relacionados con las transformaciones bioquímicas; provocando en los chiles manzanos; necrosis, ablandamiento de los tejidos, disminución en su firmeza y liberación de líquidos, por lo que bajo condiciones de almacén a 10 y $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ se observó un aumento en la vida de anaquel de los frutos 1 y 2 semanas más en comparación con la temperatura ambiente, mostrando una diferencia significativa de ($P\leq 0.05$), respecto al tiempo de almacén. Sin embargo, la vida útil de chile manzano solo se prolongó a un periodo de 10 y 15 días para 25 y $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ respectivamente, ya que en el transcurso de su almacén comenzaron a degradarse impidiendo así su estudio por más tiempo.

Rotondo *et al.* (2007), encontró que el almacenamiento de chile manzano mínimamente procesado a $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ presentó menos pérdida de peso y que los frutos conservaron sus características físico-químicas.

La temperatura de almacén a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ prolongó la vida de anaquel de los productos en estudio, con menor pérdida de peso y firmeza, lo cual coincide con Ben-Yehoshua (1987) quien indica que a temperaturas relativamente bajas como condición de almacenamiento, el potencial hídrico de los frutos se mantiene por más tiempo.

Los nopales almacenados a 4 y $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, como se observa en la figura 27-C, presentaron diferentes respuestas frente a la pérdida de peso, encontrándose que con la temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ se tuvo la menor pérdida que fue de 6, 12, 16 y 18% en los días 5, 10, 15 y 20 días, respectivamente.

En los nopales almacenados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ las pérdidas fueron del 13 % para el día 5 y del 23%, a los 10 días; según Tucker (1993) las pérdidas de peso entre 5 y 10 % pueden representar un producto comercialmente inaceptable. En los conservados a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ tuvieron pérdidas de 20,



Resultados y discusión

28 y 34% para los días 10, 15 y 20 respectivamente, estadísticamente existe diferencia significativa ($P \leq 0.05$) respecto a las temperaturas y periodo de almacén.

Rodríguez-Félix (1997) en su estudio menciona que a temperaturas superiores a los $10 \pm 1^\circ\text{C}$ y después de 21 días de almacenamiento, se reduce la calidad rápidamente; generando una pérdida de peso que puede ser del 20%.

Todos los productos vegetales cuentan con un sistema dermal el cual regula la pérdida de agua, este sistema dermal incluye la cutícula, la cual está compuesta de ceras en la superficie y polímeros de carbohidratos, sin embargo su grosor y textura, varía de entre los diferentes productos así como de los diferentes estados de desarrollo del producto por lo que la pérdida de peso está ligada al estado de madurez de un producto (Wills, 1999).

La deshidratación de los champiñones se reduce manteniéndolos a una determinada humedad relativa, la temperatura ejerce una influencia notable sobre la pérdida de peso.

El efecto del frío sobre la pérdida de peso en champiñones almacenados a bajas temperaturas $4 \pm 1^\circ\text{C}$, por un periodo de 15 días, se muestra en la figura 27-D donde los champiñones presentaron un aumento de la pérdida de peso a medida que avanzaba su actividad metabólica y aumentaba el tiempo de almacenamiento. La pérdida de peso inicial fue nula pero se registraron valores de 19, 50 y 76.5%, en los días 5, 10 y 15, respectivamente. A una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, la pérdida de peso se incrementó conforme los hongos se fueron degradando mostrando marchitez y apariencia “acartonada”, debido a la pérdida de agua en la estructura celular del hongo. En el primer día su comportamiento fue bajo, para el quinto día presentaban una pérdida del 25%, hasta alcanzar un porcentaje de pérdida final en el día 10 del 52%.

Este hecho puede estar relacionado a que durante su manipulación; la superficie de transferencia o expuesta es mayor, lo que implica mayor transpiración; pero, también se debe considerar que este hongo no posee epidermis o estructuras que limiten el flujo de vapor de agua a la atmósfera circundante, como ocurre en los productos hortofrutícolas. En un estudio realizado por Martínez *et al.* (2008) sobre cambios postcosecha del hongo comestible



Resultados y discusión

huitlacoche, observaron que la pérdida de peso fue mayor y sumamente rápida en el huitlacoche conservado a temperatura ambiente, en el séptimo día, el huitlacoche entero perdió más del 50% de su peso. La refrigeración en ambas temperaturas disminuyó la pérdida de peso; a los siete días a 3 °C la pérdida fue de 20 y 10%, para el mismo tiempo, a 10 °C la pérdida de peso fue de 60 y 23%.

Los hongos conservados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ fueron los que presentaron las mayores pérdidas de peso durante los 10 días de almacenamiento que se trataron de mantener para observar los cambios sufridos durante ese período; quienes no permanecieron en buenas condiciones alcanzando solo 3 días de vida útil, pero cabe aclarar que el estudio se prolongó hasta el día 10, con la intención de reportar mayor número de datos, por otro lado los almacenados a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ tuvieron las menores pérdidas de peso logrando una vida útil de 15 días este comportamiento era de esperarse ya que según Wills *et al.* (1999), a mayor temperatura mayor intensidad respiratoria y velocidad de transpiración.

Villaescusa y Gil (2003) reportaron pérdidas de peso en "*P. ostreatus*" de 0.6%, durante 7 días de almacenamiento a 0 y $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ y Tano *et al.* (1999) reportaron de 1-8% de pérdida en peso en hongos almacenados a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 12 días en atmósferas modificadas en hongos almacenados sin ningún tratamiento preventivo, se observó una pérdida de peso del 60% en el almacenamiento.

Las condiciones de baja humedad provocan un incremento de la transpiración y por tanto una elevada pérdida de agua, lo que acelera la senescencia del fruto y una marcada pérdida de la calidad, tanto por la aparición de arrugas, como encogimiento, ablandamiento, marchitez y flacidez en la corteza (Guerra, 1996), estadísticamente se muestra diferencia significativa ($P\leq 0.05$) respecto al tiempo y temperatura de almacén utilizada durante la conservación del champiñón.

La pérdida de peso se incrementó en forma lineal durante cada temperatura y tiempo de almacén en todos los productos vegetales estudiados. Así la deshidratación medida como pérdida de peso aumentó, superando el 20% al término del almacén en frío solo después



de 20 días a 4 y $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, si bien es posible que la mayoría de los frutos y hortalizas almacenados a bajas temperaturas hayan sufrido de ataques microbianos, pudriciones o daños mecánicos, lo cual también, contribuye a explicar la pérdida de peso. Tomando en cuenta que las pérdidas de peso son acumulativas, debido a las ocurridas desde la cosecha, almacenaje y maduración; así cuanto mayores, peor será la presentación del fruto en el momento de su comercialización (Crisosto *et al.*, 1994).

- **Índice de color**

El índice de color (IC) estudiado en guayabas almacenadas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, describe claramente el proceso de maduración de la fruta con valores desde 0.74, 1.75 y 6.60 para los días 5, 10 y 15, respectivamente; representando el amarillo verdoso al amarillo pálido, indicando la madurez total y posterior deterioro de las guayabas (Figura 28-A).

Estudios previos con frutos de guayaba mostraron cantidades de clorofila menores en la epidermis con respecto a frutos almacenados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ (González-Aguilar *et al.*, 2004).

Para condiciones de refrigeración de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ el cambio fue más lento, se registró un cambio de IC* con valores de 2, 0.74 y 1.15 los días 5, 10 y 15, respectivamente este último día permaneció constante, mientras que a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ las guayabas, presentaron un comportamiento diferente ya que su escala permaneció casi constante durante los 15 días, posteriormente el día 20 se observó un efecto significativo con 2.53, existe una marcada dependencia entre el *IC y las temperaturas, sin embargo respecto al tiempo de almacenamiento no, ya que es difícil dilucidar el comportamiento a lo largo de los días, lo que se demuestra a partir de los gráficos existentes entre ambas variables (Figura 28-A).

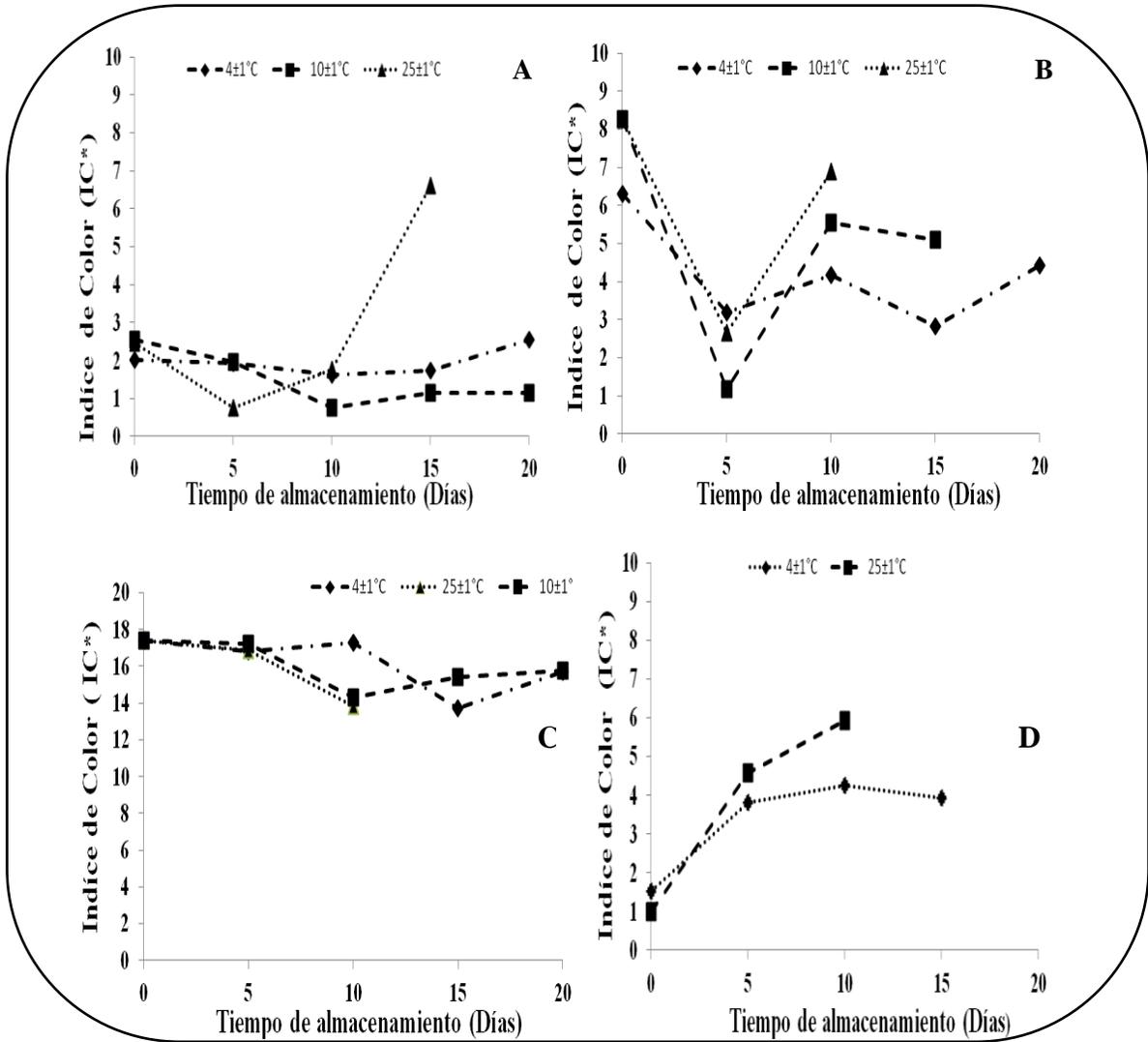


Figura 28. Efecto de las bajas temperaturas de almacenamiento a 4 y 10±1°C, sobre el Índice de color en (A) Guayaba y (B) Chile Manzano, (C) nopal y (D) champiñón durante 20 días. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas ± desviación estándar.

Los cambios internos que experimentan las guayabas durante su desarrollo y maduración, hacen disminuir el color verde, debido a una disminución de su contenido de clorofila, el cual se debe a los cambios de pH, a los procesos oxidativos y a la acción de la clorofilasa (Kader, 2002). Se debe al igual a un incremento de la síntesis de pigmentos de color amarillo, que le dan un aspecto más atractivo (Artes, 1987).

Los cambios de color pudiesen relacionarse con la actividad específica de las enzimas oxidativas sólo si se considera que la presencia de dicha actividad es suficiente y altamente significativa como para inducir los cambios de color.



Resultados y discusión

Estos resultados permiten señalar que bajo condiciones refrigeradas se puede alargar el período de comercialización; estadísticamente si existe diferencia significativa ($P \leq 0.05$), respecto a la temperatura de almacén mostrando que estas variables afectan el índice de color de la guayaba.

En el caso del índice de color en chile manzano en función de los días experimentales bajo condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente, como se muestra en la figura 28-B, se puede observar para el día 5 un valor de 2.64 a partir del décimo día aumentó a 6.89, indicando maduración en el chile y deterioro.

Los resultados obtenidos no demuestran una relación existente entre dicha propiedad y el tiempo de almacenamiento, ya que no se muestra una marcada dependencia y un comportamiento homogéneo a lo largo del periodo entre ambas variables, mientras que el almacenamiento a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ se observó que los valores fueron de 1.16, 5.4 y 5 en los días 5, 10 y 15, respectivamente debido a que inicialmente prevalece el color verde y después cambia a amarillo.

En la figura 28-B se observó que a temperatura de $4 \pm 1^\circ\text{C}$ en el chile manzano, se presentaron dos máximos de 4.16 y 4.22, en un periodo de 10 y 20 días, respectivamente observando presencia de daños por frío y hongos fitopatógenos, a esta temperatura la actividad de las clorofilasas es menor que a temperatura ambiente (Minolta, 1994). El chile manzano es de color verde brillante cuando está tierno y de muy atractivo color rojo o amarillo cuando está maduro por lo que la desaparición del color verde (frecuentemente designado como color de fondo) constituye un buen índice de su grado de madurez. Inicialmente se produce una pérdida gradual de la intensidad del color verde oscuro, acompañado de la aparición de un color amarillo, rojo o púrpura (Wills *et al.*, 1998).

A un aumento de componentes químicos como son los pigmentos rojos; principalmente licopeno, neolicopeno, licopercismima, y caroteno que conllevan, asimismo a una significativa disminución del tono es decir el color será menos amarillo como ejemplo el chile morrón y el chile manzano así tornaran al color rojo o amarillo, por lo que la alteración del color varía ampliamente dependiendo del fenol precursor y de las condiciones químicas ambientales,



Resultados y discusión

entre ellas el pH y a la alta cantidad de clorofila acumulada en las capas del pericarpio (Nicolás *et al.*, 1994).

Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez, (1994), señalan que, durante la maduración se desarrolla un incremento de los ésteres de las xantofilas; observando un comportamiento parecido durante el proceso de maduración de productos con una coloración naranja/roja como es el pimiento rojo "*Capsicum* "*Capsicum annuum*, L."

El almacenamiento prolongado y las bajas temperaturas son elementos que pueden afectar la calidad de los productos vegetales e inducir la aparición de manchas oscuras y favorecer la pérdida de color, en un estudio presentado por Pino *et al.* (2007) realizado en Chile habanero, indicó que hubo una amplia gama en los valores de luminosidad; y que existió una extensa gama de brillantez en el caso del Chile manzano "*Capsicum pubescens*" reportando una escala que va desde 53.97 hasta 55.14.

En la figura 28-C se muestra el comportamiento de los nopales almacenados a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, sobre el Índice de color, observando 17.27 y 13.73 en los días 10 y 15 manteniéndose en 15.77 para 20 días.

A la temperatura de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, se presentó un ligero aumento respecto a los días de almacén con valores de 14, 15 y 15.78 para los días 10, 15 y 20, mientras que en el caso del índice de color en función de los días experimentales bajo condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente para el cladodio, se puede observar una disminución desde 17, 16 y 13.83 para los días 0, 5 y 10 respectivamente, posteriormente los cladodios presentaron daños y se eliminaron, obteniendo solo la lectura hasta estos días. Sin embargo es difícil elucidar el comportamiento de los cladodios respecto al periodo de almacén y el efecto de las bajas temperaturas sobre el índice de color, pues las curvas de los gráficos obtenidos no muestran valores con una tendencia característica de los cambios de color durante el almacén a bajas temperaturas, solo cabe mencionar que presentaron un color verde olivo y áreas necrosadas, arriesgándonos a mencionar que es debido a la senescencia y pudrición del mismo.



Resultados y discusión

El nopal es un producto vegetal que no sigue madurando, por lo cual no presenta alteraciones de color durante su conservación. La mayoría de los cambios presentados en los nopales se debe a la degradación de la clorofila, la cual, ocurre durante la senescencia de los vegetales verdes, la degradación de este pigmento involucra inicialmente la remoción de la cadena de fítol de la clorofila por la enzima clorofilasa, resultando en la formación de clorofilina “verde brillante”, la cual se transforma en feofitina “verde olivo” o al feofórbido “café” al oxidarse completamente.

La pérdida de clorofila causa un cambio en el color de verde brillante a verde olivo en los alimentos procesados y a una amplia variedad de colores; amarillo, café, naranja en tejidos senescentes (Heaton y Marangoni, 1996).

Guevara *et al.* (2003) observaron menores cambios en el contenido de clorofila y en la actividad de clorofilasa en nopal almacenados por 35 días a 5°C bajo condiciones de atmósferas modificadas. Sin embargo, el producto de esta reacción es clorofilida, la cual aún posee un color verde y para que el color verde desaparezca es necesaria que la clorofilida sea degradada a compuestos incoloros de bajo peso molecular (Heaton y Marangoni, 1996).

Martins y Silva (2002) indicaron que los porcentajes de degradación de clorofila en vegetales verdes deben ser del 45% para presentar un efecto en el cambio de color del tejido.

El cambio del color característico del nopal medido como una diferencia entre el color inicial “nopal fresco” y el determinado al momento de la evaluación durante el almacenamiento, resultó ser sin embargo, un parámetro de calidad en donde el efecto de las temperaturas se tuvo en la respuesta de cambio de color del tejido; a temperaturas de 4 y 10±1°C hubo una coloración luego de transcurridos 20 días de almacén refrigerado, tiempo el cual los nopales permanecieron en almacén a bajas temperaturas.

Respecto a la temperatura de 25±1°C se presentaron manchas oscuras y difusas en la superficie del cladodio o nopal comenzando, generalmente, por la parte inferior



Resultados y discusión

específicamente en los extremos del producto vegetal; estadísticamente no existe diferencia significativa respecto a las temperaturas de almacén.

El valor del índice de color en champiñones almacenados a temperatura ambiente presentó valores que fueron desde 0.97, 4.58 hasta 5.92 para 0, 5 y 10 días respectivamente.

Los resultados muestran que el comportamiento del índice de color en los champiñones se incrementó, ya que al almacenarlos a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ los hongos comienzan a presentar oxidación causada por los hidroxibencenos catalizados por la enzima polifenoloxidasasa mostrando oscurecimiento (Chi Zhinian *et al.*, 1999) (Figura 28-D).

En la figura 28-D se observó que los champiñones almacenados a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ presentaron un incremento que fue desde, 1.80, 3.81, 4.25 y 3.94 para los días 0, 5, 10 y 15 respectivamente, presentaron un color marrón el día 5, cabe mencionar que esta coloración es una característica de los tejidos excesivamente maduros, heridos o almacenados por tiempo excesivo. Existe diferencia significativa respecto al tiempo y a las temperaturas de conservación.

Hay que destacar que también durante, los distintos días, los champiñones presentaron diferencias de color, debidas a la exposición a temperaturas altas, a daños mecánicos sufridos en el transcurso de su evaluación, y por la cantidad de luz reflejada en la superficie de la piel del champiñón.

La determinación del índice de color constituye información técnica básica de interés para la ingeniería, con el propósito de desarrollar sistemas de inspección y clasificación basados en el color del producto.

Estos sistemas, que en la actualidad se investigan y emplean en muchos otros productos agroalimentarios, sería interesante, aplicarlos en frutas y hortalizas como: guayaba; chile manzano, nopal y champiñón; con el fin de retirar defectos y así procesarlos de manera automática, permitiendo mantener la calidad en el competitivo mercado nacional (Montes *et al.*, 2001).



- **Desórdenes Fisiológicos**

Índice de daño por frío (IDF)

La más seria desventaja de la refrigeración para extender la vida de almacenamiento de los frutos y hortalizas es la incidencia de los daños causados por frío. Los daños aparecen como decoloraciones, regiones hundidas en la piel, seguidas por madurez desuniforme, poco color y olor, incremento de la susceptibilidad a manchas microbianas y puntuaciones en la piel entre otros. La mayoría de los frutos tropicales muestran desórdenes fisiológicos conocidos como "daños por frío" o "Chilling injury", cuando son expuestos a temperaturas por debajo de $15\pm 1^{\circ}\text{C}$; afectando su valor en el mercado (Farooqi *et al.*, 1985).

La guayaba debido a su origen tropical y a su período corto de vida postcosecha, es muy susceptible al deterioro, ya que a los tres días alcanzan su madurez total (Laguado *et al.*, 1999). La figura 29 muestra el avance de los daños por frío en función del tiempo de almacenamiento de la guayaba, observando que los cambios en los frutos almacenados a temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, no muestran diferencias respecto a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$.

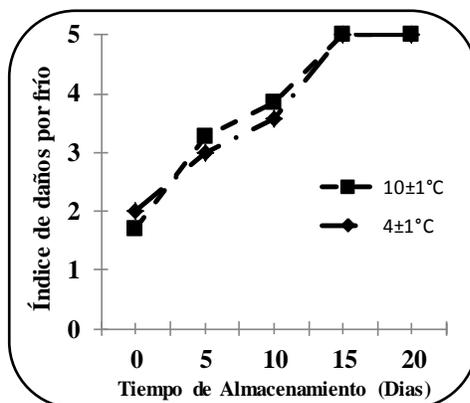
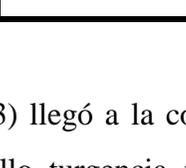
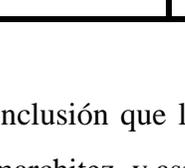
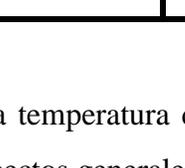
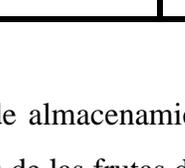


Figura 29. Índice de daños por frío (IDF) en frutos de guayaba almacenada a 4 y $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 20 días.

En la tabla 23 se observó que a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, los primeros daños fueron evidentes desde los 5 días de su evaluación, observando picado, ablandamiento y falta de brillo; al final del almacén día 20, mostraron los mismos síntomas que se observaron en la conservación a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, como arrugamiento, deshidratación, pardeamiento de la piel, aumento en la incidencia y severidad de las pudriciones cuando se mantenían por un periodo prolongado de almacén, aunque los primeros daños comenzaron a observarse el quinto día de su almacén.

Resultados y discusión

Tabla 23. Seguimiento visual de las guayabas, almacenadas a bajas temperaturas 4 y 10°C.

T(°C) almacenamiento	Días de almacenamiento				
	0	5	10	15	20
4±1					
10±1					
					
25±1					

Páez-Ramírez (2003) llegó a la conclusión que la temperatura de almacenamiento adecuada para preservar el brillo, turgencia, marchitez y aspectos generales de las frutas de guayaba fue a $12\pm 2^{\circ}\text{C}$; mientras que algunos autores mencionan que la mayor parte de las frutas de origen tropical no pueden ser expuestas a menos de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$.

El chile manzano también sufrió pérdidas causadas por los cambios fisiológicos presentados durante el almacenamiento y que se intensificaron al acelerar el proceso natural de deterioro, quizá uno de estos factores que contribuyeron a acelerar este proceso; fueron los daños por frío presentados durante las evaluaciones los cuales, aumentaron significativamente con el período de conservación, manifestándose con mayor severidad en frutos conservados a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$; durante un periodo de 15 días los daños fueron tan intensos que provocaron podredumbre, debido, al crecimiento de fitopatógenos en el fruto; generando zonas acuosas y manchas oscuras en el fruto. Cabe destacar que cuando el período de conservación rebasó los 5 días de almacenamiento, comenzó la presencia de arrugamiento, deshidratación y falta de madurez, que pudieron ser los primeros síntomas de daños por frío en chile manzano; después de ese lapso los daños se presentaron de manera más severa e irreversible de tal manera que los frutos no se consideraron aptos para consumo (Figura 30).

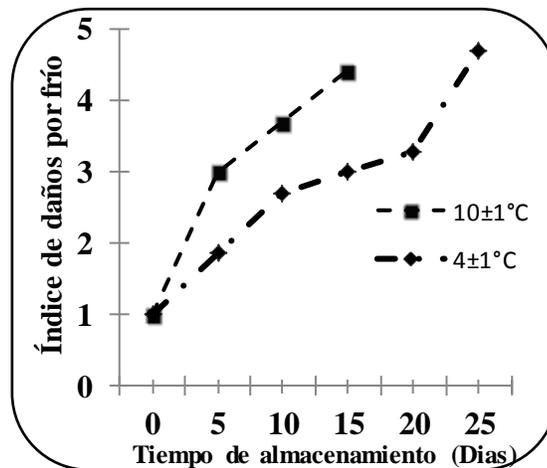


Figura 30. Índice de daños por frío (IDF) en frutos de (A) chile manzano almacenado a 4 y 10±1°C, durante 25 días.

Respecto al almacenamiento a 4±1°C el comportamiento se presentó de igual manera que en la condición anterior, cabe mencionar que en este gráfico se presenta una vida postcosecha de 25 días y los daños que se observaron no fueron tan severos como a 10±1°C; es decir, solo presentó arrugamiento, deshidratación, picado y falta de madurez.

Kader *et al.* (1997) reportó en “pimientos”, una clasificación que va desde sensibles a moderadamente susceptibles, ya que ellos experimentaban daños por debajo de los 7±1°C y a 10±1°C los frutos se mantuvieron entre 1 y 3 semanas dependiendo de los cultivares, estado de madurez y tratamientos postcosecha utilizados; a temperaturas mayores a 7.5±1 °C; se observó que perdieron más agua y se arrugaron, alcanzando una vida útil de 3 a 5 semanas y a 5±1 °C se redujeron las pérdidas de agua, pero se manifiestan los daños por frío.

En los frutos de chile manzano se presentó exactamente lo mismo que en los pimientos realizados en el estudio anterior; probablemente la calidad del fruto pudo verse afectada debido a diversos factores (Tabla 24).

Resultados y discusión

Tabla 24. Seguimiento visual del chile manzano, almacenado a bajas temperaturas a 4 y 10°C.

T°C almacenamiento	Días de almacenamiento					
	0	5	10	15	20	25
4±1						
10±1						
25±1						

Otra posible causa de los síntomas presentados se pudo deber al origen del chile manzano, que va de la mano con la adaptabilidad de este, ya que su cultivo puede adaptarse a lugares fríos y tiene una tolerancia a las bajas temperaturas. La exposición de un producto vegetal en particular a una temperatura dada fuera del intervalo recomendado y la duración de la exposición a dicha temperatura, usualmente es causa de problemas que conducen a la disminución de la calidad y la vida de almacenamiento (Macrae *et al.*, 1993).

La sintomatología de los daños por frío (DF) se caracterizó principalmente por una maduración anormal y no uniforme ya que bajo las dos temperaturas los frutos sufrieron, pérdida de agua, depresiones superficiales circulares, desarrollo de patógenos como “*Alternaria alternata*”, que causó la pudrición en la mayor parte del chile durante el almacenamiento (Risse y Chun, 1987).

Se sabe que las lesiones por frío determinan la liberación de metabolitos, como aminoácidos, azúcares y sales minerales, al exterior de la célula, lo que, junto con la degradación de la estructura celular, proporciona excelentes sustratos para el desarrollo de gérmenes patógenos, especialmente hongos, frecuentemente presentes, bien por infecciones latentes o contaminación durante la recolección (Wills, 1999).

Resultados y discusión

Se ha mostrado que en Chile “*Capsicum annuum*” la pérdida de electrolitos, conlleva a la pérdida de integridad de la membrana celular, siendo esta uno de los síntomas primarios de daño por frío (Kissinger *et al.*, 2005).

Los daños por frío cuantificados por evaluación visual en cladodios almacenados a $4\pm 1^\circ\text{C}$, aumentaron en función del período de conservación es decir a mayor período de almacén mayor fue la incidencia de estos daños, la diferencia se reflejó a partir de 10 días, presentando deshidratación, ablandamiento y cambio en el color verde a verde olivo, pérdida de brillo los cuales se fueron acentuando cada vez más durante el periodo de almacén de 20 días, mientras que a $10\pm 1^\circ\text{C}$, los síntomas comenzaron a partir del día 5. La vida postcosecha de los cladodios fue de una semana a $25\pm 1^\circ\text{C}$; sin embargo, temperaturas inferiores a $10\pm 1^\circ\text{C}$, ocasionaron daño por frío (DF), los cuales se manifestaron como ablandamiento y deshidratación (Figura 31).

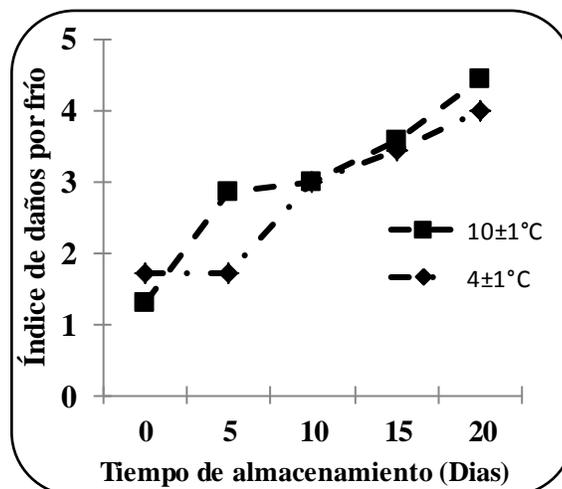


Figura 31. Índice de daños por frío (IDF) en (A) nopal almacenado a 4 y $10\pm 1^\circ\text{C}$, durante 20 días.

Rodríguez-Félix. (1997), mencionan que la incidencia del daño por frío es mayor a menor temperatura, presentándose después de tres semanas a 10°C (80-90 por ciento HR) y de dos semanas a 5°C (85-90 por ciento HR) en cladodios de “*Opuntia sp.*” envasados en cajas de madera. Mientras que los nopalitos de Nopalea “*cochenillifera*” son más susceptibles a los daños por frío que los de “*Opuntia sp.*”, ya que los síntomas de daños se presentan en esta especie después de siete días a 4°C , siendo los síntomas dependientes del cultivar,

Resultados y discusión

temperatura, tiempo de exposición al frío, grado de madurez o desarrollo de las características climáticas de la zona de cultivo (Kader, 2002).

Aquino-Bolaños y Mercado-Silva (2004), señalan que la aparición de áreas de color rojo ocre en tejidos dañados de jícama se debe a la presencia de ligninas o sus intermediarios derivados de la oxidación de monolignoles (componentes de pared celular) que se sintetizan como parte del proceso normal de reparación de tejidos y posiblemente, esta misma explicación se pueda aplicar al nopal ya que los cladodios presentaron el color ocre, típico de oxidación enzimática (Tabla 25).

Tabla 25. Seguimiento visual de los nopales, almacenados a bajas temperaturas a 4 y 10°C.

T°C almacenamiento	Días de almacenamiento				
	0	5	10	15	20
4±1					
10±1					
25±1					

Los cladodios con daño pueden sufrir hasta un 53 por ciento de pérdidas por pudriciones causadas por “*Penicillium spp.*”, “*Aspergillus spp.*” y “*Alternaria spp.*”, en el almacenamiento durante 10 días a 15°C (50-60 por ciento HR) (Sáenz, 2006). Sin embargo, temperaturas inferiores a 12 °C ocasionan daños por frío en los nopales, los cuales se manifiestan como oscurecimiento o manchado de la cáscara y ablandamiento del producto (Nerd *et al.*, 1997).

Respecto a los champiñones almacenados en refrigeración a 4±1°C, presentaron durante los primeros 5 días de su almacén, marchitez y oscurecimiento en la carne; ya al término de un lapso de 15 días, los champiñones mostraron además de los signos anteriores; encogimiento,

Resultados y discusión

apariciencia acartonada y crecimiento de micelio en el área del sombrero y entre las laminillas, los champiñones también fueron almacenados a temperatura ambiente pero solo se mantuvieron por un par de días, después de 5 días de almacén sus laminas abrieron completamente, y dando paso al crecimiento de micelio sobre ellos, sin embargo los champiñones no fueron expuestos a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Figura 32).

El deterioro durante el almacenamiento se debe a la presencia de bacterias y esporas que permanecen dentro de los hongos, que cuando germinan dan lugar a unos hilillos o filamentos que continúan creciendo durante el almacenamiento en frío, produciendo el rápido deterioro del hongo.

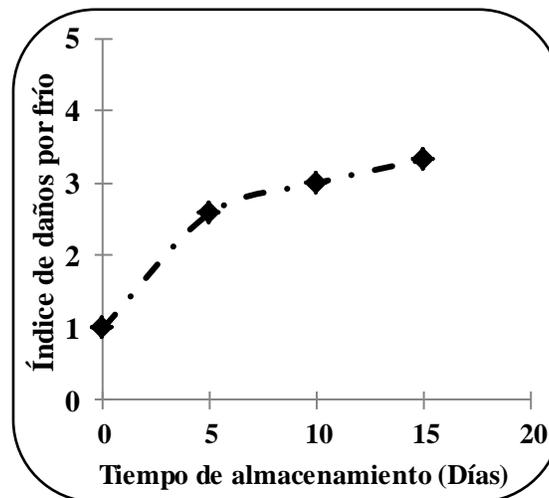


Figura 32. Índice de daños por frío (IDF) en (A) champiñón almacenado a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 20 días.

INFOAGRO (2012) menciona que la vida de anaquel de los champiñones frescos puede ser prolongada refrigerando a $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $4\pm 1^{\circ}\text{C}$; pues reducirá la velocidad de todos los procesos fisiológicos dentro de los hongos y que la mejor manera de almacenar las setas es el almacenamiento en frío a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ por un lapso de 5 días, sin embargo, algunos hongos como la ostra, shiitake y oído negro podrían ser secados y almacenados durante un período prolongado y que otros como el botón de arroz-paja, debe ser consumido en fresco dentro de las 12 horas de la cosecha.

Por otro lado se ha reportado que en hongos variedad “láctea”, una variedad tropical, puede permanecer fresco hasta por (2-3 días) a temperatura ambiente $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ (PRMOBNET, 2012).

Resultados y discusión

Los síntomas presentados, se deben a que el champiñón es un producto vegetal muy perecedero con una vida fisiológica corta si se mantiene sin conservación; por lo que fresco apenas puede llegar a tener una vida útil de 1 ó 2 días a temperatura ambiente; mientras que a temperaturas frías generalmente resulta un tratamiento efectivo de corto término, retardando así el crecimiento de los microorganismos y reduciendo la tasa de las actividades metabólicas postcosecha de los tejidos del champiñón (Tabla 26).

Tabla 26. Seguimiento visual de champiñones, almacenados a baja temperatura a 4 y 10°C.

T°C almacenamiento	Días de almacenamiento			
	0	5	10	15
4±1				
25±1				
				
				

Los resultados obtenidos demuestran que el almacenamiento a bajas temperaturas alarga la vida útil; en cuanto al daño físico, este es generado una vez transcurrido el tiempo de almacén, por consiguiente la amplia diversidad de síntomas sugiere que en el desarrollo de la lesión por frío las variedades pueden responder también de distinto modo al someterlas a una mayor temperatura, después de haber sido refrigeradas.

5.2.2 Efecto de los parámetros fisiológicos

- **Respiración**

La importancia del conocimiento de la intensidad respiratoria de un producto, hace posible relacionar algunas de las transformaciones físicas y bioquímicas tales como la variación



Resultados y discusión

del peso, volumen, firmeza, desarrollo de azúcares, ácidos, etc., que en conjunto son responsables de la buena calidad y su conservación posterior (Doreyappa y Hudder, 2001).

En la figura 33 se observó la tasa de respiración en frutos de guayaba, almacenados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 15 días, por lo que el patrón respiratorio presentó un comportamiento climatérico que significó que su intensidad respiratoria mostró inicialmente una tendencia hacia un valor mínimo seguido de un ascenso más o menos pronunciado, hasta alcanzar un valor máximo climatérico en el día 5 de su almacenamiento con un valor de $37\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ que en general coincidió con las modificaciones de color y textura característicos de la maduración, luego se vio un descenso en la respiración con un valor de $12\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ en el día 15 de almacenamiento, este esquema de respiración se ubica en el grupo de frutos con tasa respiratoria que va de 20 a $80\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Brown y Wills, 1992).

A la temperatura de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ registraron valores en su intensidad respiratoria de $5.10\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ al quinto día de almacenamiento; mostrando una máxima producción de $20.56\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ al día 10, logrando una disminución de $6.23\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ el día 20 de su almacén; esto debido al efecto de las bajas temperaturas, coincidiendo con la tasa de respiración de guayaba almacenada a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ que fue de 4 a $30\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ (FAO de INPHO técnicas IICA PRODAR, 2013) (Figura 33).

En el almacenamiento a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ se ralentizó la intensidad respiratoria, ya que los frutos de guayaba presentaron su máxima producción de CO_2 en el día 15 con una producción de $9.23\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$, disminuyendo la intensidad respiratoria el día 20 con un valor de $2.71\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$; la temperatura es el parámetro más utilizado puesto que afecta la respiración, disminuyendo la actividad respiratoria y así aumentando la vida útil de la hortaliza (Gallo, 1997).

La actividad respiratoria aumentó durante el almacenamiento de guayabas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$. Estadísticamente si existe diferencia significativa sobre el efecto de las temperaturas y el tiempo de almacén sobre la respiración en guayaba (Figura 33).



Resultados y discusión

En un estudio realizado sobre la intensidad respiratoria del fruto de guayaba variedad Palmira ICA I presento un patrón respiratorio climatérico observado en el estado maduro de 33,73 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$.

El patrón respiratorio climatérico en frutos de guayaba ha sido encontrado anteriormente por El-Buluk *et al.* (1995) en las variedades Shambati, Shendi y Ganib, Mercado-Silva *et al.* (1998) en la variedad roja, Bashir *et al.* (2003) en la variedad Shambati, Bassetto *et al.* (2005), Mientras que en otros frutos se ha encontrado comportamientos climatéricos en mango con valores de 19,73 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ (Ravindra y Goswami 2008) y en tomate (21 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$), manzana (28,4 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$), fresa (18,0 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) y mora (21,0 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) por Fonseca *et al.* (2002).

Según la FAO (2013) mencionan que la tasa de respiración de la guayaba a 10°C es de 4-30 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ y para 20 °C se encuentra en 10-70 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$, la guayaba es una fruta climatérica, sin embargo se esperaba un incremento en la respiración de 100 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$, que corresponde a un fruto climatérico. Las tasas de respiración dependen de la variedad y del estado de madurez fisiológica.

El comportamiento respiratorio obtenido pudo deberse a que el tiempo en el cual se hizo la evaluación de la respiración de los frutos (1 hora), no fue suficiente como para que se estableciera un equilibrio entre la atmósfera circundante y la respiración de los mismos; no pudiéndose garantizar que el CO_2 medido fuese producto de la respiración y no el que ya estaba en el envase.

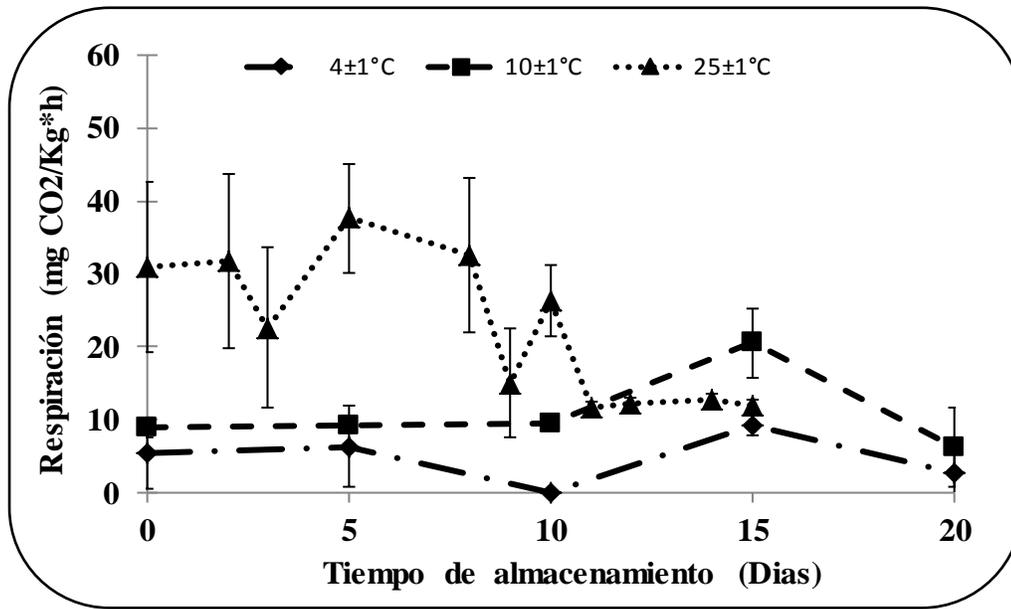


Figura 33. Cambios en la respiración de guayabas, expuestas a diferentes temperaturas de almacenamiento 4 y 10±1°C; durante 20 días. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas ± desviación estándar.

En la figura 34-A se presentan las gráficas correspondientes a la evaluación de la respiración en frutos de chile manzano, en los que se observa la velocidad de respiración entre ambas temperaturas de almacenamiento.

La tasa de respiración inicial del chile manzano almacenado a 4±1°C mostró un valor máximo de 22.68 mg de CO₂Kg⁻¹ h⁻¹ el día 5, después de ese lapso hasta el día 25 no se volvieron a registrar cambios en la producción de CO₂ comportamiento similar presentado en la condición a 10±1°C, un máximo valor de 60.29 mg de CO₂Kg⁻¹ h⁻¹ hasta el final de su almacén día 15, al evaluar el comportamiento de los frutos de chile manzano en condiciones ambientales 25±1°C se observa que presentan una intensidad respiratoria de 100.17 mg de CO₂Kg⁻¹ h⁻¹ al segundo día de su almacén, registrando un valor en el patrón respiratorio de 22.68 y 33.54 mg de CO₂Kg⁻¹ h⁻¹ para el día 5 y 10 respectivamente, cabe mencionar que las condiciones no permitieron que el chile manzano se mantuviese visualmente atractivo, con textura firme, por lo tanto no se logró obtener evaluaciones que permitieran mostrar mejor el patrón respiratorio de este producto, durante más tiempo.



Resultados y discusión

En un estudio realizado por Montalvo *et al.* (2009) se observó el comportamiento de la velocidad de respiración de chile quien presentó una tendencia de respiración climatérica durante el almacenamiento postcosecha. Es importante mencionar que sólo se midió la Velocidad de respiración en $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta el día 25, ya que los días posteriores de los productos vegetales almacenados a 10 y 25°C presentaron deshidratación y pudrición evidente. En las dos temperaturas de almacén 4 y 10°C se observó un descenso de la tasa de respiración con los días de almacenamiento, sin embargo, no queda claro si esas diferencias se atribuyen al efecto de las temperaturas, ya que es posible que la disminución en la tasa de respiración se deba al estado de madurez en el que se encontraban los chiles y que de esta forma no respondieran a las lecturas de CO_2 .

Mientras que los cambios en la intensidad de respiración al inicio de la evaluación de los cladodios almacenados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, se observó dos picos máximos en la producción de CO_2 el primero se registró el día 5 con un valor de $54.12 \text{ mg de } \text{CO}_2\text{Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y el segundo de $56.39 \text{ mg de } \text{CO}_2\text{Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para el día 10.

Por lo que a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ se presentó un incremento de $56.48 \text{ mg} \cdot \text{CO}_2 / \text{Kg} \cdot \text{h}$ al inicio de su almacén, posteriormente durante los 20 días no se observó variación en el patrón de respiración permaneciendo siempre constante sin incremento de CO_2 .

Finalmente bajo la condición de almacén a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ donde la tasa de respiración solo se incrementó el día 5 con $39 \text{ mg de } \text{CO}_2\text{Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, después de ese día y hasta el día 20 no se registró actividad en la tasa de respiración, estadísticamente existe diferencia significativa ($P \leq 0.05$) respecto al efecto de las temperaturas y tiempo de almacén sobre este parámetro en los cladodios (Figura 34-B).

Los champiñones tienen una muy alta actividad metabólica que hace que, una vez recolectados, continúen evolucionando muy rápidamente, lo que redundará en una vida postrecolección breve.

Resultados y discusión

La ralentización de este proceso, y la mejor herramienta de que se dispone es el frío, es la clave para prolongar el periodo comercial. Por lo que en el presente estudio se observó que el valor máximo de la intensidad respiratoria en los champiñones almacenados a $4\pm 1^\circ\text{C}$ apareció el día 15 siendo de $179.48\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{ h}^{-1}$.

Mientras que al almacenarlos a $25\pm 1^\circ\text{C}$, el máximo apareció al quinto día de su evaluación mostrando un incremento de CO_2 con $382\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{ h}^{-1}$, y posteriormente disminuyó el día 10 a $118\text{ mg de CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{ h}^{-1}$, estadísticamente si hay diferencia significativa sobre el efecto de la temperatura y tiempo de almacén sobre la respiración del champiñón (Figura 34-C).

La respiración es un aspecto del metabolismo basal de gran importancia para estudiar los fenómenos postcosecha (Fennema, 1995). Los cambios que ocurren durante la maduración son, en parte, consecuencia de la respiración vegetal, debido a que este factor influye directamente en la tasa de respiración, que a su vez, es la que determina el ciclo de vida de un vegetal.

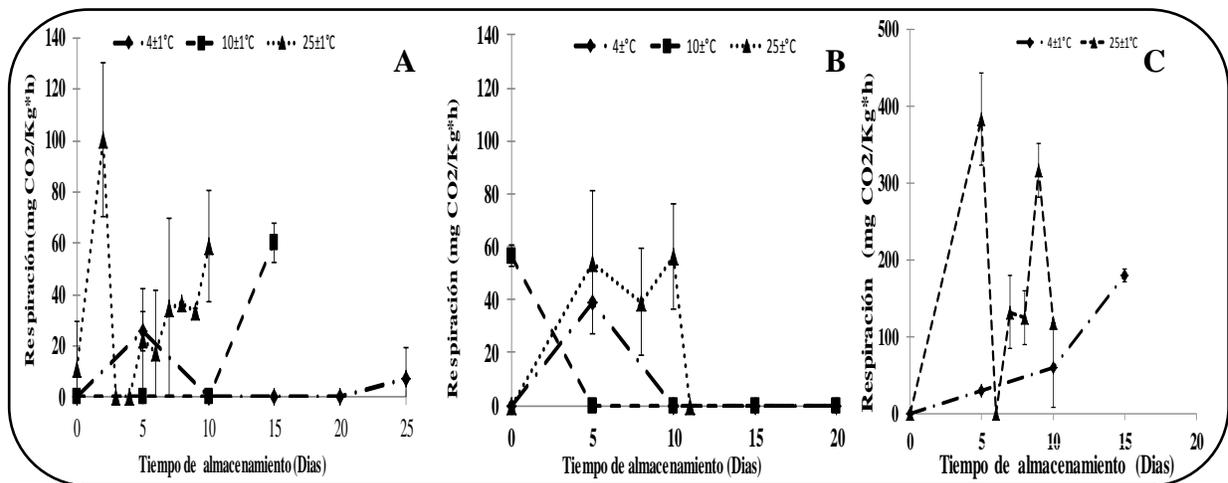


Figura 34. Cambios en la respiración de (A) Chile manzano, (B) nopal y (C) champiñón) expuestos a diferentes temperaturas de Almacenamiento; 4, 10 y $25\pm 1^\circ\text{C}$ durante 20 días. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

La intensidad respiratoria de un fruto depende de su grado de desarrollo, que va disminuyendo lentamente hasta el estado de maduración. Sin embargo, en determinadas frutas después de alcanzarse el mínimo se produce un aumento de la intensidad respiratoria hasta alcanzar un



Resultados y discusión

valor máximo, llamado pico climatérico, después del cual la intensidad respiratoria disminuye de nuevo (FUNDACIÓN EROSKI, 2012).

Se hace énfasis en el champiñón debido a los resultados obtenidos los cuales sobrepasan los 300 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$, fisiológicamente respira como cualquier ser vivo absorbe oxígeno del aire y desprende carbónico, otros productos volátiles expulsados son: etileno, aldehído acético, acetona, alcohol etílico y acetato de etilo entre otros así los hongos continúan respirando después de la cosecha y tiene una tasa de respiración relativamente alta comparada con otros productos frescos, ya que el champiñón no tiene tegumento, convirtiéndose en tejido delicado el cual puede estropearse fácilmente al tocarlo.

Así como por corrientes de aire o toda clase de enfermedades facilitando el rápido incremento en la tasa de respiración, y así disminuir la vida útil del champiñón; por ejemplo la tasa de respiración del hongo ostra es, tres veces mayor que la mayoría de las frutas (Wills, 1999).

Se ha demostrado que a una temperatura de $10\pm 1^\circ\text{C}$ los champiñones respiran 3.5 veces más aprisa que a 0°C , y a $21\pm 1^\circ\text{C}$ 9.5 veces más rápido. Cuanto más calientes estén los champiñones, más se eleva la temperatura y más deprisa se deteriora la calidad, es por ello que deben ser pre-enfriados y conservados posteriormente en frío para disminuir su metabolismo y evitar daños. Por lo tanto la temperatura óptima de almacén oscila desde los 0 hasta los $4\pm 1^\circ\text{C}$ (Wills, 1999).

La Universidad de California (2013), menciona que a 5, 10 y 20°C la tasa de respiración del champiñón es de 35, 50, 158 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ respectivamente, sin embargo el Instituto del Frío-ICTAN (2013) mencionan que la respiración en champiñón a temperatura ambiente alcanza valores de 300-500 mg de $\text{CO}_2\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, y fuertes pérdidas de peso al menos del 0.6%. Estos procesos y el desarrollo de microorganismos inducen una pérdida irreversible de la calidad en un periodo no superior a 3 días de estancia a 20°C , mientras que la página de agricultura; AGROS (2013) menciona que los champiñones es postcosecha tienen una alta tasa de respiración llegando a alcanzar el valor de 500 mg de $\text{CO}_2\text{Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ a una temperatura de 2 grados centígrados, sin embargo sabemos que su respiración se ve afectada por una



amplia gama de factores ambientales que incluyen la luz, estrés químico (por ejemplo, fumigantes), radiación, agua, reguladores de crecimiento, y el ataque de patógenos, temperatura, composición atmosférica que pudiesen a ver tenido durante su cultivo.

5.2.3 Efecto en los parámetros bioquímicos

La mayor parte de los cambios químicos y bioquímicos que se producen en los tejidos vivos son provocados por las enzimas, siendo muy amplio el número de los sistemas enzimáticos que se han descubierto en los tejidos de las frutas y verduras (Pantastico, 1987).

- **Polifenoloxidasas (PPO)**

Esta enzima es la más estudiada en la industria de los alimentos. Una de estas razones es, porque comercialmente es indeseable ya que modifica las propiedades sensoriales, nutricionales y en general de calidad que perjudica la comercialización de los productos vegetales (Gasull y Becerra 2006).

En la figura 35 se observó el efecto del tiempo del almacenamiento a $4\pm 1^\circ\text{C}$ sobre la PPO en extractos crudos de guayaba debido a que no se registró actividad de la enzima polifenoloxidasas, manteniéndose constante hasta el día 20 de su almacenamiento, mientras que a $10\pm 1^\circ\text{C}$ la actividad fue de 0.058 y 0.1 $\Delta\text{abs}_{420}/\text{mg}^*\text{prot}$ en 5 y 10 días, posteriormente no se registró un incremento considerable de actividad.

Respecto a los frutos bajo temperatura ambiente alcanzaron su máxima actividad el día 10 con 0.291 $\Delta\text{abs}_{420\text{S}}/\text{mg}^*\text{prot}$, posteriormente disminuyó a 0.0815 $\Delta\text{abs}_{420}/\text{mg}$ en el día 15, estadísticamente no se registró una diferencia que pudiese ser significativa en la actividad específica de PPO en los extractos crudos de guayaba, respecto a las temperaturas de conservación, los resultados obtenidos fueron muy bajos, debido a la escasa concentración de la polifenoloxidasas.

Heimann (1980) menciona que a bajas temperaturas, incluso debajo de -30°C , la actividad enzimática es reducida pero no detenida completamente. El control natural de la actividad de la polifenoloxidasas se produce fundamentalmente mediante la compartimentalización de los

sustratos. La enzima se encuentra unida a la membrana, principalmente a las tilacoidales del cloroplasto, mientras que los compuestos fenólicos que pueden servir de sustratos se acumulan en las vesículas. La descompartimentalización de los tejidos vegetales tiene como consecuencia la oxidación de compuestos fenólicos, que producen el pardeamiento de los extractos.

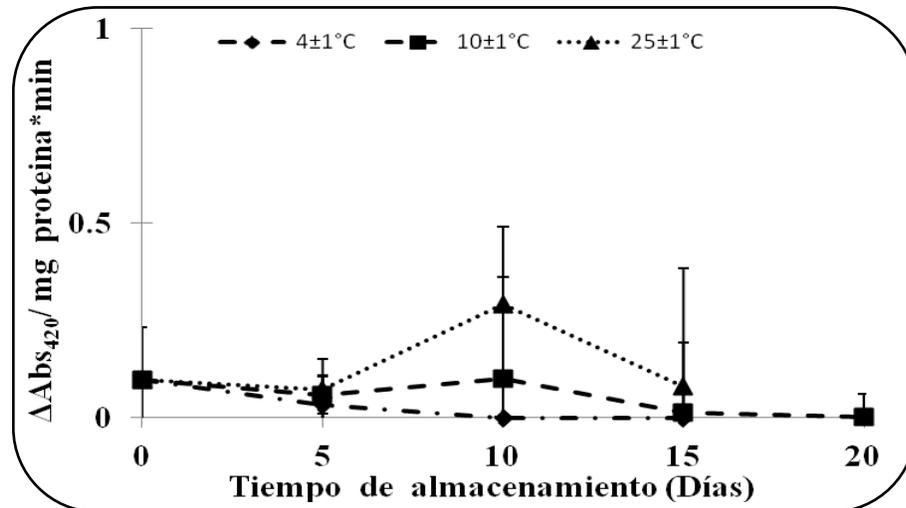


Figura 35. Actividad de la polifenoloxidasas (PPO) en Guayaba almacenadas a bajas temperaturas 4 y 10±1°C, durante 20 días. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas ± desviación estándar.

La actividad específica en extractos crudos de chile manzano almacenado a 4±1°C inicialmente fue de 2.561, 2.724, 4.661 y 1.22 Δabs/mg*prot, para 0, 5, 10 y 15 días respectivamente, alcanzando un máximo con 23.83 mg*prot el día 25. La temperatura de almacén a 10±1°C reportó mayor actividad específica de la enzima PPO que a la temperatura de almacén a 4±1°C ya que obtuvieron un máximo de 41.285 832 Δabs/mg*prot en el día 15, debido que bajo esta temperatura el fruto del chile manzano presentó daño por frío lo que hizo difícil su almacén durante más tiempo. Los extractos crudos de chile manzano almacenados a 25±1°C, la actividad específica aumento hasta 27.209 Δabs/mg*prot en los últimos 10 días de su conservación. La mayoría de los chiles manzanos fueron eliminados debido al daño avanzado generado por la pudrición presentada. Estadísticamente se registró diferencia significativa en la actividad específica de PPO por las diferentes temperaturas de conservación (Figura 36-A).

Resultados y discusión

En la figura 36-B se muestra la actividad específica de la PPO registrada para extractos de nopal almacenados a $4\pm 1^\circ\text{C}$ por 20 días, los niveles de actividad PPO fueron más altos a medida del paso de los días presentando un máximo $0.434 \Delta\text{abs}_{420}/\text{mg}^*\text{prot}$ el día 10, de ahí hubo un descenso con 0.287 y $0.173 \Delta\text{abs}_{420}/\text{mg}^*\text{prot}$ en los días 15 y 20, respectivamente.

La actividad específica determinada en los nopales expuestos a $10\pm 1^\circ\text{C}$ durante 20 días, fue de $0.302, 0.263, 0.24, 0.307, 0.487 \Delta\text{abs}_{420}/\text{mg}^*\text{prot}$, para 0, 5, 10, 15 y 20 días de su almacén, cabe mencionar que se presentaron dos máximos y dos mínimos en la actividad registrada, bajo condiciones de almacén a $25\pm 1^\circ\text{C}$ y durante el día 5 los nopales presentaron un máximo en su actividad específica de $0.28 \Delta\text{abs}_{420}/\text{mg}^*\text{prot}$, para los días 15 y 20 no se registró actividad específica, obteniendo una vida útil corta. Estadísticamente no se registró diferencia significativa en la actividad específica de PPO respecto a las diferentes temperaturas de conservación, debido a los valores de la actividad específica presentados ya al final de la conservación los cuales son mínimos para generar una diferencia más evidente del efecto de las temperaturas sobre el control de la enzima PPO (Figura 36-B).

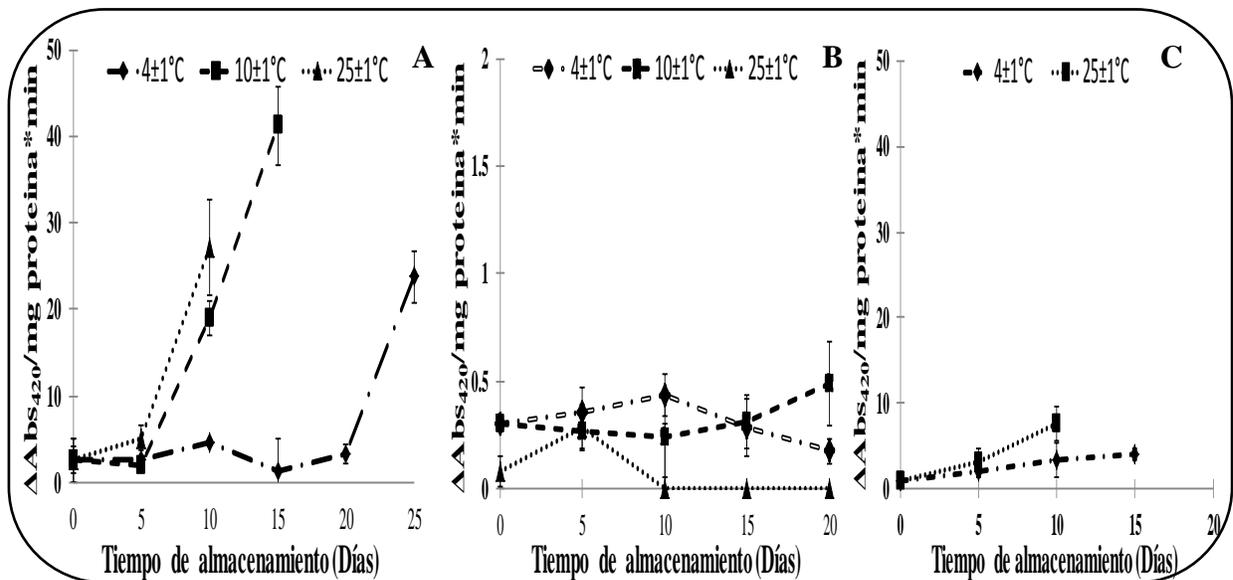


Figura 36. Actividad de la polifenoloxidas (PPO) en (A) chile manzano, (B) nopal y (C) champiñón, almacenados a bajas temperaturas 4, 10 y el control a $25\pm 1^\circ\text{C}$, durante 20 días. Los valores obtenidos son la media de tres réplica \pm desviación estándar.

La actividad específica de la enzima polifenoloxidas (PPO), en extractos crudos de champiñón almacenados a $4\pm 1^\circ\text{C}$, fue de $3.966 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ en el día 15, respecto a los



Resultados y discusión

hongos almacenados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ reportaron valores de $7.552 \Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$ en el día 10, presentando oscurecimiento, siendo imposible su evaluación, lo que significa que la conservación a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ reduce la actividad específica, estadísticamente existe diferencia significativa sobre el efecto de la temperatura y tiempo de almacén en la actividad específica PPO de los extractos crudos de champiñón (Figura 36-C).

El pardeamiento enzimático del champiñón se considera un parámetro de calidad importante pues es un factor que determina la comerciabilidad y aceptabilidad de los consumidores (Somasundaram *et al.*, 2003).

Simón y Cerrolaza (1996) mencionan que la intensidad y uniformidad de la actividad polifenoloxidasas depende de si los champiñones, han sido lavados o no posterior a la cosecha, comprobando que los lavados adquieren un color más oscuro que los no lavados. Las laminillas también adquieren tonos pardos con el tiempo; para evitarlo resulta esencial pre enfriar el producto. Una humedad relativa alta durante todo el proceso a partir de la recolección es esencial para reducir el pardeamiento, como segundo factor de importancia luego del descenso de la temperatura (Geels, 1991).

Con relación a los nopales el oscurecimiento es un problema similar al que ocurre en la mayoría de las frutas y hortalizas que son dañadas mecánicamente durante el transporte o al ser cortadas. Generalmente, esta reacción causada por la enzima polifenoloxidasas (PPO) es considerada altamente indeseable. Esta enzima se reconoce como la más dañina con respecto a los cambios de color de alimentos de origen vegetal, ocasionando mermas de hasta el 50 por ciento en frutas tropicales y grandes pérdidas económicas en la mayoría de las frutas y hortalizas. Existen diferencias en el grado de oscurecimiento entre variedades de frutas y hortalizas debido a variaciones en el contenido y tipo de compuestos fenólicos y a diferencias en la actividad de PPO (Vamos-Vigyazo, 1981; Lee, 1995).

En nopales, se han observado diferencias en la susceptibilidad al oscurecimiento y en la actividad específica de PPO entre variedades, observándose los valores mayores en el cultivar COPENA F-1 y los menores en Atlixco (Rodríguez-Félix, 1997). Sin embargo, algunos



Resultados y discusión

autores también han reportado una disminución en la actividad de la polifenoloxidasasa (PPO) en hojas de tomate "*Lycopersicon esculentum L.cv TmKnf2*" y en hojas de sandía "*Citrullus lanatus [Thomb] Mans.cv. Dulce Maravilla*" como respuesta al estrés por bajas temperaturas (Rivero *et al.*, 2001).

La actividad de la polifenoloxidasasa difiere entre los diferentes frutos y hortalizas e incluso dentro de la misma especie. Esta variación ocurre debido a varios factores como la fecha de cultivo, el tipo de producto vegetal, la actividad de agua (aw), la temperatura y humedad relativa del almacén a la que se expone el vegetal (Badui, 2002).

La actividad enzimática de la PPO ha sido determinada anteriormente en mora (Arslan *et al.*, 2004), níspero (Ayaz *et al.*, 2008), pitaya (Baquero-Duarte *et al.*, 2005), uva (Castellari *et al.*, 1997), berenjena (Concellon *et al.*, 2004), tomillo (Dogan *et al.*, 2006), manzana (Espin *et al.*, 1995), pera (Franck *et al.*, 2007), cereza (Kumar *et al.*, 2008), malanga (Lee *et al.*, 2007) y aguacate (Soliva *et al.*, 2002), entre otros, determinándose que la PPO está relacionada con el proceso de pardeamiento enzimático y que su actividad se hace evidente durante el proceso de maduración y senescencia del fruto y cuando el fruto sufre daños mecánicos, fisiológicos o es atacado por patógenos. La actividad enzimática de la PPO aumenta durante los estados verdes y disminuye durante los estados maduros y senescentes.

- **Peroxidasasa (PDO)**

En la figura 37-A se observa la actividad enzimática de la peroxidasa (PDO) en frutos de guayaba almacenada a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, sus extractos crudos mostraron un aumento de la actividad de $15.498 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ durante los primeros 10 días de almacenamiento, para después presentar un máximo de $19.247 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ en un lapso de 20 días. Al final del periodo de conservación se presentaron cambios desagradables entre ellos se observó pardeamiento.

La actividad de los extractos crudos de guayaba almacenada a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, registro dos incrementos de 17.796 y $32.674 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ en los días 10 y 20 respectivamente, es posible notar que el comportamiento de la actividad enzimática no fue constante a lo largo del periodo de almacén lo que hace pensar que el metabolismo de los frutos sufrió daño y la

Resultados y discusión

velocidad con que disminuyó la actividad enzimática fue menor, en el caso de los frutos de guayaba almacenados a $25\pm 1^\circ\text{C}$ la actividad específica fue de $7.333 \Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, para después incrementar su valor a $21.953 \Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$, y disminuir a $12.44 \Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$ el último día de su almacén esto fue para el día 15 reflejado en el color de los frutos quienes manifestaron un café más oscuro en la piel, por lo que la actividad enzimática de la guayaba fresca varía durante la conservación bajo distintas condiciones de temperatura y almacenadas durante 15 días periodo durante el cual las actividades registraron 4.041, 8.728 y $12.444 \Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$ para las temperaturas de 4, 10 y $25\pm 1^\circ\text{C}$ respectivamente, la actividad de esta enzima fue muy variable ya que muestra dos máximos y dos mínimos con lo que es difícil elucidar lo que ocurre (Figura 37-A).

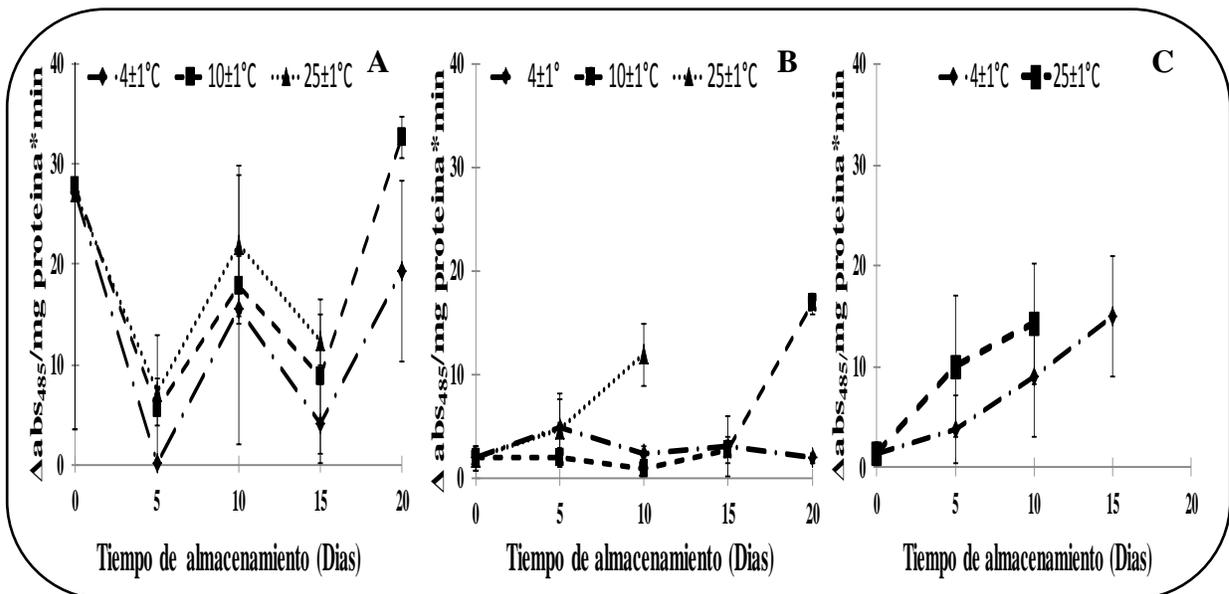


Figura 37. Actividad de la Peroxidasa (PDO) en (A) Guayaba, (B) Nopal y (C) Champiñón almacenados a bajas temperaturas 4, 10 y el control a $25\pm 1^\circ\text{C}$, durante 20 días. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas \pm desviación estándar.

En los extractos crudos de chile manzano no se determinó este parámetro bioquímico, ya que los resultados de la peroxidasa no fueron perceptibles, mediante la técnica descrita en materiales y métodos.

La actividad específica en los extractos crudos de nopal almacenados a $4\pm 1^\circ\text{C}$ presentó valores que fueron de 1.80, 4.58 y $2.228 \Delta\text{abs}/\text{mg}\cdot\text{prot}$ para 0, 5 y 10 días respectivamente, mientras que los cladodios expuestos al almacén de $10\pm 1^\circ\text{C}$ incrementaron su actividad,



Resultados y discusión

donde inicialmente registraron un valor de $1.963 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ el quinto día, posteriormente se reportaron $2.674 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ en 15 días de almacén, y al final del periodo de conservación de 20 días se registró un máximo de $16.837 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$, en tanto que los cladodios almacenados a $25\pm 1^\circ\text{C}$, incrementaron su actividad obteniendo valores de $4.588 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ en día 5, después de ese tiempo la actividad se incrementó hasta obtener valores de $11.897 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ a los 10 días, estadísticamente no se reportó diferencia significativa respecto a las temperaturas de conservación (Figura 37-B).

Los champiñones almacenados a $4\pm 1^\circ\text{C}$ registraron una actividad específica inicial de $1.350 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ mostrando un incremento en el quinto día de $3.765 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$, hasta alcanzar un máximo de $8.947 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ y $14.921 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ en 10 y 15 días. La actividad específica de PDO en extractos crudos de champiñón a $25\pm 1^\circ\text{C}$, registró 9.95 y $14.29 \Delta\text{abs}/\text{mg}^*\text{prot}$ en 10 y 15 días. Estadísticamente no existe diferencia respecto a las temperaturas, sin embargo si se reporta diferencia significativa ($P\leq 0.05$), en cuanto al tiempo de almacén, sobre el efecto de la peroxidasa de los extractos crudos de champiñón (Figura 37-C).

Hanson (1979) mencionan que el oscurecimiento ocurre cuando los fenoles se oxidan en reacciones catalizadas por fenolasas, como las polifenoloxidasas o las peroxidosas que utilizan como sustratos a los compuestos fenólicos, las actividades enzimáticas evaluadas polifenoloxidasa (PPO) y peroxidasa (PDO), de los productos vegetales estudiados, tienen comportamientos diferentes con respecto al incremento de la actividad, debido a varios factores como; la presencia de daño oxidativo en los productos vegetales debido a la exposición al frío, daños físicos y manipulación durante su evaluación, generando una diferencia en su actividad metabólica.

La actividad enzimática de la PDO ha sido determinada en frambuesa y fresa (García *et al.*, 2004), pitaya (Baquero-Duarte *et al.* 2005), pimentón (Goodwin *et al.*, 2003), mangostino (Ketsa *et al.*, 1998), calabacín (Lebeda *et al.*, 1999), tomate (Lurie *et al.*, 1997), tunas (Padiglia *et al.*, 1995), uva (Rivera *et al.*, 2004), manzana (Torres *et al.*, 2003), arazá (Narváez-Cuenca 2008) entre otros, determinándose que la PDO está relacionada con el proceso con el proceso de pardeamiento enzimático de los tejidos.



5.3 Relación de los cambios de color y actividad enzimática en frutos (guayaba) y hortalizas (chile manzano, nopal y champiñón) almacenados a bajas temperaturas.

Las bajas temperaturas de almacén se han utilizado para conservar los productos vegetales, sin embargo en algunas frutas y hortalizas provocan daños, que algunas resultan ser de origen enzimático comprometiendo la calidad del vegetal. Dicha alteración se le conoce como pardeamiento enzimático, el cual es el proceso que le sucede a un alimento de origen vegetal cuando se le somete a un proceso mecánico (pelado, golpes, picado) y daños por frío, como consecuencia la superficie expuesta al aire se oscurece por el contacto con O2.

Por lo que el principal parámetro de calidad que se altera es el color, seguido de la modificación del sabor, aunque se puede observar que las lesiones, varían de acuerdo a la tolerancia de los frutos y hortalizas al frío, ya que los daños por frío provocan cambios bioquímicos a nivel celular e inducen más rápido el deterioro del producto vegetal.

La determinación de la influencia de los cambios de color, inducida por las enzimas PDO y PPO, se estableció mediante la actividad de estas durante el almacenamiento de los productos vegetales en estudio, determinando su posterior correlación. Se observó que la actividad específica de las enzimas PPO y PDO de los productos en estudio no se vio significativamente alterada por las temperaturas. En la tabla 27 se pueden observar las correlaciones obtenidas entre la actividad enzimática, y el índice de color evaluados preliminarmente en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón.

Tabla 27. Coeficientes de correlación entre Índice de color (IC) y actividades enzimáticas de peroxidasa y polifenoloxidasas.

Table with 7 columns: Vegetal, PPO vs IC (R^2) at 4, 10, 25, PDO vs IC (R^2) at 4, 10, 25. Rows include Guayaba, Chile, Nopal, and Champiñón.

*=Los valores indican que existe una relación significativa aplicando una prueba de correlación de Pearson.

R^2 =Índice de color vs actividad enzimática PPO y PDO.

N.D.= No se determinó



Resultados y discusión

En general, se puede observar que existe correlación entre la actividad PPO, con el índice de color en guayaba a la temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ con un valor de $R^2 = 0.72$ y $R^2 = 0.66$ para $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, mientras que chile manzano a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ presentó un valor de $R^2 = 0.63$, en nopal no existe correlación y en champiñón la correlación fue a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ de $R^2 = 0.98$. Sin embargo de manera general y de acuerdo a la significancia estadística del coeficiente de correlación de Pearson obtenida no procede, con un riesgo máximo de equivocarnos de 0.05.

Concluimos, pues, que ambas variables no están relacionadas, ya que el análisis de correlación lineal permitió determinar que el efecto de las bajas temperaturas no contribuyen significativamente al índice de color y a la actividad PPO y PDO en la mayoría de las correlaciones presentadas en la tabla 27.

Cabe aclarar que aunque la correlación lineal permita establecer la relación entre variables, estas no siempre influirán, ya que existen otros factores que determinen el efecto de una variable sobre la otra.

Debido a la presencia de colores extraños en la piel de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón característicos de daños fisiológicos durante su almacén, se puede sugerir que todos los cambios de color que ocurrieron son debido al proceso de maduración y senescencia, aunque la aparición de manchas necróticas fueron inducidas por lesiones en el fruto, apresurándonos a mencionar que quizá fue debido al estado de madurez de los frutos y hortalizas en estudio.

Serrano *et al.* (1997) reportó que en melocotón “Paraguay” y tomate “Daniela” son más sensibles cuando no han madurado manifestando síntomas de daño por frío. Por ejemplo algunas guayabas en estudio llegaron en estado verde, madurando durante su almacén provocando que los daños aparecieran con mayor intensidad y de este modo alterar su color.

Si bien es difícil predecir la temperatura y el período de exposición en las que el máximo nivel de daños por frío sería inducido. Son muy numerosas las disfunciones celulares y las alteraciones fisiológicas y bioquímicas que inducen las bajas temperaturas, en diferentes



productos vegetales, de origen tropical, mediterráneo y de climas templados. Un aumento en la biosíntesis del ácido abscísico y putrescina en pimiento fue causado, cuando fue expuesto a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ condición que favoreció la pudrición. De la misma forma en un estudio realizado en pimiento “Lamuyo”, los frutos rojos no mostraron picado a 2°C , mientras los verdes fueron muy sensibles (Serrano *et al.*, 1997).

Los daños fisiológicos son causados por el trasvase de electrolitos y metabolitos entre los diversos compartimentos celulares y entre las células y el medio, provocando la ruptura de las membranas, necrosis y muerte del producto vegetal, conduciendo a desviaciones metabólicas y fisiológicas de las células (Mazliak, 1992). En frutos de mango almacenados a temperaturas inferiores a $12,5^{\circ}\text{C}$, las temperaturas de refrigeración causan un aumento de la actividad de la peroxidasa (Zauberman *et al.*, 1991); en su parte (Aydin y Kadioglu, 2001) observaron un aumento de la actividad peroxidasa durante la maduración de la fruta y la senescencia.

Entorno al pardeamiento se sabe que la polifenoloxidasa (PPO) y peroxidasa (PDO) catalizan la oxidación de fenoles propios de las células a quinonas, las cuales son altamente reactivas con proteínas, ácidos nucleicos, flavonoides y otras quinonas; estas reacciones, además de generar colores pardos, reducen las propiedades sensoriales de textura, color y sabor, disminuyen la calidad nutricional del alimento y desembocan finalmente en la muerte del fruto (Halpin *et al.*, 1984). El papel de la PDO en el oscurecimiento enzimático no es claro, pero se ha propuesto que puede estar involucrada en procesos lentos tales como el oscurecimiento interno, y un efecto sinérgico con PPO no se debe descartar (Tómas y Espín, 2001).

5.4 Relación de los cambios de color e Índice de daño por frío en frutos (guayaba) y hortalizas (chile manzano, nopal y champiñón) almacenados a bajas temperaturas.

El daño por frío también es considerado como un estrés oxidativo relacionado con una disminución en enzimas que remueven especies reactivas de oxígeno, como superóxido dismutasa y catalasa, el superóxido y peróxido de hidrogeno producidos por tejidos vegetales a bajas temperaturas pueden causar la peroxidación de lípidos en la membrana, lo que puede



Resultados y discusión

originar una pérdida en la integridad de la membrana, estructura física y fluidez, que afecta la función de las proteínas (Shewfeit y Del Rosario, 2000).

La manifestación del pardeamiento enzimático en frutos frescos puede ser ocasionada por daños directos al fruto como cortes y laceraciones, debido a que ocasionan una pérdida en la compartimentalización celular y la posterior interacción de los polifenoles con las enzimas, conllevando a la aparición de síntomas de pardeamiento.

La aparición de compuestos pardos en la corteza del fruto también es un síntoma de envejecimiento y estrés oxidativo avanzado característico de los frutos que se encuentran en la etapa de senescencia y ocasionan el rechazo del fruto por parte del consumidor (Ayaz *et al.*, 2008).

Uno de los síntomas más importantes de los (DF) en frutas y hortalizas es el pardeamiento enzimático, debido a la actividad de (PPO) y (PDO), tomando en cuenta lo anterior se determinó la relación entre el índice de daño por frío y la actividad enzimática PPO y PDO Como se muestra en la tabla 28.

Tabla 28. Coeficientes de correlación entre Índice de daño por frío y actividades enzimáticas.

Vegetal	PPO (R ²)		PDO (R ²)	
	4	10	4	10
Guayaba	*0.72	*0.66	0.02	0.03
Chile	0.002	0.42	N.D.	N.D.
Nopal	0.29	0.45	0.05	0.51
Champiñón	*0.98	N.D.	*0.96	N.D.

*=Los valores indican que existe una relación significativa aplicando una prueba de correlación de Pearson.

R²=Índice de daño por frío vs actividad enzimática PPO y PDO.

N.D.= No se determinó

No se observó ninguna correlación entre la actividad de la PPO y PDO con los daños por frío en chile y nopal, sin embargo en guayaba existe relación con un valor de R²=0.72 y R²=0.66 para 4 y 10±1°C respectivamente, al igual que en champiñón con R² = 0.98 para 4±1°C. Este resultado confirma que la PPO es una enzima que está involucrada principalmente en el proceso de pardeamiento enzimático del fruto, teniendo una contribución muy pequeña la



Resultados y discusión

actividad PDO. Sin embargo el método de correlación lineal permitió determinar la relación entre las enzimas PPO y PDO, y los daños por frío, concluyendo que los resultados obtenidos no fueron significativos en la mayoría de las correlaciones presentadas en la tabla anterior. Cabe resaltar que la alta correlación del champiñón es debida al alto contenido en PPO que éste posee.

Por su parte Martínez-Téllez y Lafuente (1993) no encontraron ningún cambios significativo en la actividad de peroxidasa en "Fortune" mandarina almacenada a 2.5 ° C durante varias semanas, pues el pardeamiento suele empezar en torno a los haces vasculares, probablemente a causa de la acción de las enzimas polifenoloxidasas sobre los compuestos fenólicos liberados de las vacuolas tras el enfriamiento.

Los daños por frío y el pardeamiento enzimático, no solo involucran el color y el aspecto del alimento si no también sabor y valor nutritivo. El pardeamiento es un motivo de la muerte comercial de muchos alimentos, y el factor limitante más importante de su vida útil en la estantería. A pesar que los resultados finales son los mismos, las reacciones que conducen al pardeamiento son extremadamente variadas y complejas.



6. CONCLUSIÓN

Con base en los resultados del presente trabajo se concluye lo siguiente:

- Las condiciones óptimas para la determinación de la actividad máxima de la enzima polifenoloxidasas (PPO) en extractos crudos de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón se obtuvieron a pH de 6.5, 6.0, 7.0 y 5.7; a 40°C, con el sustrato dopamina hidroclicorada a una concentración de 0.15, 0.20, 0.07 y 0.15M, respectivamente para cada producto vegetal.
- Las condiciones óptimas para la determinación de la actividad máxima de la enzima peroxidasa (PDO) en extractos crudos de guayaba, nopal y champiñón se obtuvieron a pH de 6.5, 5.5, y 6.0; a 40 y 30°C, esta última para nopal, con el sustrato *P-fenilendiamina* a una concentración de 0.04, 0.07, 0.07 y 0.15M, respectivamente para cada producto vegetal.
- El estudio de las condiciones óptimas, permite comprender parámetros básicos que determinan la actividad de las enzimas, sin embargo debe ser complementada la evaluación a temperaturas mayores de 40°C donde se pueda observar el comportamiento de esta variable, sobre la actividad de las enzimas PPO y PDO de los productos vegetales en estudio.
- Las bajas temperaturas de almacenamiento afectaron de manera diferente el comportamiento fisiológico de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón, debido a la incidencia de los daños por frío. Además se observó que la respiración disminuyó con respecto a los productos vegetales expuestos a temperatura ambiente (25±1°C).
- El índice de color y la actividad de la PPO presentaron una correlación significativa en guayaba almacenada a 4 y 10°C, así como en chile manzano conservado a 10 y 25°C, y champiñón a 4 y 25°C; mientras que en nopal no se registró una correlación significativa. Por lo que estas relaciones indican que la temperatura de almacenamiento



es un factor importante en los cambios de color presentados en guayaba, chile manzano y champiñón debido a la acción de esta oxidoreductasa.

- El índice de color y la actividad de la PDO presentaron una correlación significativa en nopal almacenado a 25°C, así como en champiñón conservado a 4°C, mientras que en guayaba no se registró una correlación significativa. Por lo que estas relaciones indican que la temperatura de almacenamiento es un factor importante en los cambios de color presentados en nopal y champiñón debido a la acción de esta oxidoreductasa.
- El índice de daño por frío y la actividad de la enzima PPO presentaron una correlación significativa en guayaba almacenada a 4 y 10°C y en champiñón a 4±1°C, mientras que en chile manzano y nopal no registran una correlación. Por lo que estas relaciones indican que la temperatura de almacenamiento es un factor importante en los síntomas de daños por frío presentados en guayaba y champiñón debido a la acción de la polifenoloxidasas.
- El índice de daño por frío y la actividad de la enzima PDO presentaron una correlación significativa en champiñón almacenada a 4°C, indicando que la temperatura de almacenamiento es un factor importante en los síntomas de daños por frío presentados en champiñón debido a la acción de la peroxidasa.



7. RECOMENDACIONES

- Identificar y cuantificar los principales compuestos fenólicos y carotenoides que podrían contribuir significativamente a la capacidad antioxidante de los productos vegetales en estudio y determinar su posible relación con la actividad enzimática PPO y PDO, durante su almacén a bajas temperaturas.
- Estudiar el fenómeno pérdida de la firmeza sobre guayaba, chile manzano y nopal, mediante la cuantificación de la actividad de la enzima PG (poligalacturonasa) y PE (pectinesterasa) y su posible relación con los daños por frío.
- Estudiar los cambios químicos (vitamina C, pigmentos) de guayaba, chile manzano, nopal y champiñón durante el periodo de almacén a bajas temperaturas.
- Evaluar la actividad de polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO) tras la aplicación de un choque térmico, previo a la refrigeración, puesto que se ha evidenciado que este tratamiento disminuye las lesiones por frío.
- Evaluar el efecto de la temperatura 50, 60, 70 y 80°C, sobre la actividad de polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (PDO), en los extractos crudos de guayaba, champiñón, chile manzano y nopal.
- Seguir esta línea de investigación a partir de trabajos complementarios que permitan tener una visión más completa de los daños por frío causado en guayaba, chile manzano, nopal y champiñón con la finalidad de desarrollar tecnologías emergentes que disminuyan efectos producidos por las bajas temperaturas de almacén.



8. REFERENCIAS

- AGROS (2013). Tasa de respiración del champiñón, Consultado en julio 2013. Disponible en: <http://navoraulagros.blogspot.mx/>.
- Amiot, M. J.; Tacchini, M.; Aubert, S.; Nicolas, J. (1992) Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*, 57(4): 958-962.
- Anónimo (1996) Sulfiting agents; revocation of GRAS status for use on fruits and vegetables intended to be served or sold raw to consumers. *Federal Register*, 51 (237): 46968.
- Aquino-Bolaños, E.N. y Mercado-Silva, J. (2004). Effects of polyphenoloxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. *Postharvest Biology and Technology*. 33(3): pp.275-283.
- Artés, F. (1987). Refrigeración y comercialización hortofrutícolas en la región de Murcia. 2ª ed. CEBAS.CSIC. 150p.
- Arslan, O.; Erzençin, M.; Sinan, S.; Ozensoy, O. (2004). Purification of mulberry (*Morus alba* L.) polyphenol oxidase by affinity chromatography and investigation of its kinetics and electrophoretic properties. *Food Chemistry*. 88: 479-484.
- ASERCA (2012) Importancia económica del nopal. Consultado en mayo 2012. Disponible en: <http://www.aserca.gob.mx/secsa/estudios/nopal.pdf>.
- Ashie, I. N. A.; Simpson, B. K.; Smith J. P. (1996) Mechanisms for controlling enzymatic reactions in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36(1 y 2): 1-30.
- Ayaz, F.; Demir, O.; Torun, H.; Kolcoughlu, A.; Colak, A. (2008). Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic content in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. *Food Chemistry*. 106: 291-298.
- Aydin, N., A. Kadioglu (2001). Changes in the chemical composition, polyphenol oxidase and peroxidase activities during development and ripening of Medlar fruits (*Mespilus germanica* L.). *Bulg. J. Plant Physiol.*, 27(3-4), 85-92.
- Badui, D.S. (2002). Química de Alimentos. Alambra Mexicana. México.



- Baldwin, E. A.; Nisperos -Carriedo, M. O.; Baker, R. A. (1995). Use of edible coatings to preserve quality of lightly processed products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(6): 509- 524.
- Baquero-Duarte, L.E.; Castro-Rivera, J.A.; Narvaez-Cuenca, C.E. (2005). Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasas en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana*. 10(2): 49-60.
- Baquero, D. L. E.; Castro, R. J. A.; Narváez, C. C. E. (2006). Extracción y medida de peroxidasa en pulpa de arazá (*Eugenia stipitata* MC Vaugh); *Revista Colombiana de Química* 35: 91.
- Bassetto, E.; Jacomino, A.P.; Pinheiro, A.L.; Kluge, R.A. (2005). Delay of ripening of Pedro Sato guava with 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*. 35: 303-308.
- Bashir, H.A.; Bakr, A.; Goukh, A. (2003). Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chemistry*. 80: 557-563.
- Ben-Yehoshua, S. (1987). Transpiration, water stress and gas exchange. pp. 113-170. En: Weichman, J (Ed.). *Postharvest Physiology of Vegetables*. Marcel Dekker Inc. New York. USA.
- Bernards, M., Fleming, W.D., Llewellyn, D.B., Priefer, R. Yang, X.,Sabatino,A. y plourde,G.L. (1999). Biochemical characterization of the suberization- associated anionic peroxidase of potato. *Plant physiology*. 121: 135-145.
- Billot, J. (2002). El pardeamiento enzimático, en: Tirill, Y.I. y Bourgeots, C.M; (eds). *Tecnología de las Hortalizas*. ACRIBIA, Zaragoza, España.
- BIOPRODIN, (2013). Peroxidasa. Consultado en octubre 2013, Disponible en: http://www.bioprodin.com/files/services_peroxidasa_es.pdf
- Bolin, H. R.; Huxsoll, C. C. (1991) Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*, 56(2): 416-418.
- Bosquez, M.E. (1992). Actividad Respiratoria. Manual de prácticas de laboratorio de fisiología postcosecha de frutas y hortalizas. pp.51-55.



- BOTANICAL (2012). Variedades de setas comestibles, Consultado en junio 2012 Disponible: <http://www.botanical-online.com/setas/champinones.htm>.
- Brown, B. and R. Wills. (1992). Post-harvest changes in guava fruits of different maturity. *Scientia Horticulturae* (19): 237-243.
- Brandelli A. y Lopes C. (2005). Polyphenoloxidase Activity, Browning Potential And Phenolic Content of Peaches During Postharvest Ripening. *Journal of Food Biochemistry*. 29(16):624-637.
- Briseño-Contreras C. I.; Vargas-Solano Z.; Camacho de la Rosa, N.A.; Wachter-Rodarte, C.; Trejo Márquez M. A. (2008). Efecto de los tratamientos por irradiación UV-C sobre la actividad de la polifenol oxidasa y Peroxidasa en mangos variedad “Ataulfo” almacenados a bajas temperaturas. *Revista Salud Publica y Nutrición*. Edición Especial. No.8. AO69.
- Calvo, M. (2007). Bioquímica de los Alimentos. Consultado en febrero de 2011. Disponible en: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/enzimas/tirosinasa.html>
- Cano, M.P.O., Marín, M.A. y Fúster, C. (1997). Differences among Spanish and Latin American banana cultivars, morphological, chemical and sensory characteristics. *Food Chemistry*, 51(2): 223-231.
- Castellari, M.; Matricardi, L.; Arfelli, G.; Rovere, P.; Amati, A. (1997). Effects of high pressure processing on polyphenoloxidase enzyme activity of grape musts. *Food Chemistry*. 60: 647-649.
- Casado J. (2004). Purificación y caracterización Cinética de Polifenoloxidasa de Tomate. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica de Colombia* 13(2): 13-19.
- Castro, A. J.; Swanson, B. G.; Barbosa-Canovas, G. V.; Dunker, A. K. (2000) Pulsed electric field denaturation of alkaline phosphatase. En: G. V. Barbosa-Canovas; H. Zhang (Eds) *Electric Fields in Food Processing*. Lancaster, PA: Technomic 83-104.



- Celis Herrera, Tania (2007). Efecto de altas presiones dinámicas sobre la actividad de la polifenoloxidasas en jugo de manzana. Universidad de las Américas Puebla Escuela de Ingeniería y Ciencias. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/celis_h_t/portada.html
- Clydesdale, F. M. (1993) Color as a Factor in Food Choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33 (1): 83-101.
- Cob, C, Nubia. N; Tello C, J; Escamilla S, J; Vargas y, Lourdes; Tamayo C. (2010). Actividad de la polifenoloxidasas en el gel de sábila. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 11 (2): 224.
- Coetzer, C.; Corsini, D.; Love, S.; Pavék, J.; Tumer, N. (2001) Control of enzymatic browning in potato (*Solanum tuberosum* L.) by sense and antisense RNA tomato polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 652-657.
- COLPOS (2012), Variedades de Guayaba, Consultado en mayo 2012. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-040-1993.PDF>.
- Concellon, A.; Anon, M.; Chaves, A. (2004). Characterization and changes in polyphenoloxidase from eggplantfruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. *Food Chemistry*. 88: 17-24.
- CONABIO (2012). Variedades y especies de nopal Consultado en Julio de (2012). Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfGE005.pdf>
- Cuenca Rural (2013). Sintomatología de daños por frío. Consultado en septiembre 2013. Disponible en: <http://www.cuencarural.com/frutihorticultura/frutihorticultura/79751-dano-por-frio-en-la-conservacion-refrigerada-de-frutas-y-hortalizas-podremos-beneficiarnos-con-el-estres/>
- Crisosto, C.H., Johnson, R.S; Luza, J.G.; Crisosto, G.M. (1994) Irrigation regimes affect fruit soluble solids concentration and rate of water loss of “o” ”Henry” peaches. *HortScience*, 29(10): 1169.
- Crónica (2012), Cultivo de hongos, Consultado en abril 2012. Disponible en: <http://www.cronica.com.mx/notas/2012/636536.html>



- Chandia, V. (2000). Modelo Bifásico para la determinación de los Parámetros Termocinéticos de la Desactivación de las Enzimas Peroxidasa y Lipoxigenasa en Zanahoria (*Daucus carota*), Brócoli (*Brassica oleracea* cultivar itálica) sometidos a diversos tratamientos de escaldado. Tesis de Licenciado en Ingeniería en Alimentos Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias, Chile.
- Chang, Y., Pennesy, A. y Dickson, M. (1984). Characterization of Cauliflower Peroxidase Isoenzyme. *Journal Agric. Food Chem.* 32(1):18-21.
- Chan, H.T. (1988). “Alleviation of Chilling Injury in Papayas”. *Hortscience* 23(5): 868-870.
- Champiñones (2012). Setas comestibles, Consultado en junio 2012 Disponible: <http://www.botanical-online.com/setas/champinones.htm>.
- Cheyner, V. (1999). Propiétés gustatives des composés phénoliques. Compte rendu de la journée “ Roledes polyphenols en alimentation et santé humaine”, Massy, France.
- Chi Zhinian, Ke Jiayao, Wang Zesheng, (1999). Study on the enzymic browning mechanism of *Agaricus bisporus*. *Edible Fungi of China*, 18(6) 17-18.
- Cjuno, J. H. y J. Arroyo, C. (2009) Inhibición de la actividad enzimática de la tirosinasa con edta, quitosano y papaína. Consultado en junio 2013. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/ing_quimica/v12_n2/pdf/a07v12.pdf
- Díaz-Pérez, J. C.; Bautista, S.; Villanueva, R. (2000). Quality changes in sapote mamey fruit during ripening and storage. *Postharvest Biology and Technology* 18: 67-73.
- Dong, X., Wrolstad, R.E., Sugar, D. (2000). Extending shelf life of fresh-cut pears. *J. Food Sci.* 65, 181–186.
- Dogan S, Turan P, Erturk H, Arslan O. (2005). Characterization and purification of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *J Agr Food Chem.* 53 (3): 776-785.
- Dogan, S.; Turan, P.; Dogan, M. (2006). Some kinetic properties of polyphenol oxidase from *thymbra spicata* L. var. *spicata*. *Process Biochemistry.* 41: 2379-2385.



- Dorantes-Álvarez, L.; Chiralt, A. (2000) Color of minimally processed fruits and vegetables as affected by some chemical and biochemical changes. En: Alzamora, S.M.; Tapia, M.S.; López- Malo, A. (Eds): *Minimally processed fruits and vegetables*. Aspen Publication: Gaithersburg, Maryland. 111-126.
- Doreyappa, I.N. y Huddar, A.G. (2001). Studies on ripening changes in mango (*Mangifera indica* L) fruits. *Journal of Food and Technology*, 38: 135-137.
- EDOMEX (2013). Investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal, Producción de Chile manzano. Consultado en mayo 2013. Disponible en: http://portal2.edomex.gob.mx/icamex/investigacion_publicaciones/horticola/chile_manzano/index.html.
- El-Buluk, R.E.; Babiker, E.E.; El-Tinay, A.H. (1995). Biochemical and physical changes in fruits of four guava cultivars during growth and development. *Food Chemistry*. 54: 279-282.
- Espin, J.; Morales, M.; Varon, R.; Tudela, J.; Garcia, F. (1995). A continuous spectrophotometric method for determining the monophenolase and diphenolase activities of apple polyphenol oxidase. *Analytical Biochemistry*. 231: 237-246.
- Escet.urjc (2013), Química y análisis de alimentos. Consultado en mayo 2013. Disponible en: <http://www.escet.urjc.es/~isierra/Tema12.pdf>.
- FAGRO (2013), Pérdidas postcosecha. Consultado en agosto 2013, Disponible en: <http://www.fagro.edu.uy/~poscosecha/docs/Introduccion%20I%20Perdidas%20en%20Poscosecha.pdf>
- FAO (2012a). Consumo nacional de frutas y hortalizas., Consultado enero de 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/5056S03.htm>
- FAO (2012b). Composición química de frutas y hortalizas, Consultado enero de 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/5056S03.htm>
- FAO (2013a). Aspectos generales de la fruta y hortaliza. Consultado en junio 2013, Disponible en: <http://www.fao.org/inpho> .
- FAO (2013b). Tasa de respiración de la guayaba. INPHO técnicas IICA PRODAR Consultado en julio 2013. Disponible en:



http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/GUAYABA.HTM

- Farooqi, W. Sattar, A., K. Daud and M. Hussain. (1985). Studies on the postharvest chilling sensitivity of mango fruit “*Mangifera indica* L.” *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 98:220-221.
- Fennema, O. R. (1995). *Química de los alimentos*. Acribia, Zaragoza.
- Financiera Rural (2013). Producción de frutas y hortalizas. Consultado en junio de 2013. Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx/>
- Fonseca, S.C.; Oliveira, F.A.; Brecha, J.K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits a vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*. 52: 99-119.
- Flores-Gutiérrez. A. A. (2000). Manejo postcosecha de frutas y hortalizas en Venezuela. UNILLEZ, Venezuela.
- Franck, C.; Lammertyn, J.; Ho, Q.; Verboven, P.; Verlinden, B.; Nicolai, B. (2007). Browning disorders in pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 43: 1-13.
- Fujita, S.; Bin-Saari, N.; Maegawa, M.; Tetsuka, T.; Hayashi, N.; Tono, T. (1995). Purification and properties of polyphenoloxidase from cabbage (*Brassica oleracea* L.). *J, Agric. Food Chem* (1995). 43:1138-1142.
- Fundación EROSKI (2012). Conozcamos algo más sobre las frutas. Consultado en mayo 2012, Disponible en: www.eroski.es/eroski-y-tu/eroski-consumer.
- Gacche, R.N., Zore, G.B. & Ghole, V.S. (2003). Kinetics of Inhibition of PolyphenolOxidase Mediated Browning in Apple Juice by β -Cyclodextrin and L-ascorbate-2-triphosphate. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 18: 1-5.
- Gallo, P. F. (1997). Manual de fisiología, patología. Postcosecha y control de calidad de frutas y hortalizas. Convenio SENA-reino Unido.. Armenia, Colombia.
- Ganthavorn, C, Nagel C. y Powers, J.R. (1991). Thermal Inactivation Of Asparagus Lipoxigenase And Peroxidase. *Journal of Food Science* 56(1), 47-49.
- García, A.; Suthanthangjai, W.; Kajda, P.; Zabetakis, I. (2004). The effects of high hydrostatic pressure on galactosidase, peroxidase and polyphenol oxidase in red



- raspberry (*Rubus iaeus*) and strawberry (*Fragaria ananassa*). *Food Chemistry*. 88: 7-10.
- Gasull, E. y Becerra, D. (2006). Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). *Inf. Tecnol. scielo* 17: (6), 69-74.
 - Geels, T.P. (1991). The cultivation of mushrooms. L.Y.L.D. Van Griensven.
 - González-Aguilar, G. A.; Tiznado-Hernández, M. E.; Zavaletagatica, R.; M. T. M. A. (2004). Methyl Jasmonate treatment reduce chilling injury and activate the defense response of guava fruits. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 313(3): 704-711.
 - Goodwin, D.; Hertwig, K. (2003). Peroxidase catalyzed oxidation of capsaicinoids: steady state and transient state kinetic studies. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 417: 18-26.
 - Grupo Nikkol (2012). Origen climatológico de Chile manzano. Consultado en mayo 2012. Disponible en: <http://gruponikkol.es.tripod.com/gn/id2.html>
 - Guerra, F. (1996). Tecnología post-cosecha de frutos cítricos. Curso integral de citricultura. Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical. P. 242-257.
 - Guevara, J. C., Yahia, E. M., Brito de la Fuente, E., Biserka, S. P. (2003). Effects of elevated concentrations of CO₂ in modified atmospheres packaging on the quality of prickly pear cactus stems (*Opuntia spp.*). *Postharvest Biology and Technology*, 29: 167- 176.
 - Gunes, G.; Watkins, Ch. y Hotchkiss, J. (2000) Effects of irradiation on respiration and ethylene production of apple slices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1169-1175.
 - Hakim, S., Shabnam, Siddiqui, S.F and Nawaz, H. (1998). Studies on the activity of peroxidase in the crude extracts of sweet potato (*Ipomea batatus*), Cauliflower (*Brassica oleracea*), Soybean (*Glicine max*) and Sourlime (*Citrus amantifolia*). *Pakistan J. Biol. Sci.* 1(4): 309-312.
 - Halpin, B.E. y Lee, C.Y. (1984). Effect of Blanching on Enzyme Activity and Quality Changes in Green Peas. *Journal of Food Science* 52(4): 1002-1005.



- Hanson, K.R., E.A. (1979). An introduction to the enzymology of phenylpropanoid biosynthesis, p. 91-138. En: Swain, T., Harborne, J.B. y Sumere, C.F.(eds). The Biochemistry of plant Phenolics. Plenum Press, New York.
- Hardenburg, R.E. Watada, A.E. y C.Y. (1990). The comercial storage of fruits vegetables and florist and nursely stocks. Agricultural Handbook 66. USDA. Washington. 130 p.
- Heaton, J.W., Marangoni, A.G. (1996). Chlorophyll degradation in processed foods, and senescent plant tissues. Trends Foods Sci. Technol.
- Heimann, W. (1980). Fundamentals of food chemistry. AVI, Publishing Company. Conneticut, EUA, pp. 237-270.
- Hemeda HM, Klein BP (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Food Sci.* 55 (1):184-186.
- Hernández, S. (2008). Los biocatalizadores, enzimas y vitaminas Consultado en mayo 2013, Disponible en: <http://www.2bachillerato.es/biologia/tema5/p5.html>
- Imagen Agropecuaria (2013). Chile manzano en invernadero, ventajas productivas y de mercado. Consultado en junio 2013. Disponible en: http://imagenagropecuaria.com/2008/chile_manzano_en_invernaderoventajas_productivas
- INECC (2013). Composición química del nopal. Consultado en junio 2013. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/71/nverdura.html>
- INFOAGRO (2012). El cultivo del champiñón 1ra parte Consultado en junio 2012. Disponible en: <http://www.infoagro.com/forestales/champinyon.htm>
- INSP (2013). Los mexicanos han disminuido su consumo de frutas y hortalizas. Consultado en junio 2013. Disponible en: <http://www.insp.mx/noticias/nutricion-y-salud/2539-los-mexicanos->
- Instituto del Frío-ICTAN (2013), "Fisiología y Tecnologías Postcosecha". Consultado en junio 2013. Disponible en: <http://solucionespost-cosecha>.
- Jiménez, E. (1993). Utilización de la enzima lipoxigenasa y Peroxidasa como índice en el Blanqueado de espárragos verdes (*Asparagus officinalis L.*). Tesis



- para optar al título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Kader, A.A. y Mitcham, B. (1994). Optimum Procedures for Ripening Mangoes. *Perishables Handling Newsletter* Issue No. 80. P.16. Univ. of California.
 - Kader, A.A, y Mitcham, B. (1997). Optimum Procedures for Ripening Mangoes, *Perishables Handling Newsletter* 80-16. 535.
 - Kader, A. (2002). *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Publication 3311. División of Agriculture and Natural Resources. University of California. USA.
 - Kader, A.A. (ed.) (2013). *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (Universidad de California. Publ. 3311.
 - Kahn, V., Goldshmidt, S., Amir, J. y Grant, R. (1981). Some biochemical properties of soluble and bound potato tuber peroxidase. *J. Food Sci* 46: 756-764.
 - Ketsa, S.; Atantee, S. (1998). Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. *Postharvest Biology and Technology*. 14:117-124.
 - Kissinger, M., Tuvia-Alkalai, S., Shalom, Y., Fallik, E., Elkind, Y., Jenks, M.A., Goodwin, M.S. (2005). Characterization of physiological and biochemical factors associated with postharvest water loss in ripe pepper fruit during storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130(5):735-741.
 - Klabunde, T., Sharma, S., Telenti, A., Jacobs, W.R., Jr., and Sacchettini, J.C. (1998). Crystal structure of GyrA intein from, *Mycobacterium xenopi* reveals structural basis of protein splicing. *Nat. Struct. Biol.* 5: 31–36.
 - Knee, M. (2001). *Fruit quality and its biological basis*. Sheffield Academic Press Ltd. CRC Press Sheffield, UK.
 - Kotz J.C. y Treichel P.M. (2005). *Química y Reactividad química*. Cengage Learning / Thomson Internacional.
 - Krzysztof W, Márquez O, Pardo V. “Quantification and characterization of polyphenol oxidase from vanilla bean”. *Food Chem.* (2009). Nov 15; 117 (2): 196-203.



- Kumar, V.; Kishor, T.; Murugan, K. (2008). Purification and kinetic characterization of polyphenol oxidase from Barbados Cherry (*Malpighia glabra* L.). *Food Chemistry*. 110: 328-333.
- Laguado, N.; E. Rendiles, M. Marín, L. Arenas y C. Castro. (1999). Growth of guava fruits “*Psidium guajava* L” of Red criolla type. Stage I. *Rev. Fac.Agron.* 16 (1): 30-35.
- Lamikanra, O; Watson, M. A. (2001) Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. *Journal of Food Science*, 66(9): 1283-1286.
- Lance C. y Moreau F. (1992). Les effets métaboliques du froid. En: *Les végétaux et le froid. Ed D Côme. Edit Hermann*, 2: 27-50.
- Laurila, E.; Kervinen, R.; Ahvenainen, R. (1998). The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits. *Postharvest news and information*, 9(4): 53-66.
- Lebeda, A.; Kirstkova, E.; Dolezal, K. (1999). Peroxidase isozyme polymorphism in *cucurbita pepo* cultivars with various morphotypes and different level of field resistance to powderymildew. *Scientia Horticulturae*. 81: 103-112.
- Lee, C. Y. (1992) Phenolic compounds. En: Y. H. Hui: *Encyclopedia of Food Science and Technology*. A Wiley Interscience Publication: 2055-2061.
- Lee, C. Y. (1995) Phenolic compounds. En: Y. H. Hui: *Encyclopedia of Food Science and Technology*. A Wiley Interscience Publication: 2055-2061.
- Lee, M.; Lee, M.; Park, I. (2007). Inhibitory effect of onion extract on polyphenol oxidase and enzymatic browning of taro (*Colocasia antiquorum* var. *esculenta*). *Food Chemistry*. 105: 528-532.
- López-Munguía, A. (1987). *Tecnología Enzimática*. UNAM. México.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L y Randall, R.J. (1963). Protein measurement whit the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, 193: 265-275.



- Lurie, S.; Fallik, E.; Handros, A.; Aspira, R. (1997). The possible involvement of peroxidase in resistance to *Botrytis cinerea* in heat treated tomato fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 50: 141-149.
- Macrae, R.; Robinson, R.K.; Sadler, M.J. (1993). *Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*, Academic Press. Londres, R.U.
- McEvily, A. J.; Iyengar, R.; Otwell, W. S. (1992) Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(3): 253-273.
- McGuire, R.G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27: 1254-1255.
- McKee Trudy. *Bioquímica*. Ed. McGraw- Hill. 3a. Edición (2003).
- Martínez- Jávega J.M., Cuquerella, J., Del Rio. M.A. y Navarro. P. (1997). "Estudios de tratamientos cuarentenarios mediante bajas temperaturas en frutos cítricos". *CYTED Proyecto XI*. 10, p:15-23. La Habana (Cuba).
- Martínez-Téllez, M.A., y Lafuente, M.T. (1997). Effect of High temperature conditioning on ethylene, Phenylalanine Ammonia-lyase, Peroxidase and Polyphenol oxidase Activities in Flavedo of chilled (*Fortune*) Mandarin. *Journal Plant Physiology*, 150: 674-678.
- Martínez-Flores, A.; Corrales-García, J.; Espinoza-Solares, T.; García-Gatica, P. y Villanueva-Verdusco, C. (2008). Cambios poscosecha del hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis* (D. C.) Corda). *Revista Chapingo*. Serie Horticultura.14(3):339-346.
- Martins, R.C., Silva, C.L.M. (2002). Modelling colour and chlorophyll losses of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). *International Journal of Refrigeration* 25:966-974.
- Mathews, C. K., van Holden, K. E. y Ahern, K.G. (2002). *Bioquímica*. 1a edición. Pearson Educación. S.A., Madrid, 420-429 p.
- Mayer, A. M. (1987) Polyphenol oxidases in plants: recent progress *Phytochemistry*, 26(1): 11-20.



- Mazliak, P. (1992). Les effets du froid sur les biomembranes. En: Come, D. (Ed.). Les végétaux et le froid. Hermann. Chap. 1:3-26.
- Mercado-Silva, E. y Cantwell, M. (1998). Quality Changes in jicama roots stored at chilling and nonchilling temperatures. *J. Food Qual.* 3: 211-221.
- Mika, A. y Luthje, S. (2003). Properties of guayacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. *Plants physiology*, 132: 1489-1498.
- Minguez-mosquera, Ma. y Hornero-Méndez, d. (1994). "Formation and Transformation of Pigments during the Fruit Ripening of "Capsicum annum Cv". "Bola ant! Agridulce". "I Agrie". *Food Chem.* 42, 38-44.
- Minolta. (1994). Caracterización Precisa del Color (Control del color desde la percepción sensorial a la instrumentación). E.537205. Alemania.
- Montalvo-González, E. (2009). Efecto del etileno exógeno sobre la desverdización del chile 'poblano' en poscosecha. *ChapingoSer. Hortíc* 15:(2), mayo/ago. 2009.
- Montes, N.L. (2001). Desarrollo de algoritmos de segmentación de frutos maduros y verdes de café en imágenes tomadas en condiciones controladas, basados en las propiedades de color. Trabajo de grado. Ingeniería Electrónica. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad Nacional de Colombia, Manizales. 44 p.
- Muñoz K, Bravo K, Zapata P, Londoño J. (2007). Caracterización preliminar de la enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: Implicaciones en su proceso de industrialización. *Scientia et Technica.* 33 (8): 161-164.
- Muy-Rangel D. Siller-Cepeda, Díaz-Pérez; Valdéz-Torres. (2004). Efecto de las condiciones de almacenamiento y el encerado en el estatus hídrico y la calidad poscosecha de pepino de mesa. *Revista Fitotécnica Mexicana.* (27) 2: 157-165.
- Narváez, C.E. (2002). Estudio de la maduración y evaluación de los daños por frío del fruto de uva camairona (*Pouruma cecropiifolia*) Químico. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Bogotá.
- Narváez-Cuenca, C.E. (2008). Extracción y medida de peroxidasa en pulpa de Arazá (*Eugeniastipitata* MC Vaugh). *Química Nova.* 31(8): 2047-2051.
- Nelson D.L. Cox M. M. (2009). *Lehninger Principles of Biochemistry* (5a ed.) W.H. Freeman Publisher, New York. ISBN-13: 978-0-7167-7108-1



- Nerd, A., Dumotier, M., Mizrahi, Y. (1997). Properties and postharvest behavior of the vegetable cactus *Nopalea cochenillifera*. *Postharvest Biology and Technology*. 10:135-143.
- Nevin-Ridley (2009). Enzyme Structures Data base. Londres. Consultada en Agosto 11 de 2011. Disponible en: <http://www.ebi.ac.uk/thorntonsrv/databases/enzymes/> .
- Nicolas, J. J.; Richard-Forget, F. C.; Goupy, P. M.; Amiot, M. J.; Aubert, S. Y. (1994) Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(2): 109-157.
- Padiglia, A.; Cruciani, E.; Pazzaglia, G.; Medda, R.; Floris, G. (1995). Purification and characterization of *Opuntia* peroxidase. *Phytochemistry*. 38: 295-297.
- Páez Ramírez, J. M. (2003). “Efecto de la temperatura y estado de madurez sobre la calidad poscosecha de la fruta de guayaba (*Psidium guajava* L.) procedente de MERCABAR, estado Lara, Venezuela” consultado en junio 2013. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg09009>
- Pantastico, E. B. (1979). Fisiología, postcosección, manejo y utilización de hortalizas y frutos tropicales y subtropicales. 2ª. ed. Continental, México. pp. 29-50
- Parikh, H.R. , Nair G.M. and Modi, V.V. 1990. Some Structural Changes during Ripening of Mangoes (*Mangifera indica* var. Alphonso) by *Abscisic Acid*. *Treatment. Annals of Botany* 65:121-127.
- Payala Mayo (2013). Aislamiento y purificación Consultado en octubre 2013. Disponible en: <http://payala.mayo.uson.mx/Programa/Aislamiento>
- Pérez, M.; L. Laskowski, J. Zambrano y H. Piña. (1997). Comportamiento Postcosecha de frutos de piña (*Ananás comosus* L. Merr) tratados con retardantes de la maduración almacenados a diferentes temperaturas. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 14: 393-398.
- Pérez-Tello GO, Briceño TB, Vargas I, Martínez-Téllez MA (2001) Carbohydrates and chilling injury in carambola (*Averrhoa carambola* L.) and mamey (*Pouteria sapota*) fruit stored under refrigeration. *Proc. Interam. Soc. Trop. Hort.* 44: 60-63.
- Pino, J., González, M., Ceballos, L., Centurión-Yah., Trujillo, A. J., Latounerie-Moreno L., Sauri, D.E. (2007). Characterization of total capsaicinoids, colour and



- volatile compounds of Habanero chilli pepper (*Capsicum chinense* Jack), Cultivars grown in yucatan. *Food Chemistry* 104: 1682-1686.
- Ponce de León, L. y M.E. Bózquez (1997). “Técnicas de almacenamiento manejo postcosecha del mango” EMEX, México.
 - Porcelli, M.; Cacciapuoti, G.; Fusco, S.; Massa, R.; d’Ambrosio, G.; Bertoldo, C.; De Rosa, M.; Zappia, V. (1997) Nonthermal effects of microwaves on proteins: thermophilic enzymes as model system. *FEBS Letter*, 402: 102-106.
 - PRMOBNET (2012). Champiñón, consultado en mayo 2012, Disponible en: <http://es.prmob.net/hongo/shiitake/india-2550912.html>
 - Postcosecha (2013). Daños por frío en poscosecha, los porqués, las consecuencias y las posibles soluciones. Consultado en septiembre 2013. Disponible en: http://www.poscosecha.com/es/noticias/danos-por-frio-en-poscosecha-los-porques-las-consecuencias-y-las-posibles-soluciones/_id:79293/
 - Phunchaisri, C., y Apichartsrangkoon, A. (2005). Effects of ultra-high pressure on biochemical and physical modification of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). *Food Chemistry*, 93, 57–64.
 - Queiroz, C., Lopez, M.L.M., Fialho, E. y Valente-Mesquita, V.L. (2008). Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Reviews International*, 24: 361-375.
 - Ramirez, E.C. & whitaker, J.R. (2003). Polyphenol Oxidase. En: J. R. Whitaker, A.G. J. Voragen & D.W.S. Wong (eds.). *Handbook of Food Enzymology*. Marcel Dekker Inc., New York.
 - Ramírez-Villatoro, G. (2005). Efecto de bajas temperaturas sobre aspectos fisiológicos y bioquímicos relacionados con los síntomas de daños por frío en mango. Tesis de Ingeniera en Alimentos. UNAM, México.
 - Raoult-Wack, A. L. (1994) Recent advances in the osmotic dehydration of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 5(8): 255-260.
 - Ravindra, M.R.; Goswami, T.K. (2008). Modelling the respiration rate of green mature mango under aerobic conditions. *Biosystem Engineering*. 99: 239-248.



- Red Escolar Nacional (2013). Propiedades de los fenoles. Consultado en septiembre 2013. Disponible en:
<http://www.rena.edu.ve/cuartaEtapa/quimica/Tema10.html>
- Richard-Forget, F.C., Gauillard, F. A. (1997) Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4- methylcatechol in model solutions by combinations of pear polyphenol oxidase and peroxidase: a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2472-2476.
- Risse, L. y D. Chun. (1987). Influence of various conditioning times and temperatures and intermittent warming on chilling injury and decay of nonwrapped and film wrapped peppers. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 100:29-32.
- Ritchey, F.J. (2005): *Estadística para las Ciencias Sociales*. Mc Graw Hill. México.
- Rivero, R; Ruiz, M.; Garola, P.; Lopez-Lefebre, L.; Sánchez, E, Romero, L. (2001). Resistente to could ald heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*. 160: 315-321.
- Rivera, A.; Restrepo, P.; Narvaez, C. (2004). Polifenoloxidasas y peroxidasa de pupa de uva caimaronas (*Pourouma cecropiifolia*). *Revista Colombiana de Química*. 33: 57-66.
- Robards, K.; Prenzler, P. D.; Tucker, G.; Swatsitand, P.; Glover, G. (1999) Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.
- Robinson, D. S. (1991) Peroxidases and their significance in fruits and vegetables. En P. F. Fox (Ed) *Food Enzymology*, Elsevier, London, 371-476.
- Rodríguez-Félix, A. y Soto, V.H. (1997). Quality changes of diced nopal during storage in polyethylene bags. 3rd. Annual Texas Prickly Pear Council. *Proceedings*. Kingsville, Texas.
- Rodríguez, S. del C.; Qüesta, A. G. (2008). Evaluación sensorial de vegetales frescos y mínimamente procesados. Icyta-faya-universidad nacional de Santiago del estero. av. belgrano (s) 1912. Santiago del estero-argentina.
- Rotondo, R.; I. Firpo; F. Drioncovich; J. Ferrato ; G. Polenta. (2007). Efecto de la temperatura y distintos envases sobre la calidad de pimiento (*Capsicum annum* L.)



- sólo o mezclado con cebolla de verdeo "*Allium schoenoprasum* L" mínimamente procesados. *Revista ITEA*. 103(2):95-103.
- Sáenz C. (2006). Utilización agroindustrial del nopal, boletín de servicios agrícolas de la FAO Consultado en junio 2013. Disponible en : <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0534s/a0534s00.pdf>
 - SAGARPA-SIACON (2010). Producción agrícola a nivel nacional de frutas y hortalizas. Consultado en enero de 2010. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>
 - SAGARPA (2012a). Variedades de la guayaba. Consulta junio 2012. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>
 - SAGARPA (2012b). Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Consultado en junio 2012. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Paginas/default.aspx>
 - Selectividad.net (2013). Biología: Enzimas. Consultado en octubre 2013, Disponible:http://www.selectividad.net/cem/apuntesexámenes/apuntes/biologia/enzimas_y_vitaminas.pdf
 - SEMARNAT (2012). Producción de hongos. Consultado en mayo del 2012. Disponible en <http://www.semarnat.gob.mx/Pages/Inicio.aspx>
 - Serrano, M., Martínez-Madrid, M.C., Pretel, M.T., Riquelme, F y Romojaro. F. (1997). Modified atmosphere packaging minimizes increases in putrescine and abscisic acid levels caused by Chilling injury in pepper fruit. *J. Agric. Food Chem.* 5: 1668-1672.
 - Shewfelt R. L, B A Del Rosario (2000) The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. *HortScience* 35:575-579.
 - SIAP-SAGARPA (2012). Producción de guayaba. Consulta mayo 2012. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/index.php>.
 - SIAP (2012). Servicio de información agropecuaria. Consulta julio 2012. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>
 - Simón, A. y A Cerrolaza (1996). Efecto del lavado sobre la conservación del champiñón (*Agaricus bisporus*) para comercializar en fresco. IV Simposio Nacional y Ibérico sobre Maduración y postrecolección de frutos y hortalizas. Valencia.



- Soko (2013). Enzimas. Consultado en junio 2013, Disponible en: <http://soko.com.ar/Biologia/Enzimas.htm>.
- Soliva-Fortuny RC, Elez-Martínez P, Sebastián-Calderó M, Martín-Belloso O. (2002). Kinetics of polyphenol oxidase activity inhibition and browning of avocado purée by combined methods. *Journal of Food Engineering*, 55(2), 131-137. ISSN: 0260-8774
- Somasundaram R. Mysore N. S y S. R. (2003) Biochemical changes associated with mushroom browning in *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach and *Pleurotus florida* (Block & Tsao): commercial implications. *J Sci Food Agric.*, (83) 1531-1537.
- Stauffer, C. E. (1989) Enzyme assays for food scientists. ISBN 0-442-20765-4:317.
- Tano, K. Arul, J. Doyon, G. y Castaigne, F. (1999). Atmospheric Composition and Quality of Fresh Mushrooms in Modified Atmosphere Packages. *Journal of Food Science* (64). pp. 1073- 1077.
- Teorema Ambiental (2012). Cultivo de chile manzano. Consultado en mayo 2012. Disponible en: <http://www.teorema.com.mx/cienciaytecnologia/cultivo-de-chile-manzano-en-zonas-altas/>
- Tomás-Barberán, F. A.; 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.
- Torres, R.; Valentines, M.; Usall, J.; Vinas, I.; Larriguadiere, C. (2003). Possible involvement of hydrogen peroxide in the development of resistance mechanism in Golden Delicious apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 27: 235-242.
- Trejo-Márquez, M.A., Ramírez-Villatoro, G. y Camacho de la Rosa, N.A. (2010). Polyphenol oxidase and peroxidase activities in mangoes stored at chilling temperature. *Acta Horticulturae* 864:395-402.
- Tülin Aydemir. Demet K y Seda C (2003). Isolation and Characterization of Polyphenoloxidase from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*). *Journal of Food Science*. 43:115-125.



- UACH (2012). Variedades del chile manzano. Consultado en junio 2012. Disponible en: <http://www.teorema.com.mx/cienciaytecnologia/cultivo-de-chile-manzano-en-zonas-altas/>
- UAM-Xochimilco (2013), Trabajo comparativo de la producción y factores limitantes del nopal. Citado en junio 2013. Disponible en: <http://homero.galeon.com/nopal.htm>
- Universidad de Chile (2013). Definición de la peroxidasa en sistemas de servicios de información y Bibliotecas, SISIB. Consultado en octubre 2013, Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/sch_midth02/parte08/02.html
- UNIVERSO. (2013). Composición química del champiñón. Consultado en junio 2013. Disponible en: <http://www.uv.mx/universo/174/investigacion/invest03.htm>
- Universidad de California (2013). Postharvest Technology of Horticultural Crops. Consultado en Mayo 2013. Disponible en: http://postharvest.ucdavis.edu/bookstore/Postharvest_Technology_of_Horticultural_Crops/
- Vámos-Vigyázó, L. (1981) Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 9: 49-127.
- Varoquaux, P.; Mazollier, J.; Albagnac, G. (1996) The influence of raw material characteristics on the storage life of fresh-cut butter head lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 127-139
- Vignoni, Lucia A. (2006). Determinacion de indice de color en ajo picado. *SciELO* 17(6): 63-67.
- Villaescusa, R. y Gil, M. (2003). Quality improvement of pleurotus mushrooms by modified atmosphere packaging and moisture absorbers. *Postharvest Biology and Technology*. 28:169-179.
- Wang, C.Y. (1990). Chilling Injury of Horticultural Crops. *Hortscience*.29:986-988.
- Wesche-Ebeling P. y Montgomery M. (1990). Strawberry Polyphenoloxidase: Extraction and Partial Characterization. *Journal of Food Science*. 55:1320-1351.



- Wikipedia (2013). Composición química del chile manzano. Consultado en junio 2013. Disponible en : [http://es.wikipedia.org/wiki/Chile_\(pimiento\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Chile_(pimiento))
- Wills, R., B.; MC Glasson, D.;r Graham Y D. Joyce. (1998). Introducción a la Fisiología y Manipulación Postcosecha de Frutas, Hortalizas y Plantas Ornamentales. 2ª ed. . Acribia, España.
- Wills, R.; McGlasson, B.; Graham, D. y Joyce, D. (1999) Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Acribia, Zaragoza.
- Wiley, R. C. (1994). Preservation methods for minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En: Wiley R C. (Ed.), Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables, Chapman & Hall, New York, USA.
- Yoruk, R. y Marshall, M.R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase; a review *Journal of Food Biochemistry*, 27: 361-422.
- Yousef, A. E. (1996) Pulsed light and pulsed electric fields for cold-pasteurization of foods. Presented at the Annual Meeting of the Food Research Institute, University of Wisconsin, Madison, May 30.
- Yves Tirilly (2002). Tecnología de Las Hortalizas. Acribia Zaragoza.
- Zauberman, G., R. Ronen, M. Akerman, A. Weksler, I. Rot and Y. Fuchs. (1991). Post-harvest retention of the red colour of litchi fruit pericarp. *Scientia Horticulturae* 47, 89-97.
- Zhon H.: Feng X. (1991). Polyphenoloxidase from yali pear (*Pyrus bretschneideri*). *Journal of Food Science*. 57:307-31.