



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

---

---

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
DESARROLLO RURAL**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR FRÍO  
EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**

**P R E S E N T A:**

**M.C. OLIVER MONARRES CUEVAS**

**CODIRECTORES DE TESIS:**

**Dr. Irán Alia Tejacal**

**y Dra. Gloria Alicia Pérez Arias**



**Cuernavaca, Morelos, diciembre de 2021**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR  
FRÍO EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae**

**Tesis realizada por Oliver Monarres Cuevas, bajo la dirección del comité revisor  
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado  
de:**

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL  
COMITÉ REVISOR**

---

**Director de tesis: Dr. Irán Alia Tejacal**

---

**Dra. Gloria Alicia Pérez Arias**

---

**Dr. Víctor López Martínez**

---

**Dr. Dagoberto Guillén Sánchez**

---

**Dr. Porfirio Juárez López**

---

**Dr. Manuel de Jesús Sainz Aispuro**

---

**Dr. Salvador Valle Guadarrama**

---

**Dra. Lizette Liliana Rodríguez Verástegui**

**Cuernavaca, Morelos, diciembre de 2021.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo otorgado (no. 295325) y a SADER-CONACyT por destinar los fondos necesarios para este proyecto (2015-04-266891).

A mi director de tesis el Dr. Irán Alia Tejacal por confiar en mi para trabajar en conjunto desde la licenciatura hasta el doctorado. Le agradezco su asesoría, paciencia y disposición para concluir con este proyecto.

A mi codirector y al comité revisor por la atención y el seguimiento otorgado para concluir con los trabajos de investigación.

A mis asesores externos de la Universidad Autónoma de Chapingo, el Dr. Salvador Valle Guadarrama; y de la Universidad Autónoma Metropolitana, la Dra. Lizette Liliana Rodríguez Verástegui por sus atenciones y la asesoría durante los experimentos.

A mis padres y hermano que siempre están conmigo en todo momento para realizar mis proyectos de vida.

A mi abuelito Francisco Cuevas Ocampo y a mi tío Francisco Cuevas Arteaga por ser parte fundamental de mi desarrollo laboral, familiar y humano. Estaré siempre agradecido con ellos y trataré de seguir su ejemplo para apoyar a la familia.

A mis amigos, a mis cuñadas, y a mis suegros, por creer en mí.

Y principalmente a la pieza fundamental en esta aventura, a mi esposa Diana Andrea Solórzano Morán por estar siempre a mi lado para ser el mejor equipo, para salir adelante acompañados de mis hermosas hijas, Valeria Monarres Solórzano y Sofía Monarres Solórzano que me brindan todo el amor y cariño para luchar cada día.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
RESUMEN GENERAL .....	vi
ABSTRACT .....	vii
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	viii
OBJETIVO GENERAL .....	ix
CAPÍTULO I .....	1
RESUMEN .....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
OBJETIVO .....	3
HIPÓTESIS .....	3
MATERIALES Y MÉTODOS .....	4
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	10
CONCLUSIÓN.....	22
LITERATURA CITADA .....	23
CAPÍTULO II.....	28
RESUMEN .....	28
ABSTRACT.....	29
INTRODUCCIÓN .....	30
MATERIALES Y MÉTODOS .....	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	38
CONCLUSIÓN.....	49
LITERATURA CITADA .....	50
CAPÍTULO III .....	56
RESUMEN .....	56
ABSTRACT.....	57
INTRODUCCIÓN .....	58
MATERIALES Y MÉTODOS .....	60
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	65
CONCLUSIÓN.....	77
CONCLUSIONES GENERALES .....	77
LITERATURA CITADA .....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1. Apariencia de frutos de guanábana al ambiente.....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 2. Apariencia de frutos de guanábana en refrigeración .....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 3. Cambios en respiración, producción de etileno, fuga de electrolitos y parámetros de color: luminosidad, cromaticidad y matiz .....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 4. Cambios en firmeza, sólidos solubles totales, acidez titulable, fenoles totales, flavonoides y vitamina C.....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 5. Actividad antioxidante DPPH, ABTS, y FRAP.....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 4. Proteína soluble, catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa, polifenoloxidasas y pérdida de peso .....</b>	<b>22</b>

### CAPÍTULO II

<b>Figura 1. Apariencia de frutos de chirimoya .....</b>	<b>40</b>
<b>Figura 2. Cambios en respiración, producción de etileno, pérdida de peso y parámetros de color.....</b>	<b>41</b>
<b>Figura 3. Firmeza, Sólidos solubles totales, acidez titulable, fenoles, flavonoides y vitamina C .....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 4. Actividad antioxidante DPPH, ABTS y FRAP.....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 5. Proteína soluble, catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa, polifenoloxidasas, fuga de electrolitos .....</b>	<b>49</b>

### CAPÍTULO III

<b>Figura 1. Apariencia de frutos de saramuyo.....</b>	<b>67</b>
<b>Figura 2. Cambios en respiración, producción de etileno, pérdida de peso y parámetros de color.....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 3. Cambios en firmeza, sólidos solubles totales, acidez titulable, fenoles totales y vitamina C .....</b>	<b>71</b>
<b>Figura 4. Actividad antioxidante DPPH, ABTS, y FRAP.....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 5. Proteína soluble, catalasa, superóxido dismutasa, polifenoloxidasas y peroxidasa .....</b>	<b>76</b>

## RESUMEN GENERAL

El género *Annona* es el más importante en la familia de las Annonaceae. Tres de las siete especies (guanábana *A. muricata*, chirimoya *A. cherimola* Mill. y saramuyo *Annona squamosa* L.) que son producidas comercialmente, son apreciadas por un número creciente de consumidores en todo el mundo, debido a sus características tanto organolépticas como nutricionales; sin embargo, son frutos altamente perecederos y susceptibles a los daños por frío debido a las bajas temperaturas. Es necesario desarrollar tecnologías y manejo poscosecha de los frutos, para extender su vida poscosecha y conocer la respuesta de sus parámetros físicos, químicos y fisiológicos cuando son sometidos a temperaturas menores de 20 °C. Se almacenaron frutos de guanábana, chirimoya y saramuyo a bajas temperaturas (4 – 18 °C) y se maduraron a temperatura ambiente (22 - 26 °C). Después de refrigerar los frutos de guanábana y chirimoya a temperaturas de 9 y 4 °C se observó una menor respiración, poco cambio en los parámetros de color, se incrementó la actividad antioxidante, y el metabolismo de la vitamina C fue retrasado; estas variables están relacionadas con la sintomatología de los daños por frío. Mientras que, en los tratamientos de 14 y 11 °C los frutos maduraron normalmente sin afectar negativamente la mayoría de sus variables. En los frutos de saramuyo, la respiración, la producción de etileno, el contenido de fenoles y de la actividad de peroxidasa se incrementaron en ambas temperaturas (18 y 7 °C). En los frutos refrigerados a 7 °C, los parámetros de color fueron similares a los frutos testigo; mientras que, en los frutos refrigerados a 18 °C, se observaron cambios en los parámetros de color, al pasar de un verde amarillento a colores entre naranja y rojo con baja luminosidad y cromaticidad, característica relacionada más con la senescencia de los frutos que de daños por frío. Los frutos de saramuyo, específicamente los frutos provenientes de la península de Yucatán, es necesario evaluarlos a temperaturas más bajas con el fin de conocer los mecanismos inductores del daño por frío, y poder establecer las temperaturas y tiempos óptimos para su conservación.

**PALABRAS CLAVE:** respiración, producción de etileno, vitamina C, contenido de fenoles, color.

## ABSTRACT

The genus *Annona* is the most important in the family of the Annonaceae. Three of the seven species (soursop *A. muricata*, cherimoya *A. cherimola* Mill. and sugar apple *A. squamosa* L.) that are commercially produced, are appreciated by a growing number of consumers around the world due to their organoleptic and nutritional characteristics; however, they are highly perishable fruits and susceptible to chilling injury due to low temperatures. It is necessary to develop technologies and post-harvest handling of the fruits, to extend their post-harvest life and to know the response of their physical, chemical and physiological parameters when they are subjected to temperatures below 20 °C. Soursop, cherimoya and sugar apple fruits were stored at low temperatures (4 - 18 °C) and matured at room temperature (22 -26 °C). After refrigerating the soursop and cherimoya fruits at temperatures of 9 and 4 °C, less respiration was observed, little change in color parameters, antioxidant activity increased, and vitamin C metabolism was delayed. Variables related to the symptoms of chilling injury. Whereas the fruits exposed to 14 and 11 °C the fruits matured normally without negatively affecting most of its variables. In sugar apple fruits, respiration, ethylene production, phenols content and peroxidase activity increased at both temperatures (18 and 7 °C). In the fruits refrigerated at 7 °C, the color parameters were like the control fruits; while, in the fruits refrigerated at 18 °C, changes in the color parameters were observed, when going from a yellowish green to colors between orange and red with low luminosity and chromaticity, a characteristic related more to the senescence of the fruits than to damage by cold. The sugar apple fruits, specifically the fruits from the Yucatan peninsula, it is necessary to evaluate them at lower temperatures in order to know the mechanisms that induce chilling injury, and to be able to establish the optimum temperatures and times for their conservation.

**KEY WORDS:** respiration, ethylene production, vitamin C, phenols content, color.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La familia Annonaceae la conforman más de 130 géneros y alrededor de 2300 especies. El género *Annona* es el más importante en la familia con alrededor de 100 especies. Sólo siete especies y un híbrido son producidos comercialmente. Todas son nativas de los trópicos del continente americano. Entre las especies de mayor importancia económica son: *A. muricata* L. soursop (inglés); guanábana, catoche (español); fruta de conde, graviola (portugués, Brasil); corossol épineux (francés). *A. cherimola* Mill. cherimoya (inglés); chirimoya (español); cherimolier (francés). Finalmente, la *Annona squamosa* L. como: sweetsop, sugar apple, custard apple (inglés); saramuyo y azteca (español, México); ata, pinha o fruta do conde (portugués, Brasil), attire (francés) (Agustín y Ledesma, 2014; Pareek et al., 2011).

Sus hojas son alternas, simples y enteras, y las flores pueden ser solitarias o en racimos, con dos series de tres pétalos gruesos y carnosos. Los frutos de la guanábana son ovoides, de 15 a 30 cm de largo y de 10 a 20 cm de ancho, con un peso promedio de 4.5 kg, de epidermis con protuberancias de los carpelos, el color de la epidermis es verde oscuro en madurez fisiológica que cambia a verde claro durante su maduración (Jiménez et al., 2014). Los frutos de la chirimoya y del saramuyo son normalmente en forma de corazón, cónicos u ovalados, de 7.5 a 12.5 cm de largo, y un peso promedio de 0.2 a 0.7 kg; y de 10 a 12 cm de largo y un peso promedio de 0.1 a 1.0 kg, respectivamente; el color de la epidermis es verde oscuro a verde claro en madurez fisiológica que cambia a verde-amarillento durante su maduración (Pinto et al., 2005).

Las *Annonas* son clasificadas como climatéricas, caracterizadas por una alta respiración y producción de etileno. Su rápido ablandamiento es el principal problema para su comercialización (Pareek et al., 2011). El almacenamiento a bajas temperaturas es una posible solución a este problema; sin embargo, los frutos de origen tropical y algunos subtropicales son susceptibles a bajas temperaturas de almacenamiento, las cuales causan una condición de estrés definida como daño por frío. Este desorden fisiológico no solo afecta la apariencia (por ejemplo: cambios en la textura de la pulpa, picado, oscurecimiento, etc), sino también una serie de diferentes atributos de calidad (Castillo et al., 2005; Badrie and Schauss, 2010; Espinosa et al., 2013; Jiménez et al., 2017). Sin embargo, su efecto sobre ciertas moléculas (por ejemplo: ácido ascórbico, un compuesto



esencial en los tejidos de plantas y animales) o en las capacidades antioxidantes generales, no se ha estudiado adecuadamente.

Se ha estudiado en frutos de guanábana que la temperatura óptima para su conservación en estados avanzado de maduración es de 12-14 °C (Castillo *et al.*, 2005). Mientras que el rango de temperatura en frutos de chirimoya es mayor de 8-15 °C dependiendo del cultivar (Pareek *et al.*, 2011). Finalmente, en frutos de saramuyo recomiendan almacenar a temperaturas más altas entre 15-20 °C dependiendo de la variedad, con el máximo almacenamiento a 15 °C por 9 días (Vishnu *et al.*, 2000). Estos autores indican que bajo estas condiciones de almacenamiento a baja temperatura no se provoca ningún síntoma de daño por frío.

### **OBJETIVO GENERAL**

El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos después de almacenar los frutos a temperaturas subóptimas con la esperanza de identificar futuros cambios (diferentes a los síntomas visuales) asociados con el daño por frío.

### **LITERATURA CITADA**

- Andrés Agustín J, Segura Ledesma S. 2014. Conservación y uso de los recursos genéticos de Annonaceae en México. *Rev. Bras. Frutic.* 36:118–124. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500014>.
- Badrie, N and Schauss A.G. (2010) Soursop (*Annona muricata* L.): composition, nutritional value, medicinal uses, and toxicology. In *Bioactive foods in promoting health: fruits and vegetables*, R. Watson and V. Preedy, eds. (London, UK: Elsevier-Academic Press) p. 621-643.
- Castillo, Á.D., Varela, H.G., Pérez, S.B.R. and Pelayo, Z.C. (2005). Daños por frío en guanábana. Índice de corte y tratamientos poscosecha. *Rev. Chapingo S. Hortic.* 11(1), 51-57 <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2003.08.049>
- Espinosa, I., Ortiz, R. I., Tovar, B., Mata, M. and Montalvo, E. (2013). Physiological and physicochemical behavior of soursop fruits refrigerated with 1-methylcyclopropene. *J. Food Qual.* 36, 10-20 <https://doi.org/10.1111/jfq.12011>

- Jiménez, V. M., M. Gruschwitz, R. M. Schweingert, R. Carle, and P. Esquivel. 2014. Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection. *Food Res. Int.* 65: 42-46.
- Jiménez Z.J.O., Balois, M.R., Alia, T.I., Juárez, L.P., Jiménez, R.E.I. and Bello, L.J.E. (2017). Cold Storage of two selections of soursop (*Annona muricata* L.) in Nayarit, Mexico. *J. Food Qual.*, ID 4517469: 1-10 <https://doi.org/10.1155/2017/4517469>
- Pareek, S., Yahia, E. M., Pareek, O. P., & Kaushik, R. A. 2011. Postharvest physiology and technology of Annona fruits. *Food Res. Int.* 44(7), 1741–1751.
- Pinto, de Q.A.C., Cordeiro R. M.C., Andrade M.S.R., Ferreira R.F., Filgueiras C.H.A., Alves, E.R. and Kinpara, I.D. (2005). *Annona* species. (University of Southampton, UK. International Centre for Underutilised Crops).
- Vishnu Prasanna, K. N., Sudhakar Rao, D. V., & Krishnamurthy, S. 2000. Effect of storage temperature on ripening and quality of custard apple (*Annona squamosa* L.) fruits. *J. Hort. Science Biotech.*, 75(5), 546–550.

## CAPÍTULO I

### **Evaluación de temperaturas subóptimas en la maduración de guanábana (*Annona muricata* L.)**

#### **RESUMEN**

La guanábana es un fruto altamente apreciado debido a su excelente sabor y con gran potencial para su comercialización en fresco o industrializado. Es un fruto altamente perecedero, de origen tropical que se puede almacenar entre 16 y 18 °C sin sufrir daños por frío. Sin embargo, para desarrollar tecnologías y manejo poscosecha del fruto, es necesario conocer la respuesta de la mayoría de los parámetros físicos, químicos y fisiológicos cuando son sometidos a temperaturas menores de 15 °C. Por lo que se almacenaron frutos de guanábana a 9 y 14 °C por 4 o 8 días y se maduraron a temperatura ambiente (25 °C). La respiración y producción de etileno fue significativamente reducida cuando los frutos fueron almacenados a 9 °C, con mayor evidencia previo almacenamiento por 8 días. La fuga de electrolitos aumentó durante la maduración de los frutos de guanábana, pero en los frutos almacenados a 9 °C este comportamiento fue reducido significativamente. Los parámetros de color de los frutos almacenados a 9 °C, mostró poco cambio una vez transferidos a temperatura ambiente. Los frutos testigo perdieron rápidamente la firmeza de la pulpa, no así los frutos almacenados a 9 °C donde la firmeza se mantuvo mayor a 9 N durante su maduración. No se detectaron diferencias en el contenido de sólidos solubles, ya que en todos los frutos se alcanzó más de 13 °Brix. La acidez titulable, los fenoles totales, flavonoides y vitamina C se incrementaron durante la maduración de los frutos testigo, pero cuando se almacenaron a 9 °C se observó una menor acumulación de estas variables, sobre todo cuando se almacenaron por 8 d. Los frutos de guanábana almacenados a 14 °C mostraron un comportamiento similar a los frutos testigo en todas las variables y con un avance en la maduración.

**PALABRAS CLAVE:** fenoles, flavonoides, vitamina C, respiración, etileno.

## **ABSTRACT**

Soursop is a highly appreciated fruit due to its excellent flavor and great potential for commercialization fresh or industrialized. It is a highly perishable fruit, of tropical origin that can be stored between 16 and 18 °C without suffering cold damage. However, to develop technologies and postharvest handling of the fruit, it is necessary to know the response of most of the physical, chemical, and physiological parameters when they are subjected to temperatures below 15 °C. Therefore, soursop fruits were stored at 9 and 14 °C for 4 or 8 days and matured at room temperature (25 °C). Respiration and ethylene production was significantly reduced when the fruits were stored at 9 °C, with more evidence after storage for 8 days. Electrolyte leakage increased during the ripening of the soursop fruits, but in the fruits stored at 9 °C this behavior was significantly reduced. The color parameters of the fruits stored at 9 °C showed minor change once transferred to room temperature. The control fruits quickly lost the firmness of the pulp, but not the fruits stored at 9 °C where the firmness remained greater than 9 N during their maturation. No differences were detected in the soluble solids content, since more than 13 °Brix was reached in all the fruits. Titratable acidity, total phenols, flavonoids, and vitamin C increased during the maturation of the control fruits, but when they were stored at 9 °C, a lower accumulation of these variables was observed, especially when they were stored for 8 d. The soursop fruits stored at 14 °C showed a similar behavior to the control fruits in all variables and with advanced maturation.

**KEY WORDS:** phenols, flavonoids, vitamin C, respiration, ethylene production.

## **INTRODUCCIÓN**

La guanábana es originaria de América y África tropical y se distribuye desde México hasta Perú y Argentina. Es un frutal tropical que produce frutos de pulpa cremosa y excelente sabor cuando llega a su madurez de consumo (Márquez et al., 2013). Este frutal posee características sensoriales excelsas que le brindan un alto potencial para su utilización, cómo producto fresco o transformado (Pinto et al., 2005). En México, durante 2019, se cultivó en aproximadamente 3612.54 ha, con un rendimiento promedio de 9.69 t ha<sup>-1</sup> y un valor de la producción total cercana a los 248.17 millones de pesos (SIAP, 2021). El periodo de vida poscosecha de la fruta a temperatura de 25 °C, es entre 4 y 8 días dependiendo el estado de madurez en el que se cosechó (Espinosa et al., 2013). Tovar-Gómez et al. (2011) indican que hasta 60 % de las pérdidas poscosecha son debido a la naturaleza perecedera, a la fragilidad y a los daños físicos de este fruto, ocasionando que la exportación de la guanábana se realice el día de cosecha y el transporte sea vía aérea a 13 °C, lo cual resulta costoso.

El manejo de la temperatura es la herramienta más efectiva para extender la vida útil de los productos hortícolas frescos (Botton et al., 2019). Sin embargo, las frutas de origen tropical son sensibles a las bajas temperaturas de almacenamiento, inferiores entre 10 y 15 °C, lo que provoca una condición de estrés definida como daño por frío, afectando la calidad del fruto (Badrie y Schauss, 2010). En guanábana, se recomienda que el almacenamiento seguro para frutos de color verde claro es entre 16 y 18 °C, o entre 12 y 14 °C si los frutos se encuentran entre firmes y cambiantes (Castillo et al., 2005). Jiménez et al. (2017) indican que el almacenamiento de frutos de guanábana entre 15 y 16 °C por 4 o 10 días no ocasiona daños por frío.

Sin embargo, son pocos los estudios en relación con parámetros físicos, químicos y fisiológicos que son afectados por este desorden fisiológico en guanábana, y que son necesario para realizar propuestas de manejo tecnológico y utilizar temperaturas menores de 16 °C que ayuden a incrementar la vida útil de este frutal tropical.

## **OBJETIVO**

Caracterizar los síntomas del daño por frío en frutos de guanábana, al evaluar la calidad y los cambios fisicoquímicos que ocurren cuando se almacenan por 4 y 8 d a 9 o 14 °C.

## **HIPÓTESIS**

Los frutos almacenados a 9 °C por 4 y 8 días presentarán síntomas de daños por frío.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron frutos de guanábana de árboles a pie franco con 10 años de edad, en una huerta ubicada en Tepic, Nayarit, México (21°32'2.77''N, 104°58'39.73''O, 893 m). Los frutos se colectaron en etapa de madurez fisiológica, utilizando el índice de cosecha del productor, que generalmente considera un cambio de color verde oscuro en la epidermis del fruto a un color verde pálido (Jiménez et al., 2016). Se seleccionaron frutos sin daños físicos o por patógenos. Los frutos se trasladaron vía terrestre al Laboratorio de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. El material vegetal se dejó ambientar a la temperatura del laboratorio, posteriormente se lavaron con agua clorada ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) y se dejaron secar sobre papel absorbente.

Se formaron cinco grupos de 15 frutos, de los cuales cuatro se almacenaron a  $9$  o  $14 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$   $85 \text{ \% HR}$  durante cuatro u ocho días; un grupo de frutos se almacenó a temperatura ambiente  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $60 \text{ \% HR}$  y se consideró como el grupo testigo. Los tratamientos fueron cinco y quedaron conformados de la siguiente manera: 1) Frutos almacenados a  $14 \text{ }^\circ\text{C}$  por 4 d ( $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$   $85 \text{ \% HR}$ ), 2) Frutos almacenados a  $9 \text{ }^\circ\text{C}$  por 4 d ( $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$   $85 \text{ \% HR}$ ), 3) Frutos almacenados a  $14 \text{ }^\circ\text{C}$  por 8 d ( $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$   $85 \text{ \% HR}$ ), 4) Frutos almacenados a  $9 \text{ }^\circ\text{C}$  por 8 d ( $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$   $85 \text{ \% HR}$ ) 5)  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $60 \text{ \% HR}$ .

Los frutos almacenados a temperatura baja y después de cumplir el tiempo de almacenamiento se colocaron a temperatura ambiente, realizando evaluaciones diarias o cada cuatro y dos días de algunos cambios físicos, fisiológicos y químicos. La unidad experimental fue un fruto con cinco repeticiones, el diseño experimental fue uno completamente al azar.

### Respiración y producción de etileno

La velocidad de respiración y producción de etileno se determinó por el método estático (Salveit, 2016), donde un fruto se colocó en un recipiente de 6,300 mL sellado durante 3 h, posteriormente se extrajo del espacio de cabeza 1 mL del gas, el cual se inyectó en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies® 7890A (USA) y se cuantificó la concentración de dichos gases. Las condiciones de temperatura del inyector, horno y detectores DCT (Detector de Conductividad Térmica) y DIF (Detector de Ionización de Flama) para la determinación de  $\text{CO}_2$  y etileno, respectivamente, fueron de 150, 80 y  $170 \text{ }^\circ\text{C}$ . Se utilizó nitrógeno como gas de arrastre. Para la cuantificación de la concentración de

gases en las muestras, se usó el método de calibración absoluta utilizando estándares (Praxair®) de CO<sub>2</sub> (460 mg L<sup>-1</sup>) y etileno (100 mg L<sup>-1</sup>).

#### Componentes del color (L\*, C\* y h)

El color se evaluó, en lados opuestos del fruto en la parte ecuatorial con un espectrofotómetro (X-rite, Mod. SP64, USA) que proporcionó lecturas de L\*= luminosidad (0: blanco, 100: negro); C\*= cromaticidad (del gris); h= ángulo matiz (0: rojo, 100: amarillo) (Solórzano et al., 2015).

#### Firmeza

La firmeza se determinó en cada fruto eliminando una parte del epicarpio en la zona ecuatorial, por medio de una estación de pruebas EZ Test modelo: SM-100N-168, con capacidad de 100 N, con un puntal cónico (4.7 mm de diámetro en la base) a una velocidad de 1 mm s<sup>-1</sup> con ayuda del Software Trapezium®.

#### Sólidos solubles totales

Los sólidos solubles totales se determinaron directamente del fruto, al realizar una incisión en la epidermis del fruto para obtener una gota de jugo de la pulpa, que se colocó en refractómetro (Atago PAL-1®, Japón) previamente calibrado con una gota de agua destilada. Los resultados se expresaron en °Brix.

#### Acidez titulable

La acidez titulable fue determinada por el método de AOAC (Helrich, 1990), el cual consistió en homogenizar 1 g de pulpa con 10 mL de agua destilada, el macerado fue filtrado y 5 mL de la alícuota del filtrado fueron tomados para realizar la titulación con hidróxido de sodio (0.1 NaOH) usando fenolftaleína como indicador; los resultados fueron expresados como porcentaje de ácido cítrico.

#### Fenoles totales

La concentración de fenoles totales se realizó conforme a la metodología de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Se homogenizó un gramo de pulpa con 10 mL de agua destilada con ayuda de un Ultra Turrax (IKA®, USA) y, posteriormente, se centrifugó a 1008 x g durante 15 min a 4 °C. Se tomó 0.5 mL del filtrado y se mezcló con 2.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10), después de 5 min, se adicionaron 2 mL de carbonato de sodio a 7.5% (p/v)

y la mezcla se dejó reposar durante 2 h; posteriormente se realizarán las lecturas en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®, USA) a 760 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (EAG)  $100\text{g}^{-1}$  de peso fresco.

#### Flavonoides

El total de flavonoides se determinaron usando la metodología de Arvouet- Grand et al., (1994). Se pesó 1 g de pulpa y se mezcló con 10 mL de metanol; la mezcla se homogenizó con un Ultra Turrax (IKA®, USA) y posteriormente se filtró. A partir del filtrado, se tomaron 2 mL de muestra y se mezclaron con 2 mL de tricloruro de aluminio a 2 % p/v; dejando reposar por 15 min en la oscuridad, se realizaron lecturas de absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®, USA). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina (EQ)  $100\text{g}^{-1}$  peso fresco.

#### Vitamina C

Para el contenido de vitamina C, se siguió la metodología propuesta por Jagota y Dani (1982). La cual es una técnica colorimétrica para estimación de vitamina C usando el reactivo Folin-Ciocalteu. Se pesó 1 g de muestra y se homogenizó con 4 mL de ácido tricloracético (TCA) al 10 % p/v. se colocaron en un baño de hielo durante 5 minutos, posteriormente se centrifugó a  $1008\text{ x g}$  durante 20 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Para realizar la reacción se utilizaron alícuotas de 0.5 mL del sobrenadante, con 1.5 mL de agua bidestilada y 200  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin, se dejó reaccionar en la oscuridad durante 15 min y se leyó la absorbancia a 760 nm. Para estimar el contenido de vitamina C se construyó una curva estándar con ácido ascórbico. La concentración total se expresó en mg por  $\text{g}^{-1}$  de peso fresco.

#### Actividad antioxidante por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP

Para la obtención de los extractos de muestra se pesó 1 g de pulpa y se homogenizó cada una con agua destilada (1:10) obteniendo las muestras para determinar las variables a estudiar.

Para el método DPPH (1,1 difenil-2-picrilhidrazil), se utilizó la metodología propuesta por Brand-Williams et al. (1995), con mínimas modificaciones, este método consistió en colocar una celda de cuarzo de 3 mL de una solución metanólica  $6,1 \times 10^{-5}\text{ M}$  (Sigma Aldrich®, USA) y se hicieron reaccionar con 100  $\mu\text{L}$  de solución muestra, la mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min y se leyó a 517 nm el cambio de absorbancia. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA)  $100\text{g}^{-1}$  de peso fresco.



Para la metodología por ABTS (ácido 1-2'-azinobis(3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico), se preparó el reactivo ABTS (Sigma-Aldrich®, USA) a 7 mM y persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) a 2.45 mM y se mezcló 1:1, se dejó reposar durante 16 h. Se diluyó con etanol 20% hasta alcanzar una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm. Se agregaron 3 mL de ABTS con 50  $\mu$ L de extracto y se dejó reaccionar durante 15 min; la absorbancia se leyó a 734 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA)  $100\text{ g}^{-1}$  peso fresco (Re et al., 1999).

La actividad antioxidante por reducción férrica (FRAP). Se realizó mediante la metodología desarrollada por Benzie y Strain (1996): se preparó el reactivo FRAP (TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina 10 mM),  $FeCl_3$  y tampón acetato de sodio (0.3 mM)), se mezcló 1.8 mL de FRAP con 140  $\mu$ L de agua destilada y 60  $\mu$ L de extracto, se dejó reaccionar durante 30 min a 37 °C y, transcurrido el tiempo de reacción, se leyó la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA)  $100\text{ g}^{-1}$  peso fresco.

#### Fuga de electrolitos

La fuga de electrolitos se evaluó mediante la metodología descrita por Saltveit (2002) con modificaciones. Se cortaron muestras de tejido cilíndrico de 13 mm de diámetro y 7 mm de longitud, en lados opuestos del fruto utilizando un sacabocados de acero inoxidable. Se preparó una solución manitol 0.3 M utilizando agua bidestilada y 35 mL de cada solución fueron colocados dentro de matraces Erlenmeyer. Cada cilindro de tejido se pesó antes y después de 30, 60, 120 y 240 minutos de introducirse en cada solución. Esta prueba fue para la evaluación de la tonicidad de las diferentes soluciones de manitol, el resultado indica que el agua bidestilada era el medio más adecuado para la medición de fuga de electrolitos porque en él, los cilindros del tejido no tenían ninguna ganancia o pérdida neta de peso después de 60 min de inmersión, cuando las medidas de conductividad eléctrica en este medio se volvieron lineales. Además, según lo informado por Saltveit (2002), se confirmó que los cilindros de tejido cortado deben ser lavados con agua bidestilada inmediatamente después de ser extraídos para evitar un aumento en la conductividad eléctrica debido a la rápida oxidación del tejido. Por lo tanto, para evaluar la fuga de electrolitos, un cilindro de tejido se sumergió en solución manitol 0.3 M y se midió la conductividad eléctrica después de 120 min utilizando un medidor de conductividad (LAQUAtwin EC-33, Horiba®). Los resultados se expresaron como porcentaje de conductividad eléctrica con respecto a un grupo control de cilindros de tejido obtenidos a partir de cada repetición y tratamiento. Estos

cilindros de control se congelaron y descongelaron antes de la prueba y se consideró que sus conductividades eran del 100 %.

#### Polvo de acetona

El polvo de acetona se obtuvo a partir de 5 g de pulpa, que se homogenizaron en 10 mL de acetona fría con un Ultra Turrax (IKA®, USA), posteriormente la mezcla se filtró en un embudo de kitasato con papel filtro; y este proceso se repitió 3-4 veces hasta que el polvo quedara muy fino y sin pigmentos. Finalmente, el polvo se dejó durante 30 min a temperatura ambiente para dejar evaporar totalmente la acetona y posteriormente se almacenó en bolsas de plástico a -20 °C.

#### Proteína soluble

Se determinó por el método de Bradford (1976). Para lo cual, se homogenizaron 0.1 g de polvo de acetona con 5 mL de Tris HCl 0.1 M (pH 7.1), en frío. La mezcla se centrifugó a 1008 x g por 15 min (4 °C). Se tomaron 0.1 mL del sobrenadante y se le adicionaron 5 mL de la solución Coomassie Blue, se agitó y se registró la absorbancia a 595 nm en el espectrofotómetro. La cuantificación se hizo mediante una curva de calibración con albúmina de bovino.

#### Catalasa (EC. 1.11.1.6; CAT)

La CAT se extrajo a partir de polvo de acetona: 0.1 g se homogenizó con 5 mL de Tris HCl (0.1 M, pH 8.5) frío, en un homogeneizador de tejidos (IKA®, USA). La mezcla se centrifugó a 1008 unidades G por 15 min en una centrífuga refrigerada a 4 °C. La actividad CAT, en una celda de cuarzo, se colocaron 3 mL de amortiguador Tris-HCl, (10 mM pH 8.5) y 0.1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.88 %. La reacción se inició al adicionar 0.1 mL del sobrenadante y se observó el cambio en absorbancia a 240 nm, y la actividad enzimática se reportó como U g<sup>-1</sup> de peso fresco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la descomposición de 1 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### Superóxido dismutasa (1.15.1.1; SOD)

A 0.1 g de polvo de acetona, se adicionaron 5 mL de amortiguador de fosfatos frío (pH de 7.8) homogenizado por 40 s. La mezcla se centrifugó a 1008 x g durante por 20 min a 4 °C. El sobrenadante se utilizó para el ensayo enzimático propuesto por Beyer y Fridovich (1987), en el cual se mezclaron, 27 mL de buffer fosfatos 0.05 (pH 7.8 + 0.1 mM de EDTA), 1.5 mL

de L-metionina ( $30 \text{ mg mL}^{-1}$ ), 1 mL de nitro blue tetrazolium ( $1.41 \text{ mg mL}^{-1}$ ) y 0.75 mL de Trion X-100 al 1 %. A 3 mL de esta mezcla de reacción se adicionaron 0.03 mL de riboflavina ( $4.4 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ ) y 0.4 mL de sobrenadante; la mezcla se iluminó por 7 min con luz fluorescente de 20 watts, posteriormente se determinó la absorbancia a 560 nm. El incremento en absorbancia debido a la formación de “Nitro Blue Tetrazolium formazan” por unidad de tiempo equivale a la velocidad de reacción; y la absorbancia en ausencia de SOD y en presencia de varias cantidades de SOD se utilizó para determinar el número de unidades/mL de SOD en la solución (Stauffer, 1989). Una unidad de SOD es igual a la cantidad de sobrenadante que fotoinhibe en 50 % la formación de “Nitro Blue Tetrazolium formazan” (Giannopolitis y Ries, 1977).

#### Polifenoloxidasasa (EC. 1.14.18.1; PFO)

La actividad enzimática de la PFO se evaluó por el método propuesto por Lamikanra (1995) con modificaciones. La enzima se extrajo a partir de 0.1 g de polvo de acetona con 5 mL de Tris-HCl frío, (100 mM, pH 7.1). Se mezclaron en un homogeneizador de tejidos durante 30 s; posteriormente la mezcla se centrifugó por 20 min a  $1008 \times g$  a  $4^\circ\text{C}$ . Con esta mezcla se evaluó el cambio absorbancia a 460 nm en el espectrofotómetro tomando lecturas durante 3 min. Para el ensayo de la actividad enzimática se emplearon 3.0 mL de catecol 60 mM disuelto en un buffer Tris-HCl (100 mM, pH 7.1) y 0.2 mL del sobrenadante. La actividad enzimática se reporta como  $\text{U g}^{-1}$  de peso seco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la formación de  $1 \mu\text{mol}$  de o-benzoquinona  $\text{min}^{-1}$ .

#### Peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD)

La extracción de POD fue similar a PFO y el ensayo se hizo de acuerdo con el método Flurkey y Jen (1978), con las siguientes modificaciones: la mezcla de ensayo tuvo un volumen total de 3 mL, para lo cual se mezclaron 2.6 mL buffer Tris-HCl 100 mM (pH 7.1), 0.25 mL de guayacol 0.1 M, 0.1 mL de peróxido de hidrógeno 0.25 % y 0.05 mL del sobrenadante; se determinó el cambio de absorbancia a 470 nm, tomando lecturas durante 3 min. La actividad enzimática se reportó como  $\text{U g}^{-1}$  de peso seco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la formación de  $1 \mu\text{mol}$  de tetraguaicol  $\text{min}^{-1}$ .

Los datos obtenidos fueron sujetos a análisis de varianza y comparación de medias por el método de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ). Se presentan gráficas y cuadros del comportamiento de las

variables evaluadas (media  $\pm$  error estándar). Utilizando el software Sigma Plot® (Systat Software, San Jose, CA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los frutos testigo y almacenados a 14 y 9 °C por 4 d mostraron un comportamiento climatérico, alcanzado el máximo de producción de CO<sub>2</sub> después de cuatro días a temperatura ambiente (Figura 3 A). En frutos de guanábana se ha reportado que tienen un incremento en la producción de CO<sub>2</sub> después de la cosecha, alcanzado su máximo de producción entre 4 y 6 días (Siang et al., 2019). En guanábana se ha reportado que el almacenamiento a 15 °C por 4 días y posterior maduración a temperatura ambiente no ocasiona una alteración en la respiración al compararse con frutos testigo (Jiménez et al., 2017), lo cual es similar a nuestros resultados. Sin embargo, los frutos refrigerados a 9 °C por 8 d, mostraron significativamente menor respiración que los frutos almacenados a 14 °C por 8 d, después de salir de esa condición (Figura 3 A). Espinosa et al. (2013) indican que el almacenamiento constante de frutos de guanábana a 16 °C reduce la respiración, pero al colocar los frutos a una condición de 25 °C la respiración se incrementa en forma desmedida. En el presente experimento no ocurrió ese incremento en los frutos almacenados a 9 °C por 8 días, lo que indica que esa condición y tiempo de almacenamiento dañó la respiración (Figura 3 A). Existe evidencia que la disminución de la respiración es resultado de la destrucción de la estructura de la mitocondria, la disminución general de la energía cinética y la inhibición de algunas enzimas (Lukatkin et al., 2012).

La producción máxima de etileno en los frutos testigo se observó a los 5 d después de la cosecha (Figura 3 B). Lima et al. (2010) en guanábana ‘Morada’ detectaron la producción de etileno a partir del cuarto día después de la recolección. En los frutos almacenados a 9 °C por 4 d y a 14 °C por 4 o 8 d el pico climatérico se observó después de dos o tres días de salir de dicha condición. En contraste, en los frutos almacenados a 9 °C por 8 d, el máximo de producción de etileno fue significativamente menor ( $P \leq 0.05$ ). En algunas especies el almacenamiento en bajas temperaturas inhibe la producción de etileno (Botton et al., 2019). Aunque Espinosa et al. (2013) indican que después de almacenar frutos de guanábana por 6 d a 16 °C, la producción de etileno se incrementó significativamente una vez transferidos a 25 °C, atribuido a un estrés generado por el cambio de temperatura.

La fuga de electrolitos inicial en los frutos testigo fue de 13.41 %, posteriormente los valores se incrementaron entre 23.46 % y 41.29 % (Figura 3 C). Los frutos almacenados a 14 °C por

4 y 8 d una vez transferidos a temperatura ambiente tuvieron significativamente mayor fuga de electrolitos, alcanzando hasta 103.99 y 126.09 % (Figura 3 C). Los frutos almacenados a 9 °C por 4 y 8 d, al salir de la refrigeración registraron menor fuga de electrolitos, entre 28.9 y 38.9 % (Figura 3 C). Los cambios en la estructura y conformación de la membrana están dentro de los primeros eventos fisiológicos del daño por frío y estos cambios disminuyen la permeabilidad lo que conduce a la fuga de electrolitos (Albornoz et al., 2019). Los resultados sugieren que durante la maduración la fuga de electrolitos en guanábana se incrementa debido a los procesos de maduración y senescencia, mientras que en los frutos almacenados a 9 °C la fuga de electrolitos fue baja debido a que la maduración del fruto fue inhibida.

El color de la epidermis en los frutos testigo fue de entre verde y amarillo ( $h=106.3$  y  $94.8$ ), con baja luminosidad ( $L^* =44.6$  y  $38.1$ ) y opacos ( $C^* =23.7$  y  $18.5$ ) desde su recolección hasta su maduración (Figura 1, 3 D-F). El color de los frutos expuestos a 9 °C por 4 y 8 d, no mostró diferencias estadísticas con respecto a los frutos testigo (Figura 2, 3 D-F). Mientras que los frutos refrigerados a 14 °C por 4 y 8 d, mostraron un cambio del verde al amarillo ( $h= 90.84$  y  $83.97$ ) menor luminosidad ( $L^* = 37.2$  y  $36.0$ ) y fueron más opacos ( $C^*= 15.9$  y  $16.1$ ) (Figura 2 y 3 D-F). Durante la maduración de los frutos de la guanábana, estos tienden a perder su brillo y el color de la epidermis, cambiando de un verde oscuro a un verde claro; este cambio se atribuye a una disminución en el contenido de clorofilas a y b durante la maduración (Benkeblia y Emanuel, 2014). Estos cambios no se observaron en los frutos que fueron expuestos a las temperaturas de 9 °C por 4 y 8 d, sugiriendo que los frutos no maduraron normalmente.

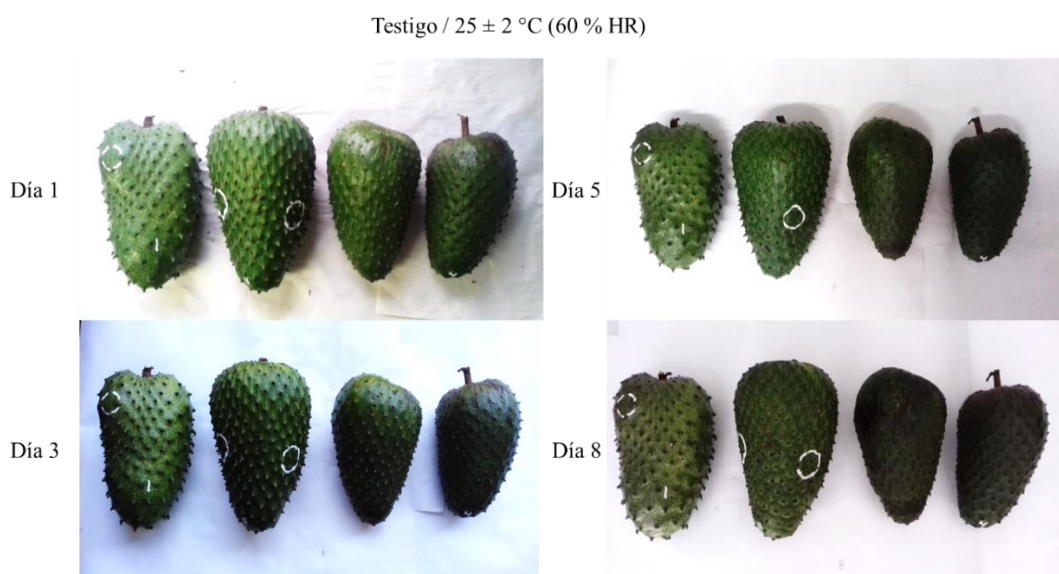


Figura 1. Apariencia de frutos de guanábana almacenados a temperatura ambiente, 8 días ( $25 \pm 2$  °C, 60 % HR).

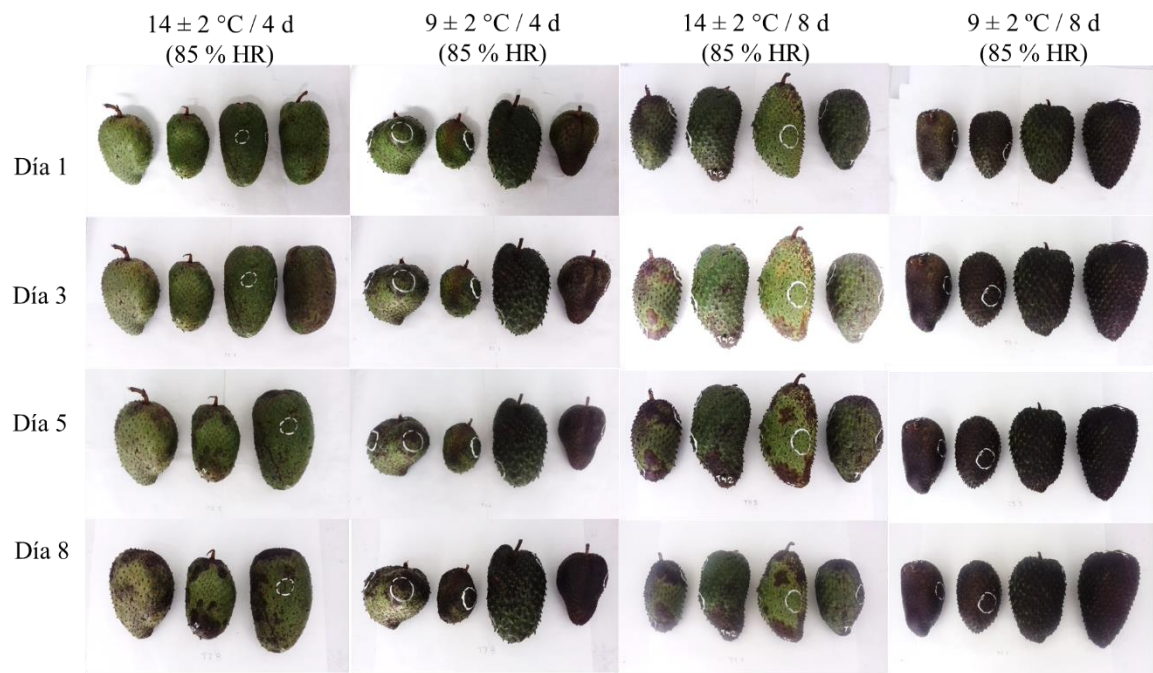


Figura 2. Apariencia de frutos de guanábana expuestos a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C, 60 % HR) durante 8 días, con previa refrigeración a:  $14 \pm 2$  °C por 4 d (85% HR),  $9 \pm 2$  °C por 4 d (85% HR),  $14 \pm 2$  °C por 8 d (85% HR),  $9 \pm 2$  °C por 8 d (85% HR).

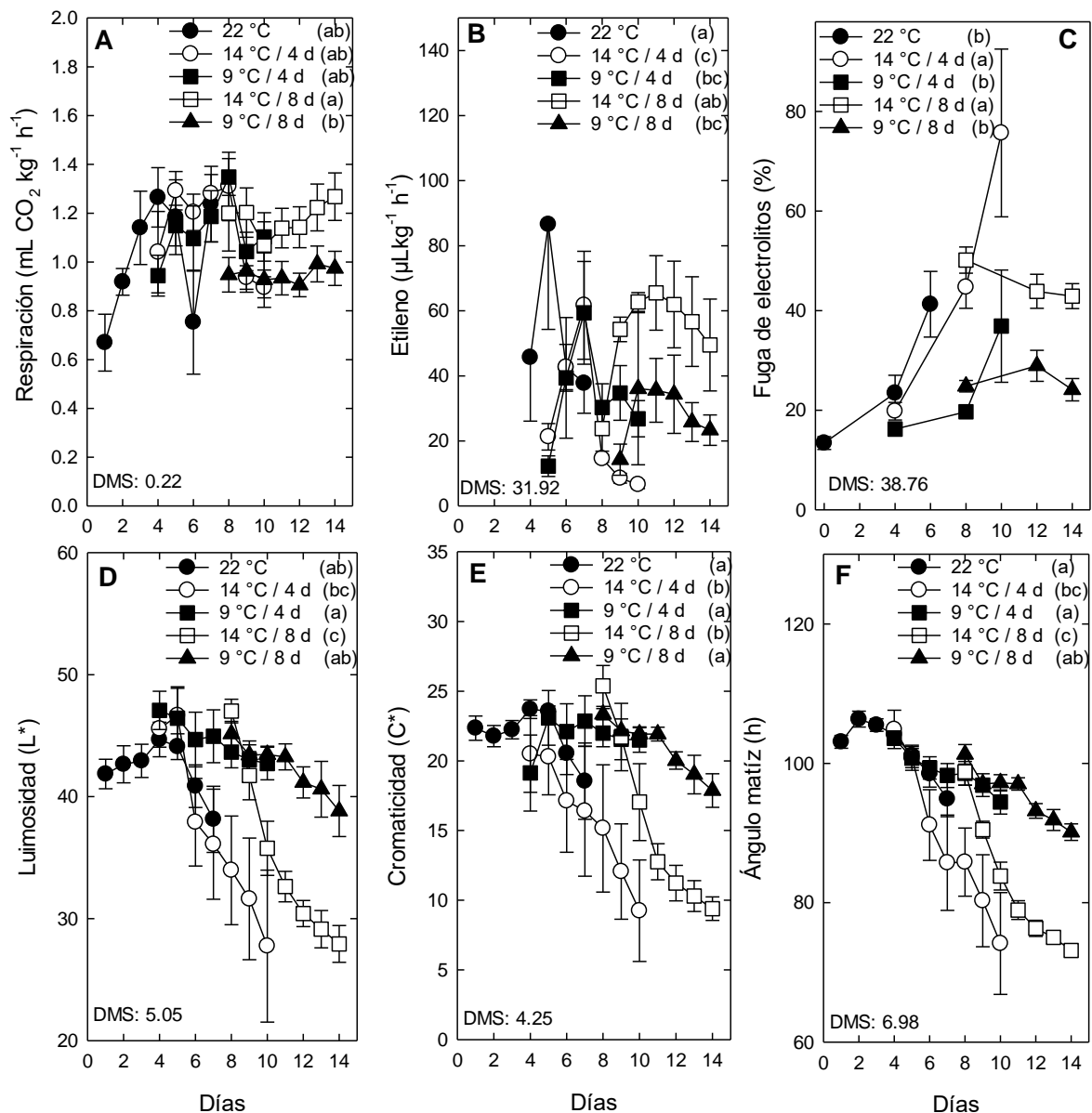


Figura 3. Cambios en respiración (A), producción de etileno (B), fuga de electrolitos (C) y parámetros de color: luminosidad (D), cromaticidad (E) y matiz (F) en epidermis de frutos de guanábana almacenados a temperatura ambiente (25 °C) o bajo refrigeración a 9 o 14 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa

La firmeza de los frutos testigo fue de 13.6 N en la cosecha (madurez fisiológica); posteriormente a los cuatro días se registraron valores de 3.8 N (madurez de consumo) y al sexto día los valores disminuyeron a 0.23 N (sobre maduración) (Figura 4 A). Márquez et al. (2013) indican que la guanábana en madurez de consumo su firmeza es entre 4.7 y 7.4 N,

mientras que en sobre maduración la firmeza es de 3.6 N. Los frutos almacenados a 14 °C por 4 y 8 d, presentaron una firmeza 3.6 y 0.70 N al salir o cuatro días después de salir de dicha condición (Figura 2 A). Los frutos refrigerados a temperaturas de 9 °C por 4 y 8 d, mantuvieron la firmeza entre 9 y 14 N una vez colocados a temperatura ambiente, sugiriendo que la temperatura de 9 °C afectó negativamente el proceso de ablandamiento (Figura 4 A). Espinosa et al. (2013) indican que, en frutos de guanábana, la refrigeración disminuye la degradación celular al disminuir la actividad enzimática.

Los sólidos solubles totales en los frutos testigo alcanzaron 13.8 °Brix en madurez de consumo (Figura 4 B). Jiménez et al. (2017) reportaron entre 14.4 y 16.6 °Brix en dos ecotipos de guanábana a los seis días de cosechados. Los frutos refrigerados a 14 °C por 4 y 8 d, al ser madurados a temperatura ambiente alcanzaron entre 14 y 15.6 °Brix y los frutos refrigerados a 9 °C por 4 y 8 d, alcanzaron entre 13.9 y 13.2 °Brix una vez que fueron retirados de la refrigeración. Espinosa et al. (2013) reportaron que frutos de guanábana provenientes de Nayarit, alcanzaron 18 °Brix después de almacenarse a 16 °C por 10 días y que el incremento en los sólidos solubles totales se atribuye a la hidrólisis de almidón, sacarosa, pectinas y otros compuestos solubles como ácidos orgánicos o aminoácidos. Los resultados indican que la temperatura de 9 °C no afectó el proceso de hidrólisis del almidón y se obtuvieron acumulación de carbohidratos de forma aceptable.

La acidez de los frutos testigo se incrementó durante la maduración llegando hasta 1.2 % en madurez de consumo y en sobre maduración disminuyó a 0.67 % (Figura 4 C). La acidez de la guanábana aumenta durante la maduración debido al catabolismo de almidón y carbohidratos de la pared celular, la transformación de sales ácidas a la forma soluble y a la baja utilización de ácidos en la respiración (Lima y Alves, 2011). Los frutos almacenados a 14 °C por 4 y 8 d al ser removidos a temperatura ambiente alcanzaron entre 0.6 y 1.4 % (Figura 4 C). Finalmente, los frutos refrigerados a 9 °C por 4 y 8 d no incrementaron la acidez titulable, manteniendo entre 0.37 y 0.32 % (Figura 4 C), lo que sugiere que este parámetro de la maduración fue afectado negativamente por la temperatura y el tiempo de refrigeración.

El contenido de fenoles totales en los frutos testigo aumentó constantemente (Figura 4 D). Los frutos almacenados a 14 °C mantuvieron el contenido de fenoles totales al exponer a los frutos al ambiente, y en los frutos almacenados a 9 °C por 4 y 8 d los fenoles totales se incrementaron constantemente, con mayor acumulación en los frutos almacenados por 8 d



(Figura 4 D). Jiménez et al. (2017) reportaron una disminución en el contenido de fenoles totales al exponer los frutos de guanábana a 22 °C después de una refrigeración de 15 °C por 4 d en dos selecciones sobresalientes de Nayarit, México. En estudios recientes se ha detectado que la acumulación de fenoles como ácido clorogénico, epicatequina, procianidina y quercetina en la epidermis del fruto de manzana es una respuesta al estrés por frío (Cainelli y Ruperti, 2019), por lo que la acumulación de los fenoles totales en guanábana a 9 °C se puede atribuir a una respuesta de estrés por frío.

La concentración de flavonoides mostró una tendencia similar a los fenoles totales en los frutos testigo y en los frutos almacenados a 14 °C por 4 y 8 d; es decir los flavonoides se incrementaron durante la maduración a temperatura ambiente. En tanto que en los frutos almacenados a 9 °C por 4 y 12 °C la concentración de los flavonoides se mantuvo constante durante los seis días a temperatura ambiente (Figura 4 E). Tsantili et al. (2010) indican que en duraznos el daño por frío ocasiona una disminución de los flavonoides, lo cual es similar en el presente experimento.

La vitamina C se incrementó en poscosecha durante la maduración de los frutos testigo (Figura 4 F). Los frutos almacenados a 14 °C por 4 y 8 d, al ser transferidos a temperatura ambiente, mantuvieron su contenido de vitamina C durante 4 d, y posteriormente en senescencia disminuyó (Figura 4 F). En tanto que en los frutos refrigerados a 9 °C por 4 y 8 d la vitamina no se incrementó, y fue significativamente menor comparada con los frutos de los otros tratamientos (Figura 4 F). Durante la maduración de la guanábana se incrementa el contenido de ácidos orgánicos, asociado a ese comportamiento la vitamina C es probable sea la razón de su incremento en poscosecha (Figura 4 F). Los frutos almacenados a 9 °C no muestran el incremento de esta vitamina, porque como se ha observado en las variables anteriores el proceso de maduración fue afectado negativamente por la temperatura de almacenamiento.

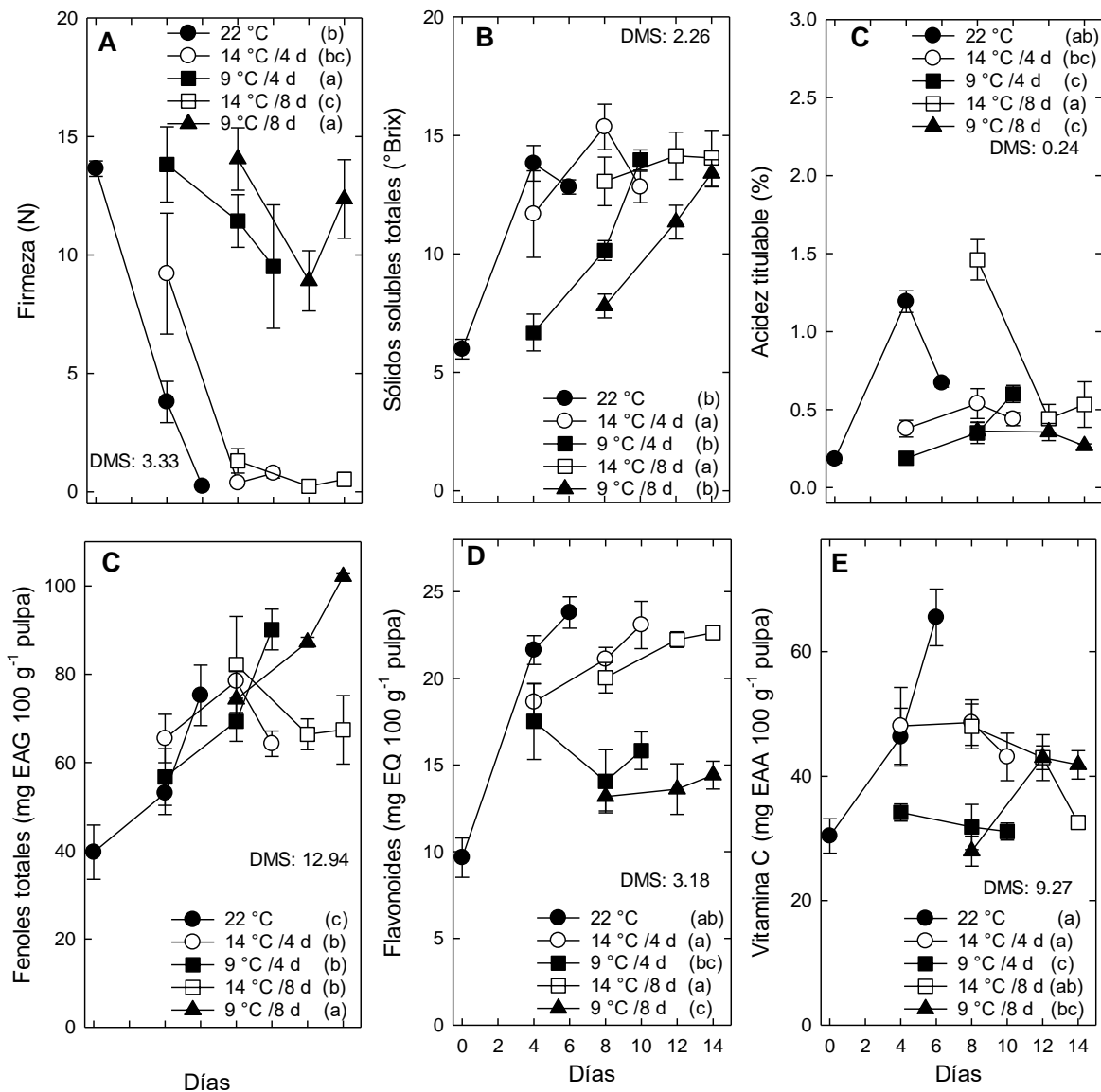


Figura 4. Cambios en firmeza (A), sólidos solubles totales (B), acidez titulable (C) fenoles totales (D), flavonoides (E) y vitamina C (F) en frutos de guanábana almacenados a temperatura ambiente (25 °C) o bajo refrigeración 9 o 14 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

La actividad antioxidante evaluada por el método de DPPH, inicialmente fue de 8.1 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f., 4 d después aumentó a 21.8 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. y al sexto día alcanzó 24.71 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. (Figura 5 A). Balois-Morales et al. (2019) indican que la actividad antioxidante por DPPH se incrementa hasta la madurez de consumo y posteriormente disminuye en senescencia, lo cual es diferente en el presente trabajo donde la actividad por

DPPH se incrementó constantemente. La actividad de fenoles totales y la actividad antioxidante evaluada por DPPH, mostró una fuerte y positiva asociación lineal ( $r=0.90^{***}$ ), por lo que una mayor actividad antioxidante se atribuye a la liberación de fenoles durante el proceso de maduración (Kuskoski et al., 2005).

En los frutos refrigerados a 14 °C por 4 d la actividad antioxidante por DPPH se incrementó hasta 30 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f., no así en los frutos almacenados a la misma temperatura, pero por 8 d, donde al salir del almacenamiento se tenía una actividad de 35 mg EAA 100g<sup>-1</sup> p.f. y en los días posteriores disminuyó constantemente (Figura 5 A). En los frutos almacenados a 9 °C por 4 y 8 d la actividad se incrementó después de 2 d o al salir del almacenamiento, alcanzando valores entre 43 y 44 mg EAA 100g<sup>-1</sup> p.f. (Figura 5 A). El análisis estadístico no determinó diferencias entre los frutos almacenados a baja temperatura, pero si entre el testigo y los frutos almacenados a 9 °C por 8 d (Figura 5 A), indicando una mayor actividad antioxidante por DPPH, lo que se atribuye a la mayor acumulación de fenoles totales que es una respuesta al estrés por frío (Cainelli y Ruperti, 2019).

La actividad antioxidante evaluada por ABTS fue de 68.1 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. al iniciar el experimento (madurez fisiológica), 4 d después se incrementó a 90.9 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. (madurez de consumo) y posteriormente a los 6 d la actividad disminuyó a 82.1 mg de EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. (senescencia) (Figura 5 B). Similar comportamiento reportan Balois-Morales et al. (2019) quienes sugieren que el incremento inicial se debe a una alta actividad metabólica y el periodo climatérico, además de la mayor concentración de ácido ascórbico durante la cosecha, en tanto que la disminución final de la actividad se atribuye a una disminución de los fenoles totales, aunque en el presente trabajo no se observó tal disminución.

En los frutos almacenados a 14 °C durante 4 y 8 días, la actividad por ABTS, se mantuvo constante o con una ligera disminución después de salir del almacenamiento, comparada con los frutos testigo (Figura 5 B). En los frutos almacenados por 4 y 8 d a 9 °C, mostraron un incremento constante de la actividad antioxidante por DPPH después de 2 d o inmediatamente después de salir del almacenamiento, mostrando significativamente mayor actividad comparada con los frutos testigo, pero no con los frutos almacenados a 14 °C. ( $P \leq 0.05$ ). Balois-Morales et al. (2019) indican que después de almacenar dos selecciones de guanábana (G1 y G2) a 15 °C por cuatro días, en una selección (G1) la actividad por ABTS se mantuvo constante, en tanto que en la otra selección (G2) la actividad se incrementó constantemente y se atribuye a la baja temperatura a la cual fue almacenada.

La actividad inicial de FRAP de los frutos testigo fue de 64.1 mg de EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. al iniciar el experimento (madurez fisiológica), después de 4 d la actividad incrementó a 76.1 mg de EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. (madurez de consumo) y 6 d después a 106.68 mg de EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. (senescencia) (Figura 5 C). Similar comportamiento reporta Balois-Morales et al. (2019) en dos selecciones de guanábana de Nayarit, México. La actividad de FRAP se relaciona con la alta actividad metabólica durante la maduración y el período climatérico; además de la alta acción de la vitamina C y los altos niveles de fenoles presentes (Huang et al., 2007).

La actividad de FRAP en los frutos almacenados a 14 °C por 4 d se mantuvo constante entre 100 y 110 mg EAA 100 g<sup>-1</sup>, al salir del almacenamiento. En los frutos almacenados por 8 d a la misma temperatura se observó al salir del almacenamiento una disminución de 120 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. a 85 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. después de 6 d a temperatura ambiente (Figura 5 C). Por otra parte, en los frutos almacenados a 9 °C por 4 y 8 d la actividad de FRAP se incrementó hasta valores de entre 120 y 140 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. después de 6 d (Figura 5 C), aunque no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos y el testigo. En mangos almacenados a bajas temperaturas, se ha observado un incremento la actividad de FRAP (Chongchatuporn et al., 2013) y el incremento de esta actividad antioxidante se debe a la síntesis de compuestos antioxidantes (por ejemplo, fenólicos) en respuesta al estrés por bajas temperaturas (Somogyi et al., 2007).

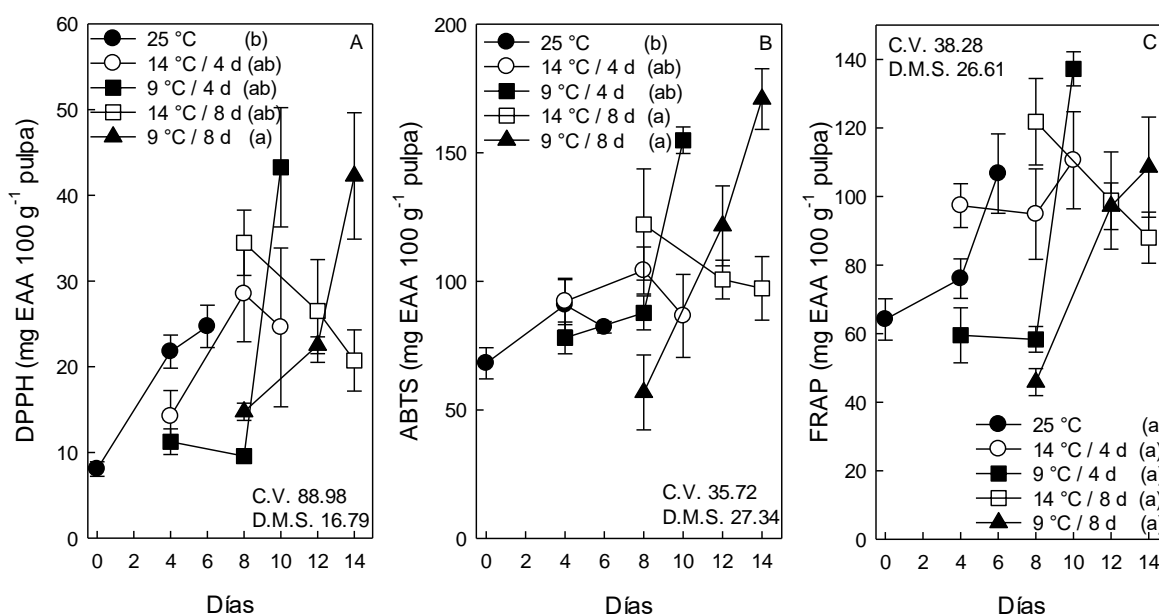


Figura 5. Actividad antioxidante DPPH (A), ABTS (B), y FRAP (C) en frutos de guanábana almacenados a temperatura ambiente (25 °C) o bajo refrigeración 9 o 14 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de

cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

La proteína soluble en los frutos testigo se incrementó durante la maduración, de 36.64 mg g<sup>-1</sup> p.s. (peso seco) al inicio del experimento (madurez fisiológica) hasta 38.73 mg g<sup>-1</sup> p.s. 4 días después (madurez de consumo) y 43.48 mg g<sup>-1</sup> p.s. 6 días después (senescencia) (Figura 6 A). Balois-Morales et al. (2019) indican un comportamiento inverso, es decir una disminución constante de la proteína soluble durante el proceso de maduración. Lima y Alves (2011) indican que las enzimas hidrolíticas se incrementan durante la maduración de guanábana como una consecuencia de los cambios en síntesis o velocidad de degradación, por lo cual, el incremento en la proteína soluble se puede atribuir a esa razón.

Los frutos refrigerados a 14 °C por 4 d mostraron escasos cambios al salir de la refrigeración, en tanto que los frutos almacenados por 8 d a la misma temperatura se observó una mayor concentración de proteína soluble (Figura 6 A). Los frutos refrigerados a 9 °C por 4 d mostraron mayor contenido de proteína soluble y los frutos almacenados por 8 d a 9 °C tuvieron una constante disminución en la proteína soluble (Figura 6 A). Balois-Morales et al. (2019) al almacenar dos selecciones de guanábana a 15 °C por 4 días determinaron una disminución constante de la proteína soluble. En el presente trabajo es claro la mayor concentración de proteína soluble en los frutos almacenados a 9 °C y a 14 °C por 8 d, lo que sugiere una mayor síntesis de enzimas que puedan ayudar a resistir el estrés provocado por el frío.

La actividad catalasa de los frutos testigo disminuyó durante la maduración de 55.4 UAE mg prot.<sup>-1</sup> al inicio del experimento (madurez fisiológica), a 20 UAE mg prot.<sup>-1</sup> 4 d después (madurez de consumo) y 13.3 UAE mg prot.<sup>-1</sup> a los 6 d (senescencia) (Figura 6 B). Balois-Morales et al. (2019) reportan un incremento en la actividad de catalasa durante la maduración de dos selecciones de guanábana. Sin embargo, diferentes autores indican que la actividad de CAT es diversa durante la maduración, ya que se incrementa en jitomates y disminuye en mangos y naranjas; este comportamiento se debe a la especie y a la diversidad en actividad de las isoenzimas (Resende et al., 2012). La maduración es un proceso que finaliza en la muerte celular, donde el incremento de las especies (ROS) reactivas de oxígeno es un proceso importante, por tal razón la disminución de las enzimas que controlan las ROS.

La actividad de catalasa se incrementó en todos los frutos almacenados a 14 o 9 °C por 4 o 8 d (Figura 6 B). Sin embargo, en los frutos almacenados a 9 °C por 8 d el incremento fue significativamente mayor que el resto de los tratamientos y el testigo (Figura 6 B). Balois-Morales et al. (2019) determinaron un comportamiento diferencial en dos selecciones de guanábana almacenadas a 15 °C por 4 d y posteriormente maduras a temperatura ambiente, ya que una de ellas la actividad de catalasa se incrementó y en la otra disminuyó; sin embargo, no reportaron daños por el estrés de baja temperatura.

La actividad SOD en los frutos testigo disminuyó durante la maduración de 3.3 UAE mg de prot.<sup>-1</sup> en madurez fisiológica, a 2.9 UAE mg prot.<sup>-1</sup> en madurez de consumo, y a 1.8 UAE mg prot.<sup>-1</sup> en la senescencia (Figura 6 C). Balois-Morales et al. (2019) indican que en dos selecciones de guanábana la actividad de SOD se incrementa durante la maduración.

La actividad de SOD mostró similar comportamiento en los frutos almacenados a 14 y 9 °C por 4 y 8 d, donde los frutos almacenados a 9 °C por 8 d mostraron significativamente mayor actividad de SOD, sugiriendo que estos frutos estimularon la actividad de SOD en esta temperatura y tiempo de almacenamiento. Se ha encontrado en plantas y en frutos que la actividad enzimática de superóxido dismutasa y catalasa aumenta al almacenarlos a bajas temperaturas, más que a otros factores fisiológicos (Polata et al., 2009), debido a que las especies reactivas de oxígeno generan un daño oxidativo y estas enzimas constituyen la primera línea de defensa celular (Ferreira-Silva et al., 2012).

La actividad de POD en los frutos testigo inicio con 31.7 UAE mg prot.<sup>-1</sup> en madurez fisiológica, 4 d después la actividad se incrementó a 228.4 UAE mg prot.<sup>-1</sup> en madurez de consumo, y 6 d después alcanzó la máxima actividad de 615.5 UAE mg prot.<sup>-1</sup> (senescencia) (Figura 6 D).

En los frutos almacenados a 14 °C por 4 d la actividad de POD fue alta al salir del almacenamiento y aún 4 d después, al sexto día la actividad fue menor (Figura 6 D), en tanto que en los frutos almacenados a 14 °C por 8 d la actividad de POD fue de 400 UAE mg prot.<sup>-1</sup>, alcanzado un máximo 4 d después y mantenerse en esos niveles después de 6 d (Figura 6 D). Por otra parte, los frutos almacenados a 9 °C por 4 d la actividad de POD fue baja al salir del almacenamiento y poco se incrementó después de 4 d, no así después de 6 días donde se incrementó hasta alcanzar 400 UAE mg prot.<sup>-1</sup>; finalmente los frutos almacenados a 9 °C por 8 d la actividad de POD se incrementó constantemente después de salir del almacenamiento alcanzado de hasta 700 UAE mg prot.<sup>-1</sup> (Figura 4D). La peroxidasa cataliza

la oxidación de fenoles a quinonas, produciendo colores marrones; sin embargo, esta enzima puede degradar las especies reactivas de oxígeno ( $H_2O_2$ ) y puede clasificarse como una enzima antioxidante (Chen et al., 2016). Una disminución en la actividad POD al final del almacenamiento puede estar relacionada con la senescencia de los frutos, ya que los productos de la reacción enzimática pueden inhibir la actividad enzimática de POD (Restrepo et al., 2009). Este caso sólo ocurrió en los frutos refrigerados a 14 °C por 4 y 8 d, en donde los frutos senescieron antes que los frutos de los tratamientos de 9 °C.

La actividad PFO en los frutos testigo inició en 5.1 UAE mg de prot.<sup>-1</sup> en madurez fisiológica, posteriormente aumento a 6.3 UAE mg de prot.<sup>-1</sup> en madurez de consumo y finalmente alcanzó 8.8 UAE mg de prot.<sup>-1</sup> en senescencia (Figura 6 E).

En los frutos almacenados por 8 d a 14 °C la actividad de PFO alcanzó un máximo de actividad 4 d después de salir del almacenamiento y los frutos almacenados a la misma temperatura por 8 d la actividad fue significativamente menor manteniéndose sin cambios durante la maduración (Figura 6 E). En los frutos almacenados a 9 °C la actividad de POD mostró los valores significativamente menores con el resto de los tratamientos, con mayor evidencia en los frutos almacenados por 8 d (Figura 6 E). Estudios indican que esta enzima se encuentra localizada exclusivamente en plastidios y es liberada al citosol como consecuencia de un daño o senescencia (Trujillo et al., 2006 y Hassanpour et al., 2012). Kravayan y Aydemir (2001) mencionan que en hojas de menta (*Mentha piperita* L.) que la actividad PFO es estable a bajas temperaturas; también indican que existe una correlación positiva con el incremento de la temperatura.

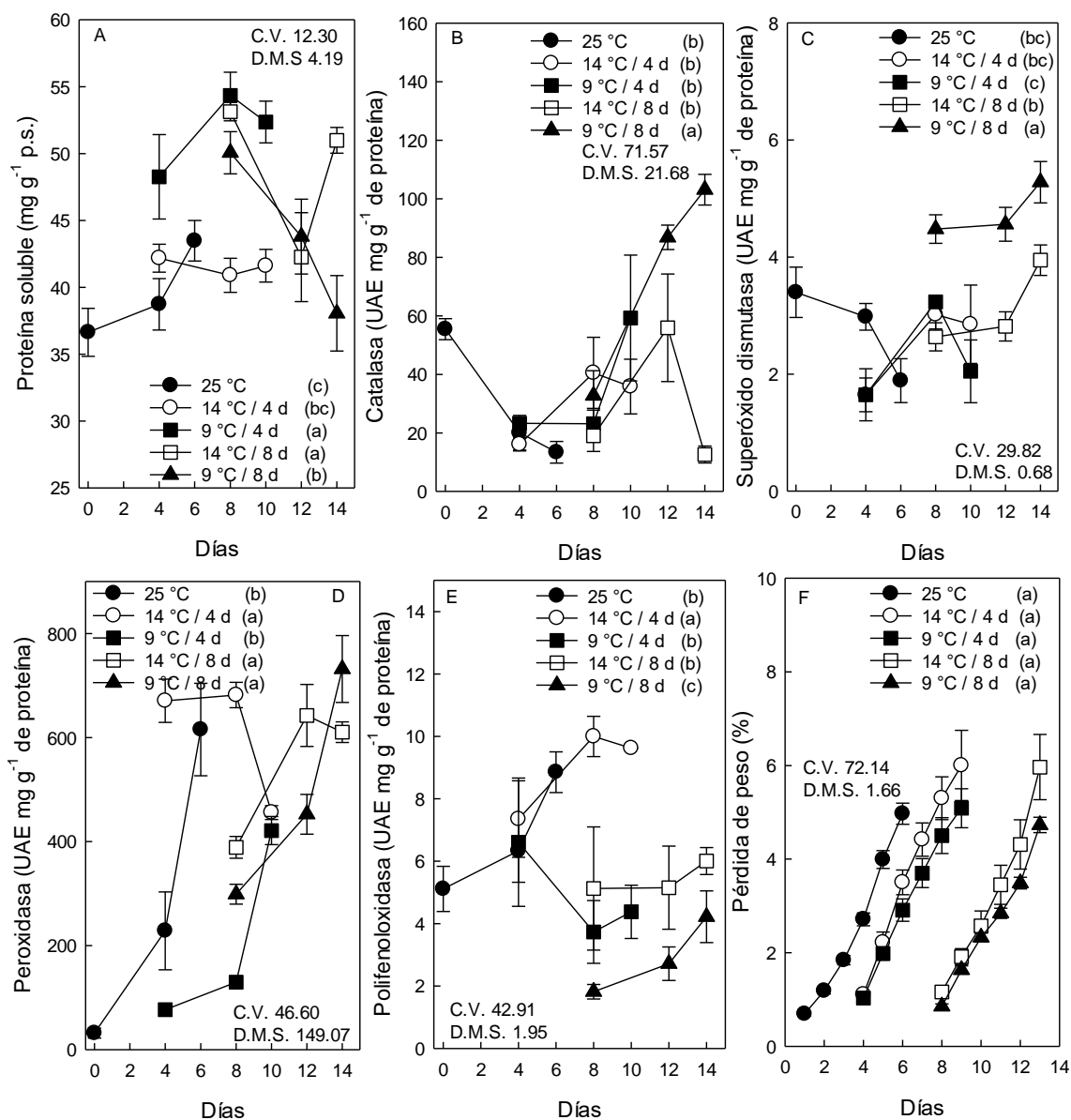


Figura 6. Proteína soluble (A), catalasa (B), superóxido dismutasa (C), peroxidasa (D), polifenoloxidasa (E) y pérdida de peso (F) en frutos de guanábana almacenados a temperatura ambiente (25 °C) o bajo refrigeración 9 o 14 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

## CONCLUSIÓN

La refrigeración a 9 °C retrasa algunos procesos de maduración en la guanábana, asociados a una disminución de la respiración, producción de etileno, acidez titulable y un escaso ablandamiento, así como poco cambio en los parámetros de color. El metabolismo de



fenoles, flavonoides y vitamina C es retrasado. Se observaron incrementos en las actividades antioxidantes determinadas por ABTS y FRAP. Todos estos cambios pueden considerarse indicadores objetivos del daño por frío en esta especie concreta de fruta.

## LITERATURA CITADA

- Albornoz, K., Cantwell, M.I., Zhang, L., Beckles, D.M. (2019) Integrative analysis of postharvest chilling injury in cherry tomato fruit reveals contrapuntual spatio-temporal responses to ripening and cold stress. *Scientific Reports* 9: 2795.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. and Legret, P. (1994). Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituents. *J. Pharmacie Belgique* 49(6), 462-468.
- Badrie, N and Schauss A.G. (2010) Soursop (*Annona muricata* L.): composition, nutritional value, medicinal uses, and toxicology. In *Bioactive foods in promoting health: fruits and vegetables*, R. Watson and V. Preedy, eds. (London, UK: Elsevier-Academic Press) p. 621-643.
- Balois-Morales, R., Jiménez-Zurita, J.O., Alia-Tejacal, I., López-Guzmán, G.G., Palomino-Hermosillo, Y.A. and Sánchez-Herrera, L.M. (2019). Antioxidant enzymes and antioxidant activity in two soursop selections (*Annona muricata* L.) from Nayarit, Mexico stored at 15 °C. *Rev. Bras. Frutic.*, 41(1), e-083.
- Benkeblia, N. and Emanuel, M.A. (2014). Variation of reducing and total sugars, total phenols and chlorophylls in soursop (*Annona muricata*) during three “On Tree” ripening stages. *Acta Hort.* 1047, 153-158.
- Benzie, I. and Strain, J. (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power: The FRAP Assay”. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Beyer F W, I Fridovich (1987) Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analyt. Biochem.* 161:559-566.
- Botton, A., Tonutti, P. and Ruperti, B. (2019). Biology and biochemistry of ethylene. In *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables*, E. M. Yahia, ed. (Cambridge, UK: Woodhead-Elsevier), p. 92-112.

- Bradford M M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analit. Biochem.* 72:248-254.
- Brand, W. W., M. E. Culivier, and C. Berset. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 25-30.
- Cainelli, N., Ruperti, B. (2019). Biochemistry and molecular biology in fruits during cold storage. *Annual Plant Reviews* 2, 1-29.
- Castillo, Á.D., Varela, H.G., Pérez, S.B.R. and Pelayo, Z.C. (2005). Daños por frío en guanabana. Índice de corte y tratamientos poscosecha. *Rev. Chapingo S. Hortic.* 11(1), 51-57.
- Chen, Z.; Huang, S.; Zhao, M. (2016). *Molecularly Imprinted Polymers for Biomimetic Catalysts, Molecularly Imprinted Catalysts*, Amsterdam, v.6, p.229-239.
- Chongchatuporn, U., Ketsa, S., and Doorn, W. G. van. (2013). Chilling injury in mango (*Mangifera indica*) fruit peel: Relationship with ascorbic acid concentrations and antioxidant enzyme activities. *Postharvest Biol. Technol.*, 86, 409-417.
- Espinosa, I., Ortiz, R. I., Tovar, B., Mata, M. and Montalvo, E. (2013). Physiological and physicochemical behavior of soursop fruits refrigerated with 1-methylcyclopropene. *J. Food Qual.* 36, 10-20.
- Ferreira-Silva, S. L.; Voigt, E. L.; Silva, E. N.; Maia, J. M.; Aragão, T. C. R.; Silveira, J. A. G. (2012). Partial oxidative protection by enzymatic and non-enzymatic components and cashew under high salinity. *Biologia Plantarum*, Luxemburgo, v.56, p.172-176.
- Flurkey W H, J J Jen (1978) Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.* 43:1828-1831.
- Giannopolities C N, S K Ries (1977) Superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 59:309-314.
- Hassanpour, H; Khavari-Nejad, A; Nikman, V; Najafi, F; Razavi, K. (2012). Effects of penconazole and water deficit stress on physiological and antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulgium* L.). *Acta Physiologiae Plantarum* 34:1537-1549.

- Helrich, K. (1990). *Official Methods and Analysis*. (Arlington: Association of Official Analytical Chemists).
- Huang, R., Xia, R., Hu, L., Lu, Y. and Wang, M. (2007). Antioxidant activity and oxygen scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Sci. Hortic.*, *113*, 166-172.
- Jagota, S.K. and Dani H.M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal. Biochem.* *127*, 178–181.
- Jiménez-Zurita, J.O., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Juárez-López, P., Sumaya-Martínez, M.T., Bello-Lara, J.E. (2016). Caracterización de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tepic, Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* *7*(6): 1261-1270.
- Jiménez Z.J.O., Balois, M.R., Alia, T.I., Juárez, L.P., Jiménez, R.E.I. and Bello, L.J.E. (2017). Cold Storage of two selections of soursop (*Annona muricata* L.) in Nayarit, Mexico. *J. Food Qual.*, ID 4517469: 1-10.
- Kavrayan, D; Aydemir, T. (2001). Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). *Food Chemistry* *74*:147-154.
- Kuskoski, E.M.; Asuero, A.G., Troncoso A.M., Mancini-Filho, J. and Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnol. Alim.*, *25*(4), 726-732.
- Lamikanra O (1995) Enzymatic browning of Muscadine grapes products. *In: Enzymatic Browning and its Prevention* C L Lee, J R Whitaker (eds). ACS. Washington, USA. pp: 166-177.
- Lima, M.A.C., Alves, R.E. and Filgueiras, H.A.C. (2010). Comportamento respiratório e amaciamento de graviola (*Annona muricata* L.) após tratamentos pós-colheita com cera e 1-metilciclopropeno. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras* *34*(1), 155-162.
- Lima, C.M.A. and Alves R.E. (2011). Soursop In *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*, E.M. Yahia. (Cambridge, UK.: Woodhead) p. 363-391.

- Lukatkin, S.A., Brazaityye, A., Bobinas, C., Duchovskis, P. (2012). Chilling injury in chilling-sensitive plantas: a review. *Zemdirbyste Agriculture* 99(2): 111-124.
- Márquez, C.C.J., Cartagena, V.J.R. and Correa, L.G.A. (2013). Determination of soursop (*Annona muricata* cv. Elita) fruit volatiles during ripening by electronic nose and gas chromatography coupled to mass spectroscopy. *Rev. Fac. Nal. Agric. Medellin* 66, 7117-7128.
- Pinto, de Q.A.C., Cordeiro R. M.C., Andrade M.S.R., Ferreira R.F., Filgueiras C.H.A., Alves, E.R. and Kinpara, I.D. (2005). *Annona* species. (University of Southampton, UK. International Centre for Underutilised Crops).
- Polata, H.; Wiliniska, A.; Bryjak, J.; Polakovic, M. (2009). Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. *Journal of Food Engineering, Amsterdam*, v.91, p.387-391.
- Re, R; Pellegreni, N; Proteggente, A; Pannala, A; Yang, M; Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26:1231-1237.
- Resende, O.E.C., Martins, P.F., Azevedo, R. A., Jacomino, A. P., Bron, I.U. (2012). Oxidative processes during 'Golden' papaya fruit ripening. *BRaz. J. Pñant Physiol.* 24(2): 85-94.
- Restrepo, D.C., Narváez, C. E., Restrepo, L. P. (2009). Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Química Nova* 32:1517-1522.
- Salveit, M.E. (2016). Respiratory metabolism. In *Postharvest Ripening Physiology of Crops*. S. Pareek, ed. (CRC Press–Taylor and Francis) p. 139-156.
- Salveit, M.E. (2002). The rate of ion leakage from chilling-sensitive tissue does not immediately increase upon exposure to chilling temperatures. *Postharvest Biol. Technol.* 26, 295–304.
- Siang, M.L., Ding, P. and Mohamed, M.M.T (2019). Response of methycyclopropene of postharvest quality of local soursop (*Annona muricata* L.). *Sains Malaysiana* 48(3), 571-579.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2021). Anuario estadístico de la producción agrícola 2019. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.

- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuel, R. M. R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152-178.
- Solórzano, M.S., Alia, T. I., Rivera, C.F., López, M.V., Pérez, F.L.J., Pelayo, Z.C., Guillén, S.D., León, S.F.D. and Maldonado, A.Y.I. (2015). Quality attributes and functional compounds of mexican plum (*Spondias purpurea* L.) fruit ecotypes. *Fruits* 70, 261-270.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z. and Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological Measurement*, 8, 41-55.
- Stauffer C E (1989) *Enzyme Assays for Food Scientists*. Van Nostrand Reinhold. USA. 317 p.
- Tovar, G.B., Mata, M de O.M, García, G.H.S and Montalvo, G.E. (2011). Efecto de emulsiones de cera y 1-metilciclopropeno en la conservación poscosecha de guanábana. *Rev. Chapingo S. Hortic.* 17, 53-61.
- Tsantili, E., Shin Y., Nock, J.F., Watkins, C.B. (2010). Antioxidant concentrations during chilling injury developments in peaches. *Postharvest Biology and Technology* 57: 27-34.
- Trujillo, V.B.A., Zavaleta, M.H.A., Mora, H.M.E., López, D.H.A. (2006). Efecto del CaCl<sub>2</sub> sobre la actividad enzimática antioxidante durante la vida florero de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolux Ex Hook F.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12:203-209.

## CAPÍTULO II

### Almacenamiento a bajas temperaturas de chirimoya (*Annona cherimola* L.)

#### ‘Cuadrada’

#### RESUMEN

La chirimoya es considerada una fruta exótica con limitada comercialización, es apreciada por un número creciente de consumidores en el mundo debido a sus características organolépticas y nutricionales. Su vida poscosecha es limitada debido a su rápida maduración, se puede almacenar entre 8 y 12 °C sin sufrir daño por frío. Sin embargo, para desarrollar tecnologías y manejo poscosecha del fruto, es necesario conocer la respuesta de la mayoría de los parámetros físicos, químicos y fisiológicos cuando son sometidos a temperaturas menores de 12 °C. Por lo que se almacenaron frutos de chirimoya a 4 y 11 °C por 8 o 16 días y se maduraron a temperatura ambiente (22 °C). La respiración disminuyó cuando los frutos fueron almacenados por 16 días. Los parámetros de color de los frutos refrigerados a 9 °C mostraron pocos cambios. Los sólidos solubles totales y la actividad antioxidante DPPH de los frutos se incrementaron con el almacenamiento a 11 °C por 16 días. El contenido de vitamina C disminuyó en los frutos almacenados por 16 días en ambas temperaturas. La actividad de FRAP fue menor en los frutos almacenados por 8 días en ambas temperaturas. Todas las actividades enzimáticas se incrementaron después de almacenar a 4 °C por 16 días. La fuga de electrolitos fue menor en los frutos almacenados por 16 días en ambas temperaturas. Los frutos de chirimoya almacenados a 11 °C mostraron un comportamiento similar a los frutos testigo en todas las variables y con avance de la maduración. Mientras que, en los frutos almacenados a 4 °C se observaron síntomas de daño por frío, como son oscurecimiento y endurecimiento.

**PALABRAS CLAVE:** respiración, vitamina C, sólidos solubles, fuga de electrolitos.

## **ABSTRACT**

Cherimoya is considered an exotic fruit with limited commercialization; it is appreciated by a growing number of consumers in the world due to its characteristics organoleptic and nutritional characteristics. Its postharvest life is limited due to its rapid maturation, it can be stored between 8 and 12 °C without suffering chilling injury. However, to develop technologies and postharvest handling of the fruit, it is necessary to know the response of most of the physical, chemical and physiological parameters when they are subjected to temperatures below 12 °C. Therefore, cherimoyas fruits were stored at 4 and 11 °C for 8 or 16 days and matured at room temperature (22 °C). Respiration decreased when the fruits were stored for 16 days. The color parameters of the fruits refrigerated at 9 °C showed little change. The total soluble solids and the DPPH antioxidant activity of the fruits increased with storage at 11 °C for 16 days. The vitamin C content decreased in the fruits stored for 16 days at both temperatures. The FRAP activity was lower in the fruits stored for 8 days at both temperatures. All enzyme activities increased after storing at 4 °C for 16 days. Electrolyte leakage was lower in fruits stored for 16 days at both temperatures. The cherimoya fruits stored at 11 °C showed a similar behavior to the control fruits in all variables and with advanced maturation. While, in the fruits stored at 4 °C, symptoms of chilling injury were observed, such as darkening and hardening.

**KEYS WORDS:** respiration, vitamin C, soluble solids, electrolyte leakage.

## INTRODUCCIÓN

La chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) es originaria de los valles interandinos de Perú y Ecuador (Morton, 2013), es considerada una fruta exótica con limitada comercialización (Prieto et al., 2007); se encuentra distribuida en diferentes zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo (Del Árbol et al., 2016) con gran diversidad de variedades y cultivares (Manríquez et al., 2014; González Vega, 2013). Los frutos de chirimoya, con forma de corazón, cónico, u ovalado, con una longitud de 7.5 a 12.5 cm, con un peso de 200 a 700 g, y de superficie lisa o con protuberancias dependiendo la variedad (Andrés y Andrés, 2011) son apreciados por un número creciente de consumidores en todo el mundo debido a sus características tanto organolépticas como nutricionales (Domínguez y Castañeda, 2002); contiene notables cantidades de vitaminas y minerales con un sabor particular que resulta de la combinación de ácidos y azúcares (Pareek et al., 2011).

La chirimoya es comercialmente cultivada en Portugal, Taiwán, Italia, Australia, Perú, Chile, Ecuador, Estados Unidos, México y España, siendo este último el principal productor mundial (Yahia, 2018). En México el SIAP (2019) reporta 36 ha en producción comercial, donde Michoacán (24 ha) y Morelos (12 ha) son los principales estados productores, con 247.3 t producidas en ese año y un rendimiento de 6.87 t ha<sup>-1</sup>. Se destaca que la demanda supera ampliamente a la oferta siendo Estados Unidos y Japón los principales consumidores (González Vega, 2013).

La chirimoya se clasifica como una fruta climatérica caracterizada por un doble pico climatérico en su respiración, el primero ocurre después de la cosecha, el segundo aparece justo después de la producción máxima de etileno que conduce posteriormente a la senescencia (Manríquez et al., 2014); ocurren incrementos en los sólidos solubles totales, en la acidez, y una disminución en su firmeza otorgando a al fruto maduro una mezcla agradable de dulzura y acidez además de una textura cremosa (Alique y Zamorano, 2000).

El principal problema para la comercialización es su corta vida poscosecha. Según Pareek et al. (2011) y Campos-Vargas y Olmedo (2020) la fruta madura en 3-6 días (18 – 20 °C), la temperatura óptima de almacenamiento es entre 8 – 12 °C. Dependiendo del área de producción y el mes de recolecta, 10 °C es la temperatura mínima para evitar los síntomas de daño por frío (Lahoz et al., 1993). Estos daños provocan un oscurecimiento, endurecimiento y picado de la epidermis, maduración irregular, cambios en la velocidad de respiración, producción de etileno (Alique y Zamorano, 2000; Campos-Vargas y Olmedo,



2020); así como cambios en el sabor relacionados con la alteración de metabolitos como los azúcares y la acidez (Manríquez et al., 2014). Recientemente se ha estudiado el contenido de fenoles totales, flavonoides, vitamina C y capacidad antioxidante de cuatro cultivares de chirimoyas provenientes de Portugal y almacenados a temperatura ambiente (Albuquerque et al., 2016).

El oscurecimiento en la epidermis se ha atribuido a la actividad de la enzimática, principalmente a la enzima polifenoloxidasas (PFO), que en frutos de chirimoya su mecanismo se ha estudiado por Prieto et al., (2007). En otras Annonas se ha estudiado la actividad enzimática por Balois et al., (2019) que ha servido como indicador de alteraciones metabólicas que se manifiestan como desórdenes fisiológicos externos. Enzimas como catalasa (CAT) superóxido dismutasa (SOD) y peroxidasa (POD) son conocidas como enzimas antioxidantes primarias, las cuales sirven como primera línea de defensa antioxidante. Estas alteraciones fisiológicas se relacionan con una disminución de enzimas que remueven especies reactivas de oxígeno, tales como superóxido dismutasa (SOD) que convierte el anión superóxido ( $O_2^-$ ) a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), mientras que, las enzimas CAT y ascorbato peroxidasa (APX) eliminan el  $H_2O_2$  convirtiéndolo en  $H_2O$  (Apel y Hirt, 2004). Enzimas como PFO y POD son relevantes en términos de calidad, ya que conducen al oscurecimiento a través de la catalización de dos reacciones diferentes en presencia de oxígeno molecular: (a) la hidroxilación de monofenoles a orto-difenoles y (b) la oxidación de orto-difenoles a orto-quinonas que son altamente reactivas y pueden combinarse entre sí con otros compuestos para formar pigmentos marrones (Maghoumi et al., 2013; Zhang y Shao, 2015). Además, varias peroxidases que participan en una serie de reacciones redox; como el APX que unido a la membrana se encuentra para eliminar el  $H_2O_2$  producido por SOD.

En México y el mundo son escasos los estudios realizados sobre caracterización del daño por frío en frutos de chirimoya ‘Cuadrada’, son necesarios para realizar propuestas de manejo tecnológico con el fin de optimizar las condiciones de almacenamiento que permitan preservar las características sensoriales del fruto, y que ayuden a incrementar la vida útil de este importante fruto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron frutos de chirimoya ‘Cuadrada’, en Huecahuasco, Ocuituco, Morelos (18° 52’ 41” N 98° 46’ 31” O, 2000 msnm). Los frutos se colectaron en madurez fisiológica, utilizando el índice de cosecha del productor que generalmente se considera un cambio de color verde oscuro en la epidermis del fruto a un color verde-amarillento. Se seleccionaron frutos sin daños físicos o por patógenos. Los frutos se trasladaron vía terrestre al Laboratorio de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. El material vegetal se dejó ambientar a la temperatura del laboratorio, posteriormente se lavaron con agua clorada (200 mg L<sup>-1</sup>) y se dejaron secar sobre papel absorbente.

Se formaron cinco grupos de 15 frutos, de los cuales cuatro se almacenaron a 11 o 4 ± 2 °C 85 % HR durante 8 o 16 d; un grupo de frutos se almacenó a temperatura ambiente 22 ± 2 °C, 60 % HR y se consideró como el grupo testigo. Los tratamientos fueron cinco y quedaron conformado de la siguiente manera: 1) Frutos almacenados a 11 °C por 8 d, 2) Frutos almacenados a 4 °C por 8 d, 3) Frutos almacenados a 11 °C por 16 d, 4) Frutos almacenados a 4 °C por 8 d.

Los frutos almacenados a temperatura baja y después de cumplir el tiempo de almacenamiento se colocaron a temperatura ambiente (22 ± 2 °C, 60 % HR), realizando evaluaciones diarias o cada 4 d de algunos cambios físicos, fisiológicos y químicos. La unidad experimental fue un fruto, y se tuvieron cinco repeticiones, el diseño experimental fue uno completamente al azar.

La velocidad de respiración y producción de etileno se determinó por el método estático (Salveit, 2016), donde un fruto se colocó en un recipiente sellado de 6,300 mL durante 3 h, posteriormente se extrajo del espacio de cabeza 1 mL del gas, el cual se inyectó en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies® 7890A (USA) y se cuantificó la concentración de CO<sub>2</sub> y etileno. Las condiciones de temperatura del inyector, horno y detectores DCT (Detector de Conductividad Térmica) y DIF (Detector de Ionización de Flama) para la determinación de CO<sub>2</sub> y etileno, respectivamente, fueron de 150, 80 y 170 °C. Se utilizó nitrógeno como gas de arrastre. Para la cuantificación de la concentración de gases en las muestras, se usó el método de calibración absoluta utilizando estándares (Praxair ®) de CO<sub>2</sub> (460 mg L<sup>-1</sup>) y etileno (100 mg L<sup>-1</sup>).

La pérdida de peso se determinó usando una balanza digital (OHAUS®, Pro-scout SP, 2001, New Jersey, USA) para medir la masa individual cada fruto. La pérdida de peso acumulada al final del almacenamiento fue reportada en porcentaje (%) acumulado. Para obtener el porcentaje acumulado del peso de cada fruto en, se obtuvo con la fórmula:  $[(P_i - P_f / P_i) \times 100]$ , donde  $P_i$ = peso inicial,  $P_f$ = peso final.

El color se evaluó, fruto en la parte ecuatorial de cada fruto en lados opuestos con un espectrofotómetro (X-rite, Mod. SP64, USA) que proporcionó lecturas de  $L^*$ = luminosidad (0: blanco, 100: negro);  $C^*$ = cromaticidad (del gris);  $h$ = ángulo matiz (0: rojo, 100: amarillo, 180: verde y 360 purpura) (Solórzano et al., 2015).

La firmeza se determinó en cada fruto (UE), se eliminó parte del epicarpio, en la parte ecuatorial de dos lados opuestos, por medio de una estación de pruebas EZ Test modelo: SM-100N-168, con capacidad de 100 N, con un puntal cónico (4.7 mm de diámetro en la base). Se tomó el valor promedio de dos lecturas en partes opuestas de cada fruto, reportando los datos en Newtons (N).

Los sólidos solubles totales (SST) se determinaron directamente del fruto, al realizar una incisión en la epidermis del fruto para obtener una gota de jugo de la pulpa, que se colocó en refractómetro Atago PAL-1® (Japón) previamente calibrado con una gota de agua destilada. Los resultados se expresaron en °Brix.

La acidez titulable fue determinada por el método de AOAC (Helrich, 1990), el cual consistió en homogenizar 1 g de pulpa con 10 mL de agua destilada, el homogenizado fue filtrado con papel filtro, del filtrado se tomó una alícuota de 5 mL para realizar una titulación con hidróxido de sodio (0.1 NaOH) usando fenolftaleína como indicador; los resultados fueron expresados como porcentaje de ácido cítrico.

La concentración de fenoles totales se realizó conforme a la metodología de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Se homogenizó un gramo de pulpa con 10 mL de agua destilada con ayuda de un Ultra Turrax (IKA®, USA) y, posteriormente, se centrifugó a 1008 x g durante 15 min a 4 °C. Se tomó 0.5 mL del filtrado y se mezcló con 2.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10), después de 5 min, se adicionaron 2 mL de carbonato de sodio a 7.5% (p/v) y la mezcla se dejó reposar durante 2 h; posteriormente se realizarán las lecturas en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®, USA) a 760 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (EAG) 100g<sup>-1</sup> de peso fresco.

El total de flavonoides se determinaron usando la metodología de Arvouet-Grand et al., (1994). Se pesó 1 g de pulpa y se mezcló con 10 mL de metanol; la mezcla se homogenizó con un Ultra Turrax (IKA®, USA) y posteriormente se filtró. A partir del filtrado, se tomaron 2 mL de muestra y se mezclaron con 2 mL de tricloruro de aluminio a 2 % p/v; dejando reposar por 15 min en la oscuridad, se realizaron lecturas de absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®, USA). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina (EQ) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco.

El contenido de vitamina C se determinó con la metodología colorimétrica propuesta por Jagota y Dani (1982). Se pesó 1 g de muestra y se homogenizó con 4 mL de ácido tricloracético (TCA) al 10 % p/v, el homogenizado se colocó en un baño de hielo durante 5 min, posteriormente se centrifugó a 1008 x g durante 20 min a 4 °C. Para realizar la reacción se utilizaron alícuotas de 0.5 mL del sobrenadante, con 1.5 mL de agua bidestilada y 200 µL del reactivo Folin, se dejó reaccionar en la oscuridad durante 15 min y se leyó la absorbancia a 760 nm. Para estimar el contenido de vitamina C se construyó una curva estándar con ácido ascórbico. La concentración de vitamina C se expresó en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) por 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco.

Para la evaluación de la actividad antioxidante se obtuvieron extractos acuosos, para esto se pesó 1 g de pulpa y se homogenizó con agua destilada (1:10), el homogenizado se centrifugó y del sobrenadante se obtuvieron alícuotas para realizar las diferentes reacciones, que a continuación se describen:

Para el método DPPH (1,1 difenil-2-picrilhidrazil), se utilizó la metodología propuesta por Brand-Williams et al. (1995), con mínimas modificaciones, este método consistió en colocar una celda de cuarzo de 3 mL de una solución metanólica 6.1x10<sup>-5</sup> M (Sigma Aldrich®, USA) y se hicieron reaccionar con 100 µL de solución muestra, la mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min y se leyó a 517 nm el cambio de absorbancia. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco.

Para la metodología por ABTS (ácido 1-2'-azinobis(3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico), se preparó el reactivo ABTS (Sigma-Aldrich®, USA) a 7 mM y persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) a 2.45 Mm y se mezcló 1:1, se dejó reposar durante 16 h. Se diluyó con etanol 20 % hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734 nm. Se agregaron 3 mL de ABTS con 50 µL de extracto y se dejó reaccionar durante 15 min; la absorbancia se leyó a 734 nm. Los

resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco (Re et al., 1999).

La actividad antioxidante por reducción férrica (FRAP). Se realizó mediante la metodología desarrollada por Benzie y Strain (1996): se preparó el reactivo FRAP (TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina 10 mM), FeCl<sub>3</sub> y tampón acetato de sodio (0.3 mM)), se mezcló 1.8 mL de FRAP con 140 µL de agua destilada y 60 µL de extracto, se dejó reaccionar durante 30 min a 37 °C y, transcurrido el tiempo de reacción, se leyó la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) 100 g<sup>-1</sup> peso fresco.

La fuga de electrolitos se evaluó mediante la metodología descrita por Saltveit (2002) con modificaciones. Se cortaron muestras de tejido cilíndrico de 13 mm de diámetro y 7 mm de longitud, en lados opuestos del fruto utilizando un sacabocados de acero inoxidable. Se preparó una solución manitol 0.3 M utilizando agua bidestilada y 35 mL de cada solución fueron colocados dentro de matraces Erlenmeyer. Cada cilindro de tejido se pesó antes y después de 30, 60, 120 y 240 minutos de introducirse en cada solución. Esta prueba para la evaluación de la tonicidad de las diferentes soluciones de manitol se indica que el agua bidestilada era el medio más adecuado para la medición de fuga de electrolitos porque en él, los cilindros del tejido no tenían ninguna ganancia o pérdida neta de peso después de 60 min de inmersión, cuando las medidas de conductividad eléctrica en este medio se volvieron lineales. Además, según lo informado por Saltveit (2002), se confirmó que los cilindros de tejido cortado deben ser lavados con agua bidestilada inmediatamente después de ser extirpados para evitar un aumento en la conductividad eléctrica debido a la rápida oxidación del tejido. Por lo tanto, para evaluar la fuga de electrolitos, un cilindro de tejido se sumergió en agua bidestilada y se midió la conductividad eléctrica después de 120 min utilizando un medidor de conductividad (LAQUAtwin EC-33, Horiba®, Japón). Los resultados se expresaron como un porcentaje de conductividad eléctrica con respecto a un grupo control de cilindros de tejido obtenidos a partir de cada repetición y tratamiento. Estos cilindros de control se congelaron y descongelaron antes de la prueba y se consideró que sus conductividades eran del 100 %.

Para determinar la actividad enzimática y proteína soluble, se preparó polvo de acetona con las muestras, donde a partir de 5 g de pulpa se homogenizaron en 10 mL de acetona fría con un Ultra Turrax (IKA®, USA), posteriormente el homogenizado se filtró en un embudo de kitasato con papel filtro al vacío; y este proceso se repitió 3-4 veces hasta que el polvo

quedara muy fino. Finalmente, el polvo se dejó reposar 30 min para dejar evaporar totalmente la acetona.

#### Polvo de acetona

El polvo de acetona se obtuvo a partir de 5 g de pulpa, que se homogenizaron en 10 mL de acetona fría con un Ultra Turrax (IKA®, USA), posteriormente la mezcla se filtró en un embudo de kitasato con papel filtro; y este proceso se repitió 3-4 veces hasta que el polvo quedara muy fino y sin pigmentos. Finalmente, el polvo se dejó durante 30 min a temperatura ambiente para dejar evaporar totalmente la acetona y posteriormente se almaceno en bolsas de plástico a -20 °C.

#### Proteína soluble

Se determinó por el método de Bradford (1976). Para lo cual, se homogenizaron 0.1 g de polvo de acetona con 5 mL de Tris HCl 0.1 M (pH 7.1), en frío. La mezcla se centrifugó a 1008 x g por 15 min (4 °C). Se tomaron 0.1 mL del sobrenadante y se le adicionaron 5 mL de la solución Coomassie Blue, se agitó y se registró la absorbancia a 595 nm en el espectrofotómetro. La cuantificación se hizo mediante una curva de calibración con albúmina de bovino.

#### Catalasa (EC. 1.11.1.6; CAT)

La CAT se extrajo a partir de polvo de acetona: 0.1 g se homogenizó con 5 mL de Tris HCl (0.1 M, pH 8.5) frío, en un homogeneizador de tejidos (IKA®, USA). La mezcla se centrifugó a 1008 x g por 15 min en una centrífuga refrigerada a 4 °C. La actividad CAT, en una celda de cuarzo, se colocaron 3 mL de amortiguador Tris-HCl, (10 mM pH 8.5) y 0.1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.88 %. La reacción se inició al adicionar 0.1 mL del sobrenadante y se observó el cambio en absorbancia a 240 nm, y la actividad enzimática se reportó como U g<sup>-1</sup> de peso fresco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la descomposición de 1 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### Superóxido dismutasa (1.15.1.1; SOD)

A 0.1 g de polvo de acetona, se adicionaron 5 mL de amortiguador de fosfatos frío (pH de 7.8) homogenizado por 40 s. La mezcla se centrifugó a 1008 x g durante por 20 min a 4 °C. El sobrenadante se utilizó para el ensayo enzimático propuesto por Beyer y Fridovich (1987), en el cual se mezclaron, 27 mL de buffer fosfatos 0.05 (pH 7.8 + 0.1 mM de EDTA), 1.5 mL

de L-metionina ( $30 \text{ mg mL}^{-1}$ ), 1 mL de nitro blue tetrazolium ( $1.41 \text{ mg mL}^{-1}$ ) y 0.75 mL de Trion X-100 al 1 %. A 3 mL de esta mezcla de reacción se adicionaron 0.03 mL de riboflavina ( $4.4 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ ) y 0.4 mL de sobrenadante; la mezcla se iluminó por 7 min con luz fluorescente de 20 watts, posteriormente se determinó la absorbancia a 560 nm. El incremento en absorbancia debido a la formación de “Nitro Blue Tetrazolium formazan” por unidad de tiempo equivale a la velocidad de reacción; y la absorbancia en ausencia de SOD y en presencia de varias cantidades de SOD se utilizó para determinar el número de unidades/mL de SOD en la solución (Stauffer, 1989). Una unidad de SOD es igual a la cantidad de sobrenadante que fotoinhibe en 50 % la formación de “Nitro Blue Tetrazolium formazan” (Giannopolitis y Ries, 1977).

#### Polifenoloxidasasa (EC. 1.14.18.1; PFO)

La actividad enzimática de la PFO se evaluó por el método propuesto por Lamikanra (1995) con modificaciones. La enzima se extrajo a partir de 0.1 g de polvo de acetona con 5 mL de Tris-HCl frío, (100 mM, pH 7.1). Se mezclaron en un homogeneizador de tejidos durante 30 s; posteriormente la mezcla se centrifugó por 20 min a  $1008 \times g$  a  $4^\circ\text{C}$ . Con esta mezcla se evaluó el cambio de absorbancia a 460 nm en el espectrofotómetro tomando lecturas durante 3 min. Para el ensayo de la actividad enzimática se emplearon 3.0 mL de catecol 60 mM disuelto en un buffer Tris-HCl (100 mM, pH 7.1) y 0.2 mL del sobrenadante. La actividad enzimática se reporta como  $\text{U g}^{-1}$  de peso seco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la formación de  $1 \mu\text{mol}$  de o-benzoquinona  $\text{min}^{-1}$ .

#### Peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD)

La extracción de POD fue similar a PFO y el ensayo se hizo de acuerdo con el método Flurkey y Jen (1978), con las siguientes modificaciones: la mezcla de ensayo tuvo un volumen total de 3 mL, para lo cual se mezclaron 2.6 mL buffer Tris-HCl 100 mM (pH 7.1), 0.25 mL de guayacol 0.1 M, 0.1 mL de peróxido de hidrógeno 0.25 % y 0.05 mL del sobrenadante; se determinó el cambio de absorbancia a 470 nm, tomando lecturas durante 3 min. La actividad enzimática se reportó como  $\text{U g}^{-1}$  de peso seco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la formación de  $1 \mu\text{mol}$  de tetraguaicol  $\text{min}^{-1}$ .

Los datos obtenidos fueron sujetos a análisis de varianza y comparación de medias por el método de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ). Se presentan gráficas y cuadros del comportamiento de las

variables evaluadas (media  $\pm$  error estándar). Utilizando el software Sigma Plot® (Systat Software, San Jose, CA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los frutos testigo almacenados a  $22 \pm 2$  °C, 60 % HR presentaron el pico climatérico a los 6 d después de la cosecha (Figura 2 A). Este comportamiento fue similar a lo reportado por Alique et al. (2009) en chirimoyas ‘Fino de Jete’ provenientes de España, en donde observaron un solo pico climatérico al tercer día de almacenamiento a 20 °C, Yonemoto et al. (2002) reportan que la variedad ‘Bay Ott’ mostró un máximo de producción e CO<sub>2</sub> a los 5 d después de la cosecha. Los frutos refrigerados a 11 °C por 8 d mostraron una respiración similar que los frutos testigo ( $P \leq 0.05$ ; Figura 2 A). En los frutos almacenados a 11 °C por 16 d y a 4 °C por 8 y 16 d la respiración fue significativamente menor al ser expuestos al ambiente y se mantuvieron así durante el periodo de evaluación ( $P \leq 0.05$ ; Figura 2 A). Estos resultados son diferentes a los reportados en chirimoyas ‘Fino de Jete’ donde después de ser refrigerados a 8 °C por 3, 6 y 9 días la respiración se incrementó al ser transferidos a 20 °C (Alique y Zamorano, 2000). Liu et al. (2016) determinaron que el máximo climaterio ocurre en la refrigeración a 15 °C, es decir que a esta temperatura no se detiene este proceso.

La producción de etileno en los frutos testigo fue detectada a los 6 d después de la cosecha, alcanzado su máxima producción a los 8 d después de la cosecha (Figura 2 B). Diversos autores reportan que la máxima producción de etileno ocurre entre los dos máximos de producción de etileno (Brown et al., 1988; Alique y Zamorano, 2000), lo cual no se pudo confirmar en el presente trabajo. La producción de etileno en los frutos refrigerados a 11 y 4 °C por 8 y 16 d se incrementó al transferir los frutos al ambiente sin detectar diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en comparación con los frutos testigo y entre tratamientos (Figura 2 B). Alique y Zamorano (2000) reportan que después de almacenar frutos de chirimoya ‘Fino de Jete’ cosechados en tres fechas durante la temporada de cosecha y almacenadas a 8 °C por 3, 6 y 9 d y posteriormente transferirlos a 20 °C, la producción de etileno se incrementó significativamente. El posterior incremento en la producción de etileno después del almacenamiento a bajas temperaturas seguras se atribuye a una acumulación de ACC y etileno (Lahoz et al., 1993), el daño por frío en chirimoya sugiere la inhibición significativa en la producción de etileno (Alique et al., 1994; Yonemoto et al., 2002).

Los frutos testigo al llegar a su madurez de consumo mostraron pérdidas de peso de 7.16 y 11.59 % (5 y 8 d) en temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C, 60 % HR) (Figura 2 C). En frutos de



chirimoya cv. 'Madeira' se reportaron pérdidas de 9 % después de cinco días (20-22 °C) (Cordeiro et al., 2013) (Figura 2 C). En guanábana, Lima et al. (2006) reportan pérdidas de peso acumulada de 5.1% después de 5 d ( $26.3 \pm 0.6$  °C,  $88 \pm 1.2$  % HR) cultivadas en Brasil.

Los frutos refrigerados a 11 °C por 8 y 16 d tuvieron entre 8 y 10 % de pérdida de peso a los 5 y 7 d de salir de la baja temperatura; mientras que, los frutos almacenados a 4 °C por 8 y 16 d mostraron entre 12 y 13 % de pérdida de peso acumulada; sin detectarse diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 2 C). Alique et al. (1994) reportan que se obtuvieron mayores pérdidas de peso en los frutos refrigerados a 10 y 6 °C por 9 d, en comparación con los frutos almacenados a 8 °C por el mismo periodo de tiempo.

El color de la epidermis de los frutos testigo fue tendiente al verde ( $h= 100.2$ ), con baja luminosidad ( $L^* =44.3$ ) y opacos ( $C^* =23.9$ ) al inicio de la evaluación (Figura 1, 2 D-F). Tres días después la luminosidad se incrementó hasta  $L^* =50.6$ , la cromaticidad hasta  $C^* =26.6$  en tanto que el matiz se mantuvo similar ( $h= 100.2$ ). Finalmente, a los 8 d de evaluación el color cambió a un verde amarillento opaco con baja luminosidad ( $h= 94.2$ ,  $L^* =45.4$  y  $C^* =20.0$ ) (Figura 1, 2 D-F). En la variedad 'Cumbe' el color en la cosecha se reporta como amarilla clara ( $h= 103.8 - 107.8$ ,  $C^*= 30 - 42.8$ ) (Feicán et al., 2019). Por otra parte, Berger y Galleti (2005) indican que durante la maduración el color de las chirimoyas tiene pocos cambios en los parámetros de color, solo al final alcanzar la madurez de consumo se observa un oscurecimiento que hace poco atractivo el fruto al consumidor; pero sugieren que en las variedades 'Cabildo' y 'Nogales' los valores de  $L^*$  y  $C^*$  deben ser superiores a 55 y 36 cuando se cosechen, para que tengan una adecuada maduración. Los frutos refrigerados a 11 °C por 8 y 16 d, al ser expuestos a temperatura ambiente mostraron un similar comportamiento que los frutos testigo en todos los parámetros de color ( $P \leq 0.05$ ). Por otra parte, los frutos refrigerados a 4 °C por 8 y 16 d, al transferirlos al ambiente presentaron síntomas de daños por frío, variables como la cromaticidad y el matiz mostraron valores significativamente menores ( $P \leq 0.05$ ) comparados con el testigo (Figura 1, 2 E-F), es decir se observó oscurecimiento en la epidermis, el cual se intensificó al exponer a los frutos al ambiente, esta sintomatología de daños por frío se ha reportado en otras Annonas por Castillo et al. (2005).



Figura 1. Apariencia de frutos de chirimoya expuestos a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C, 60 % HR) durante 8 días, con previa refrigeración a:  $11 \pm 2$  °C por 8 d (85% HR),  $4 \pm 2$  °C por 16 d (85% HR),  $11 \pm 2$  °C por 16 d (85% HR),  $9 \pm 2$  °C por 16 d (85% HR), Frutos testigo ( $22 \pm 2$  °C, 60 % HR).

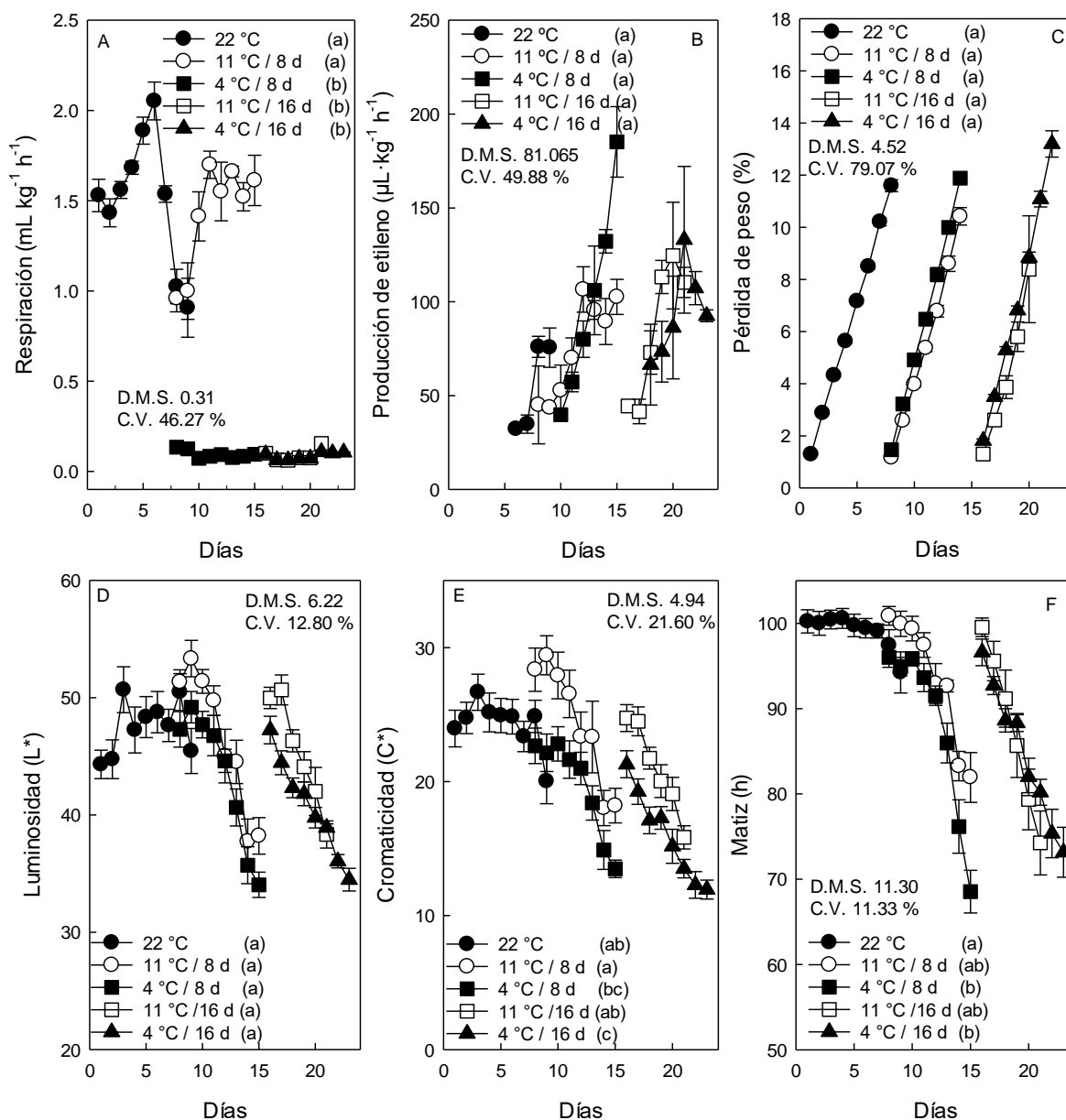


Figura 2. Cambios en respiración (A), producción de etileno (B), pérdida de peso (C) y parámetros de color: luminosidad (D), cromaticidad (E) y matiz (F) en epidermis de frutos de chirimoya almacenados a temperatura ambiente (22 °C) o bajo refrigeración 4 o 11 °C por 8 o 16 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa

La firmeza de los frutos testigo, descendió 20.61 % 4 d después de la cosecha, y un 97.49 % después de 8 d de la cosecha (Figura 3 A). En chirimoyas cv. ‘Concha Lisa’, ‘Bronceada’ y

'Madeira' la firmeza es de 131.0, 125.0 y 63.3 N en la cosecha; después de 4 d la firmeza disminuye a 92 % en las primeras dos variedades, y a 95.7 % en la tercera variedad (Cordeiro et al., 2013; Manríquez et al., 2014), lo que sugiere una maduración más acelerada (5-6 d) en estas variedades provenientes de Chile y Portugal. Los frutos almacenados a 11 °C por 8 d mostraron una firmeza de 23.4 N al salir del almacenamiento, después de 4 d la firmeza disminuyó en 99.4 % y mantuvo valores similares hasta la evaluación del día 8 (Figura 3 A). Los frutos almacenados a 11 °C por 16 d tuvieron una firmeza significativamente menor que el resto de los tratamientos (0.5 N al salir del almacenamiento), lo que sugiere que esta temperatura no detuvo el proceso de maduración (Figura 3 A). El almacenamiento a 11 °C indicó que los frutos maduraron de manera normal, se observó una pulpa blanca y cremosa con sabor y aroma característicos. Los frutos de los tratamientos de 4 °C por 8 y 16 d, al ser removidos de las bajas temperaturas tuvieron una firmeza entre 16 y 21 N, y cuatro días después tuvieron una pérdida de la firmeza de 99 %, sin detectar diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigos. En chirimoyas cv. 'Fino de Jete' con refrigeración de 10 °C por 6 d, y a 8 °C por 5 d, han logrado madurar satisfactoriamente al ser trasladados a temperatura ambiente (Alique et al., 1994).

Los sólidos solubles totales en los frutos testigo registraron 7.1 °Brix el día de la cosecha, alcanzando 21 °Brix en la madurez de consumo (Figura 3 B). Manríquez et al. (2014) reportaron en 'Concha Lisa' y 'Bronceada', entre 8 y 10 °Brix el día de cosecha, cuatro días después alcanzaron valores entre 18 y 20 °Brix. Los frutos almacenados a 11 °C por 8 y 16 d, alcanzaron entre 22 y 24 °Brix después de 8 y 6 d a temperatura ambiente, los frutos con almacenados por 16 d mostraron la mayor acumulación de sólidos solubles totales. Los frutos almacenados a 4 °C por 8 y 16 d, alcanzaron valores promedio de 21 y 24 °Brix después de 8 d de salir del almacenamiento sin detectar diferencias significativas con respecto a los frutos testigo ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 3 B). Estos resultados nos indican que estas temperaturas no afectaron la acumulación de SST, mientras que otros estudios detectaron daños por frío en frutos de chirimoya provenientes de Málaga España, al ser transferidos a 22 °C con previa refrigeración a 1 °C por 11 y 15 d, los contenidos de SST fueron significativamente más bajos que el grupo control (22 °C) (Gutiérrez et al., 1994).

La acidez de los frutos testigo se incrementó durante la maduración llegando hasta 0.36 % en madurez comercial (Figura 3 C). Manríquez et al. (2014) reportan en frutos de chirimoya cv. 'Concha Lisa' y 'Bronceada' valores que superan 0.6 % de AT después de 4-5 d a 20 °C. Diversos autores indican que el ácido dominante en la chirimoya depende del cultivar y de

la madurez del fruto; y mencionan que el ácido cítrico y el málico son los ácidos orgánicos dominantes en la chirimoya (Alike y Zamorano, 2000; Manríquez et al., 2014). Los frutos almacenados a 11 °C por 8 y 16 d al ser expuestos a temperatura ambiente alcanzaron entre 0.34 y 0.33 % y los frutos refrigerados a 4 °C por 8 y 16 d obtuvieron valores de 0.32 %, mostrando un comportamiento similar a los frutos testigo, estos resultados nos indican que las bajas temperaturas, durante estos tiempos de almacenamiento no afectaron la acumulación de la acidez titulable de los frutos de chirimoya después de transferirlos al ambiente.

El contenido de fenoles totales en los frutos testigo disminuyó constantemente de 44 a 28 mg EAG 100g<sup>-1</sup> en 8 d (Figura 3 D). Albuquerque et al. (2016) reportaron en pulpa de cuatro variedades de chirimoya concentraciones de entre 3 y 12 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>, lo que es menor a lo determinado en la variedad 'Cuadrada'. Jiménez et al., (2017) indican que el contenido de fenoles totales disminuye después de 4 d al ambiente (22 °C)

Al salir del almacenamiento los frutos almacenados a 4 o 11 °C por 8 d, la concentración de fenoles fue entre 37 y 39 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> y durante la maduración a temperatura ambiente disminuyeron hasta 24 o 30 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>(Figura 3 D). Por otra parte, en los frutos almacenados a 4 o 11 °C por 16 d se cuantificaron 44 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>, disminuyendo hasta 36.5 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en los frutos almacenados a 11 °C, en tanto que en los frutos almacenados a 11 °C los fenoles se mantuvieron en valores similares a cuando se transfirieron al ambiente (Figura 3 D).

La concentración de los flavonoides mostró una tendencia similar a los fenoles totales, donde los frutos testigo y los de refrigeración a 4 o 11 °C por 8 d disminuyeron constantemente el contenido de flavonoides al ser expuestos al ambiente. En los frutos refrigerados a 4 o 11 °C por 16 d los flavonoides totales mostraron valores entre 14 y 16 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>, al salir a condiciones del ambiente y manteniéndose en valores similares durante su maduración (Figura 3 E). Tsantili et al. (2010) indican que en duraznos el daño por frío ocasiona una disminución en la concentración de los flavonoides.

En los frutos testigo y los frutos refrigerados a 4 o 11 °C por 8 d el contenido de vitamina C disminuyó constantemente durante la maduración (Figura 3 F). Existen reportes en otros frutos como kiwi y guayaba que el almacenamiento a bajas temperaturas y posterior transferencia al ambiente son efectivo para disminuir la pérdida en el contenido de vitamina C (Tavarini et al., 2008; Suárez et al., 2009). En los frutos almacenados a 4 o 11 °C por 16

d, la disminución de la vitamina C fue más evidente al salir del almacenamiento (Figura 3 F) se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Esta reducción en la síntesis de la vitamina C podría estar relacionada el almacenamiento prolongado en los frutos de chirimoya que pudieron sufrir daños por frío.

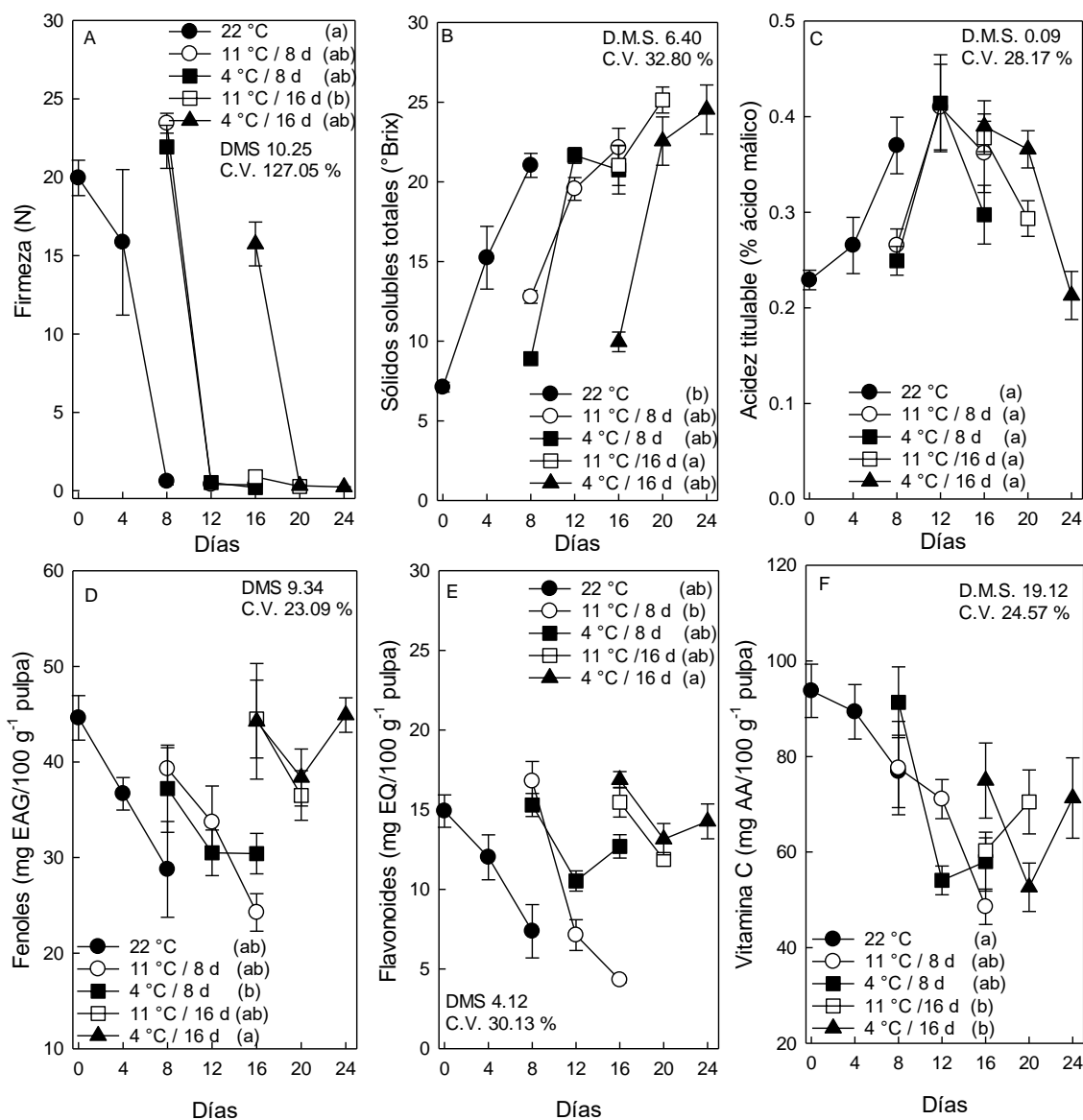


Figura 3. Firmeza (A), Sólidos solubles totales (B), acidez titulable (C), fenoles (D) flavonoides (E) y vitamina C (F) en frutos de chirimoya almacenados a temperatura ambiente (22 °C) o bajo refrigeración 4 o 11 °C por 8 o 16 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

Los frutos testigo mostraron una disminución en la actividad antioxidante DPPH con valores de 15.46 a 12.36 mg EAA/100 g<sup>-1</sup> después de los primeros 4 d (Figura 4 A). Los frutos almacenados por 8 d a 4 o 11 °C mantuvieron la actividad antioxidante entre 16.5 y 24.3 mg EAA/100 g<sup>-1</sup> durante su maduración a temperatura ambiente (Figura 4 A) Mientras que los frutos almacenados por 16 d mostraron mayor actividad al salir de la refrigeración 26 mg EAA/100 g<sup>-1</sup>, aunque posteriormente disminuyeron su actividad antioxidante 18.6 y 17.8 mg EAA/100 g<sup>-1</sup>. Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) se presentaron en el tratamiento de refrigeración de 11 °C, comparado con el tratamiento testigo (Figura 4 A). Se ha reportado que la disminución en la actividad antioxidante DPPH podría estar relacionada con el descenso en el contenido de fenoles totales que mostraron los frutos en el presente estudio (Vijaya et al., 2010).

La actividad antioxidante evaluada por ABTS mostró una disminución constante en los frutos testigo y los almacenados a 11 °C por 8 d una vez transferidos a temperatura ambiente (Figura 4 A). Huang et al. (2007) indican que la disminución de la actividad antioxidante (ABTS) puede estar relacionada con la disminución de los compuestos fenólicos hacia el final de la maduración. Esto es similar al presente estudio donde se observó una disminución constante de los compuestos fenólicos durante la maduración de los frutos. Los frutos refrigerados a 4 °C por 8 d disminuyeron y posteriormente incrementaron su actividad antioxidante al transferirlos a temperatura ambiente (Figura 4 B). Finalmente, los frutos almacenados por 16 d a 11 y 4 °C la actividad antioxidante por ABTS se incrementó o mantuvo durante la maduración a temperatura ambiente (Figura 4 B).

La actividad evaluada por FRAP en los frutos testigo se incrementó de 105 mg EAA 100g<sup>-1</sup> al inicio de la evaluación hasta 137 - 138 mg EAA 100g<sup>-1</sup> a los 4 y 8 d después de la cosecha (Figura 4 C). Loizzo et al. (2012) indican que la actividad antioxidante por el método de FRAP en frutos de chirimoya provenientes de Italia es de  $68.3 \pm 3.5 \mu\text{M Fe g}^{-1}$ . La actividad antioxidante disminuyó en los frutos almacenados a 4 o 11 °C por 8 d de entre 96 – 105 mg EAA 100g<sup>-1</sup> al salir del almacenamiento a entre 70 - 80 mg EAA 100g<sup>-1</sup> después de 8 d a temperatura ambiente (Figura 4 C). Los frutos refrigerados a 11 °C por 16 d la actividad de antioxidante disminuyó al exponerse al ambiente (Figura 4 C). Finalmente, los frutos refrigerados a 4 °C por 16 d fueron significativamente mayores en su actividad antioxidante por FRAP, manteniéndose entre 137 y 142 mg EAA 100g<sup>-1</sup> (Figura 4 C). La actividad del radical FRAP puede relacionarse con la alta actividad metabólica de la maduración y el período climatérico, la acción del ácido ascórbico, que presenta alta concentración días

después de la cosecha, además de la disminución o el aumento de los compuestos fenólicos (Huang et al., 2007).

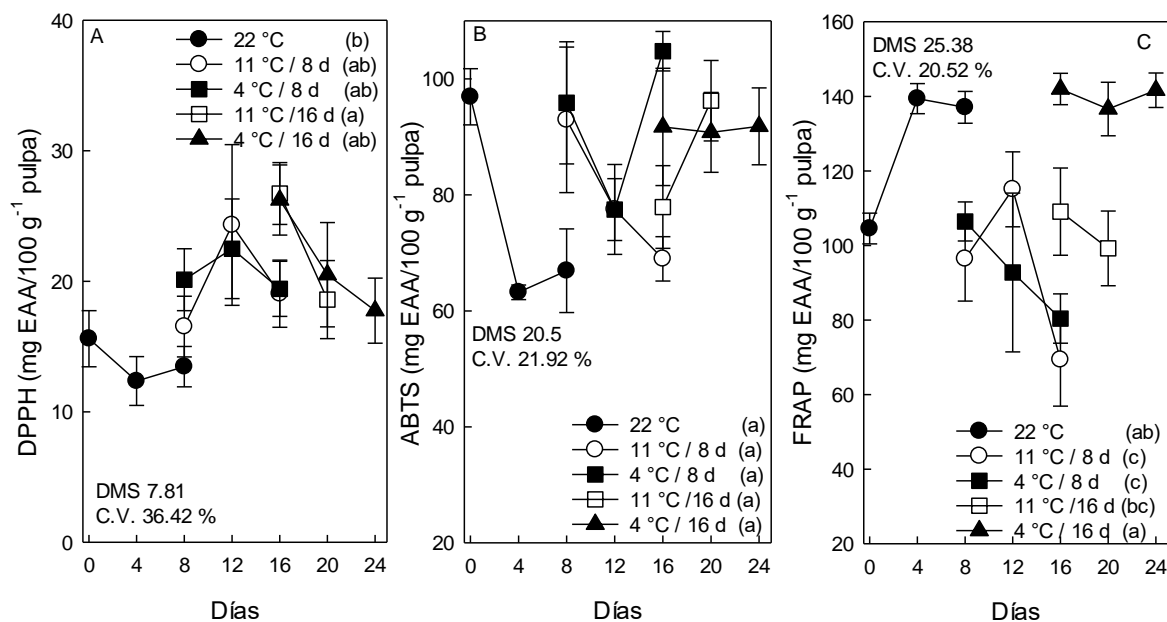


Figura 4. Actividad antioxidante DPPH (A), ABTS (B) y FRAP (C) en frutos de chirimoya almacenados a temperatura ambiente (22 °C) o bajo refrigeración 4 o 11 °C por 8 o 16 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

La proteína soluble de los frutos testigo disminuyó de 101 a 81 mg g<sup>-1</sup> de peso seco (p.s.), posteriormente los valores se incrementaron a 95 mg g<sup>-1</sup> p.s. después de 8 d (Figura 5 A). En los frutos almacenados por 8 d a 11 °C el contenido de proteína soluble se mantuvo entre 72 y 82 mg g<sup>-1</sup> p.s. durante la maduración a temperatura ambiente, en tanto que los frutos almacenados a 4 °C por 8 d, la proteína soluble disminuyó de 72 mg g<sup>-1</sup> de p.s. a 50 – 53 mg g<sup>-1</sup> p.s. después de 4 y 8 d (Figura 5 A). En los frutos almacenados por 16 d a 4 o 11 °C la proteína soluble se mantuvo entre 68 y 72 mg g<sup>-1</sup> p.s. al salir del almacenamiento, posteriormente disminuyó hasta 36.4 – 54 mg g<sup>-1</sup> p.s. (Figura 5 A), se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos de refrigeración y los frutos testigo. Reportes en guanábana indica que el contenido de proteína soluble disminuye durante el proceso de maduración (Balois-Morales et al., 2019). Las temperaturas más bajas empleadas en el presente estudio afectaron el contenido de proteína de los frutos de chirimoya que coincide



con la aparición de daños por frío bajos después de someterlos a estas bajas temperaturas (4 °C).

La actividad de catalasa disminuyó significativamente en los frutos testigo durante su maduración (Figura 5 B). Similar comportamiento se observó en los frutos almacenados a 11 °C por 8 o 16 d, donde la actividad disminuyó o se mantuvo constante una vez transferidos a temperatura ambiente (Figura 5 B). Un comportamiento inverso se observó en los frutos almacenados a 4 °C por 8 y 16 d, donde la actividad de catalasa se incrementó significativamente, con mayor evidencia en los frutos almacenados por un periodo mayor (Figura 5 B). Balois-Morales et al. (2019) reportan un incremento en la actividad de catalasa durante la maduración de dos selecciones de guanábana. Sin embargo, diferentes autores indican que la actividad de CAT es diversa durante la maduración, ya que se incrementa en jitomates y disminuye en mangos y naranjas; este comportamiento se debe a la especie y a la diversidad en actividad de las isoenzimas (Resende et al., 2012). La maduración es un proceso que finaliza en la muerte celular, donde el incremento de las especies (ROS) reactivas de oxígeno es un proceso importante, por tal razón la disminución de las enzimas que controlan las ROS.

Los frutos testigo y los frutos almacenados por 8 d a 11 y 4 °C, presentaron un incremento y posterior descenso en la actividad de SOD durante su maduración a temperatura ambiente, no se encontraron diferencias significativas. Los frutos con almacenamiento de 16 d a 11 y 4 °C, mostraron un incremento constante en la actividad, al ser expuestos al ambiente; sólo los frutos refrigerados a 4 °C mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo (Figura 5 C). Durante la maduración ocurren procesos bioquímicos y fisiológicos que incluyen procesos oxidativos; estos son activados por enzimas como la SOD. Al llegar la senescencia la actividad de SOD y CAT de los frutos disminuyen, mientras que el  $H_2O_2$  son acumulados hasta niveles tóxicos para las células y desarrollan daños irreversibles en los tejidos (Masia 1998). Por lo que, si al menos una de las enzimas está activa, podrían retardarse los daños de la senescencia en los frutos.

Los frutos testigo y los frutos almacenados por 8 d a 11 °C, presentaron un incremento y posterior descenso en la actividad de PFO durante su maduración a temperatura ambiente (Figura 5 D). Los almacenados por 8 d a 4 °C y por 16 d a 11 y 4 °C, mostraron un incremento constante en la actividad de PFO al ser expuestos al ambiente (Figura 5 E). Kravayan y Aydemir (2001) mencionan que en hojas de menta (*Mentha piperita* L.) que la actividad

PFO es estable a bajas temperaturas. El tratamiento de refrigeración de 4 °C por 16 d, mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al tratamiento testigo, probablemente debido a que a estas condiciones de almacenamiento se indujo un estrés oxidativo que causó la desestabilización de la enzima PFO incrementando su actividad.

Los frutos testigo y los frutos almacenados por 16 d a 11 y 4 °C, aumentaron la actividad de la enzima POD durante su maduración a temperatura ambiente; mientras que, los frutos almacenados por 8 d a 11 y 4 °C presentaron un incremento y una posterior disminución de la enzima POD durante su maduración al ambiente. Sólo los frutos expuestos a 4 °C por 16 mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo. (Figura 5 D). Durante su maduración al ambiente, los frutos con tratamientos de refrigeración a 4 °C mostraron alta actividad de POD, probablemente a que se activaron los procesos de degradación del peróxido en donde el pardeamiento y la necrosis fueron evidentes. Balois et al., (2007) señalan en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) refrigerados a 3, 7 y 11 °C, un incremento en la actividad de POD al transferir los frutos al ambiente después de cuatro días ( $22 \pm 1$  °C), lo cual coincide con los resultados del presente experimento. Por otra parte, se ha reportado que, bajo condiciones de temperaturas más bajas, ocurre una menor actividad de POD (Alia et al., 2005) (Martínez et al., 2013).

La fuga de electrolitos inicial en los frutos testigo fue de 3.85 %, posteriormente los valores incrementaron a 4.08 % y disminuyeron a 3.78 % (Figura 5 F). Los frutos almacenados en bajas temperaturas obtuvieron una mayor fuga de electrolitos al salir de la refrigeración, excepto los frutos refrigerados a 11°C por 16 d posteriormente en todos los tratamientos la fuga de electrolitos comenzó a disminuir. Se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en los frutos refrigerados a 4 °C por 16 d, con una menor fuga de electrolitos con respecto a los frutos testigo, la disminución en la fuga de electrolitos al exponer a los frutos al ambiente fue distinto a lo reportado por Rodríguez et al. (2015) donde observaron un aumento en la fuga de electrolitos en cladodios de nopal refrigerados a 4 °C por 7, 14 y 21 días, que coincidió con la aparición de síntomas de daño por frío como picado y pardeamiento. Los presentes resultados se podrían deber a que durante la refrigeración se presentó la máxima fuga de iones que afectaron la permeabilidad e integridad de las membranas celulares, seguido de una disminución en la fuga de electrolitos de los frutos que al retirarlos de las bajas temperaturas ya expresaban síntomas de daños por frío (Figura 1, 5 F).

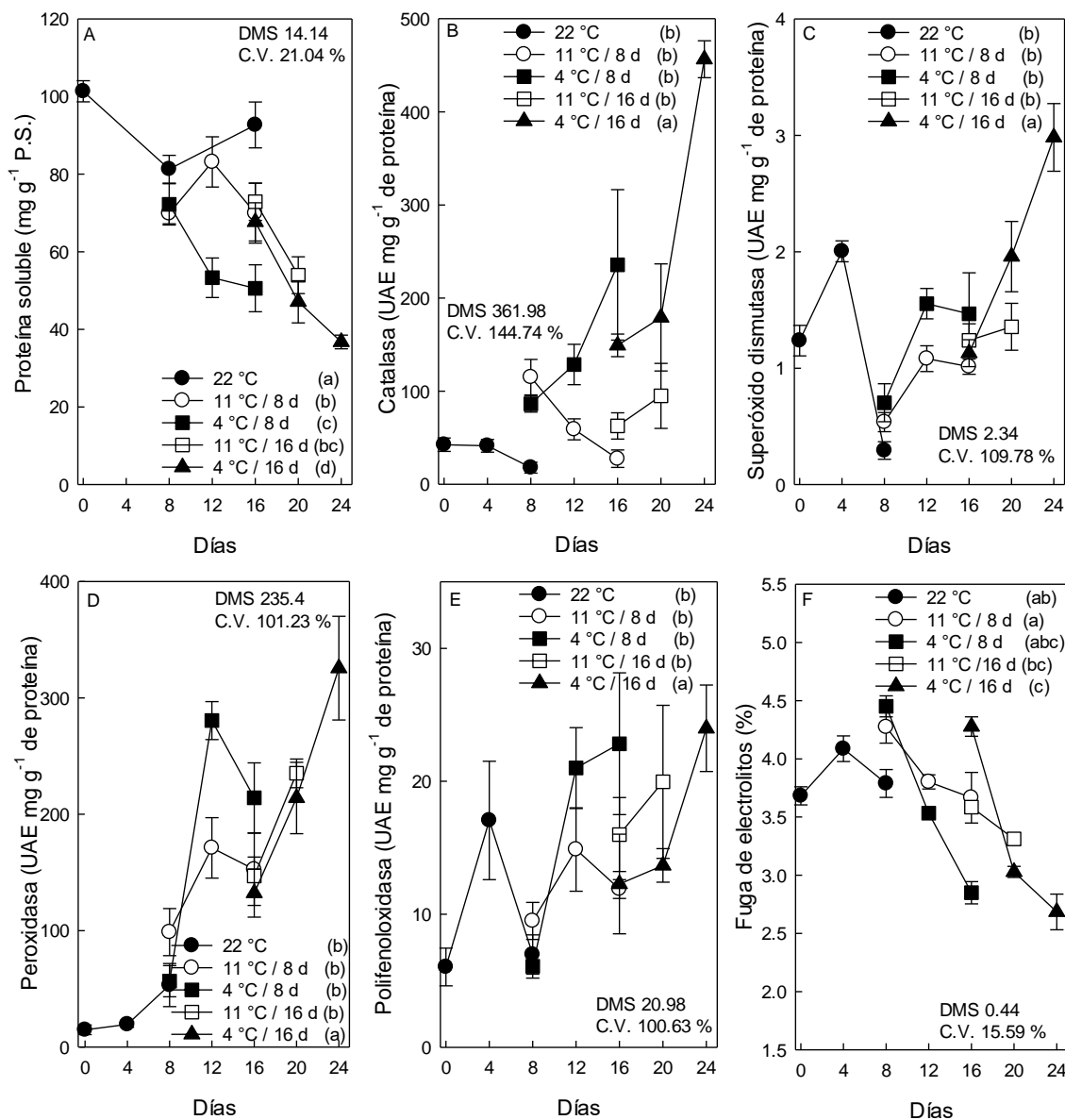


Figura 5. Proteína soluble (A), catalasa (B), superóxido dismutasa (C), peroxidasa (D) polifenoloxidasas (E), fuga de electrolitos (F), en frutos de chirimoya almacenados a temperatura ambiente ( $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) o bajo refrigeración  $4$  o  $11\text{ }^{\circ}\text{C}$  por  $8$  o  $16$  días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

## CONCLUSIÓN

La refrigeración a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  afecta negativamente algunos procesos de maduración en la chirimoya ‘Cuadrada’, asociados a una disminución de la respiración, poco cambio en los parámetros de color. El metabolismo de la vitamina C es retrasado. Se observaron incrementos en las actividades antioxidantes determinadas por DPPH; además de un

incremento en las actividades enzimáticas como CAT, SOD, POD y PFO, en los frutos almacenados durante 16 d.

## LITERATURA CITADA

- Albuquerque, T. G., Santos, F., Sanches-Silva, A., Oliveira, M. B., Bento, A.C., and Costa, H.S. (2016). Nutritional and phytochemical composition of *Annona cherimola* Mill. fruits and by-products: potential health benefits. *Food Chemistry*, 193:187-195.
- Alia, T. I.; Colinas L. M. T.; Martínez D. M. T.; Soto H. R. M. (2005). Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). II. cambios en fenoles totales y actividad enzimática. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Texcoco, p. 25-32.
- Alique R., Luna, P., Hernández, T., y Martínez, M. A. 2009. Residual effect of atomised water vapour treatment in carbohydrate metabolism during ripening of cv 'Fino de Jete' cherimoya fruit. *European Food Research and Technology*, 229 (4), 661-669.
- Alique, R., J. P. Zamorano, M. L. Calvo, C. Merodio, and J. De la Plaza. 1994. Tolerance of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) to cold storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119:529-528.
- Alique, R., & Zamorano, J. P. 2000. Influence of Harvest Date within the Season and Cold Storage on Cherimoya Fruit Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4209 – 4216. doi:10.1021/jf9913561
- Andrés, A. J., L. Andrés H. (2011). *Biología, diversidad, conservación y uso sostenible de los recursos genéticos de Annonaceae en México*. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Texcoco, Estado de México. 141 p.
- Apel K, Hirt H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 55: 373–399.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. and Legret, P. (1994). Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituents. *J. Pharmacie Belgique* 49(6), 462-468.
- Balois-Morales, R.; Colinas-León, M. T.; Peña-Valdivia, C. B.; Chávez-Franco, S. H.; Alia-Tejagal, I. (2007). Sistema de estrés oxidativo, fenolespolifenol oxidasa-peroxidasa,

de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados con frío. Revista Chapingo Serie Horticultura, Texcoco, p.115-120.

Balois-Morales, R., Jiménez-Zurita, J.O., Alia-Tejacal, I., López-Guzmán, G.G., Palomino-Hermosillo, Y.A. and Sánchez-Herrera, L.M. (2019). Antioxidant enzymes and antioxidant activity in two soursop selections (*Annona muricata* L.) from Nayarit, Mexico stored at 15 °C. Rev. Bras. Frutic., 41(1), e-083.

Benzie, I. and Strain, J. (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power: The FRAP Assay”. Analytical Biochemistry, 239, 70-76.

Berger, H., and Galleti, L. (2005). Color as a harvest index for cherimoya. Acta Horticulturae 682: 1471-1474.

Beyer F W, I Fridovich (1987) Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Analyt. Biochem. 161:559-566.

Bradford M M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analit. Biochem. 72:248-254.

Brand, W. W., M. E. Culivier, and C. Berset. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Sci. Technol. 28: 25-30.

Brown, B.I., Wong, L.S., George, A.P., and Nissen R.J. (1988). Comparative studies on the postharvest physiology of fruit from different species of *Annona* (custard apple). Journal of Horticultural Science 63(3): 521-528.

Campos-Vargas, R., Defilippi, B.G., Romero, P., Valdés, H., Robledo, P., and Prieto, H. 2008. Effect of harvest time and L-cysteine as an antioxidant on flesh browning of fresh-cut cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). Chilean Journal of Agricultural Research, 68(3):217–227.

Campos-Vargas, R. and Olmedo, P. (2020). Subtropical fruits: Cherimoyas. In: Controlled and Modified Atmospheres for Fresh and Fresh-cut Produce, Gil, M.I. and Beaudry, R. (Eds.) pp: 399-409. Academic Press.

Castillo-Ánimas, D; Varela-Hernández, G; Pérez-Salvador B. R; Pelayo-Zaldívar, C. (2005). Daños por frío en guanábana. Índice de corte y tratamientos postcosecha. Revista Chapingo Serie Horticultura. XI. 51-57.

- Cordeiro, N., Sousa, L., Freitas, N., & Gouveia, M. (2013). Changes in the mesocarp of *Annona cherimola* Mill. 'Madeira' during postharvest ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 179-184.
- Del Árbol, J.T., Pulido, R.P., Burgos, M.J.G., Gálvez, A., and López, R.L. (2016). Inactivation of leuconostocs in cherimoya pulp by high hydrostatic pressure treatments applied singly or in combination with enterocin AS-48. *LWT - Food Science and Technology*, 65:1054–1058.
- Domínguez, P. J., A. Castañeda V. 2002. Guía Técnica para la Producción de Chirimoya. Fundación Salvador Sánchez Colín. 46 p.
- Feicán, C., Vanegas, I., Encalada, C., Brito, B., Moreira, R., Viera, W. (2019). Efecto de la densidad de plantación en la calidad de fruto de chirimoya (*Annona dherimolla* Mill.). 22: 795-801.
- Flurkey W H, J J Jen (1978) Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.* 43:1828-1831.
- Giannopolities C N, S K Ries (1977) Superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 59:309-314.
- González Vega, M.E. (2013). Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.), frutal tropical y subtropical de valores promisorios. *Cultivos Tropicales*, 34(3):52–63.
- Gutiérrez, M., Mar Sola, M., Pascual, L., Vargas A. M., (1994). Postharvest changes of sugar concentrations in chilled-injured cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *J. Plant Physiol.* 143, 27-32.
- Helrich, K. (1990). *Official Methods and Analysis*. (Arlington: Association of Official Analytical Chemists).
- Huang, R.; Xia, R.; Hu, L.; Lu, Y.; Wang, M. (2007). Antioxidant activity and oxygens scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.113, p.166-172.
- Jagota, S.K. and Dani H.M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal. Biochem.* 127, 178–181.

- Jiménez Z.J.O., Balois, M.R., Alia, T.I., Juárez, L.P., Jiménez, R.E.I. and Bello, L.J.E. (2017). Cold Storage of two selections of soursop (*Annona muricata* L.) in Nayarit, Mexico. *J. Food Qual.*, ID 4517469: 1-10.
- Lahoz, J.M., Gutiérrez, M., Sola, M del M., Slató, R. Pascula, L., Martínez-Cayuela, M., Vargas, A. M. (1993). Ethylene cherimoya fruit (*Annona cherimola* Mill.) under different storage conditions. *J. Agric. Food Chem.* 41: 721-7123.
- Lamikanra O (1995). Enzymatic browning of Muscadine grapes products. *In: Enzymatic Browning and its Prevention* C L Lee, J R Whitaker (eds). ACS. Washington, USA. pp: 166-177.
- Lima, M. A. C.; Alves, R. E. e Filgueiras, H. A. C. (2006). Mudanças relacionadas ao amaciamento da graviola durante a maturação pós-colheita. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília.* 41(12):1707-1713.
- Liu, K., Liu, J. Li, H., Yuan, C., Zhong, J., and Chen, Y. (2016). Influence of postharvest citric acid and chitosan coating treatment n ripening attributes and expresion of celll wall related genes in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit. *Scientia Horticulturae* 198:1-11.
- Loizzo, M.R., Tundis, R., Bonesi, M. et al. (2012). Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(2):179-184.
- Maghoumi. M., Gómez. P. A., Mostofi. Y., Zamani. Z., Artés-Hernández., F. Artés. (2013). “Combined effect of heat treatment, UV-C and supertmospheric oxygen packing on phenolics and browning related enzymes of fresh-cuy pomegranatearilis,” *LWT-Food Science and Technology*, vol. 54, no. 2, pp. 389-396.
- Manríquez, D.A., Muñoz-Robredo, P., Gudenschwager, O., Robledo, P., and Defilippi, B.G. (2014). Development of flavor-related metabolites in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit and their relationship with ripening physiology. *Postharvest Biology and Technology*, 94:58–65.
- Martínez M.T., Cruz O., Colinas M.T., Rodríguez J.E., Ramírez S.P. (2013). Actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha piperita* L.) almacenada bajo refrigeración. *Agron. Mesoam* 24(1):57- 69.

- Masia, A. (1998). Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and with special reference to ethylene. *Physiol. Plant.* 104: 668-672.
- Morton, F. J. 2013. *Fruits of Warm Climates*. Echo Points Book and Media. USA. 505 p.
- Pareek, S., E. M. Yahia, O.P. Pareek, R. A. Kaushik. (2011). Postharvest Physiology and Technology of Annona Fruits. *Food Research International* 44: 1741-1751.
- Prieto, Humberto & Utz, Daniella & Castro Oyarzún, Álvaro & Aguirre, Carlos & González-Agüero, Mauricio & Valdés, Héctor & Cifuentes, Nicolas & Defilippi, Bruno & Zamora, Pablo & Zuñiga, Gustavo & Campos-Vargas, Reinaldo. (2007). Browning in Annona cherimola Fruit: Role of Polyphenol Oxidase and Characterization of a Coding Sequence of the Enzyme. *Journal of agricultural and food chemistry.* 55. 9208-18.
- Re, R; Pellegreni, N; Proteggente, A; Pannala, A; Yang, M; Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26:1231-1237.
- Resende, O.E.C., Martins, P.F., Azevedo, R. A., Jacomino, A. P., Bron, I.U. (2012). Oxidative processes during ‘Golden’ papaya fruit ripening. *BRaz. J. Pñant Physiol.* 24(2): 85-94.
- Rodríguez-Verástegui, L. L., Osorio-Córdoba, J., Díaz de León-Sánchez, F., Pelayo-Zaldívar, C., Díaz-Pontones, D. M., Bosquez-Molina, E., ... Pérez-Flores, L. J. (2015). *Biochemical and Visual Changes in Cactus Stems (Opuntia ficus-indica Mill.) Stored at 4, 12 and 26C. Journal of Food Biochemistry*, 39(4), 449–461.
- Salveit, M. E. (2016). Respiratory metabolism. pp: 139-156. In: Pareek, S. (Ed.). *Postharvest Ripening Physiology of Crops*. CRC Press-Taylor & Francis Group. Boca Raton, USA.
- Salveit, M. E. (2002). The rate of ion leakage from chilling-sensitive tissue does not immediately increase upon exposure to chilling temperatures. *Postharvest Biol. Technol.* 26, 295-304.
- Servicio de Información Agrícola y Pesquera (SIAP). (2019). Cierre de la Producción Agrícola. Consultado el 04 de junio de 2020. <http://www.siap.gob.mx/cierre-delaproduccion-agricola-por-cultivo/>.



- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuel, R. M. R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152-178.
- Solórzano, M.S., Alia, T. I., Rivera, C.F., López, M.V., Pérez, F.L.J., Pelayo, Z.C., Guillén, S.D., León, S.F.D. and Maldonado, A.Y.I. (2015). Quality attributes and functional compounds of mexican plum (*Spondias purpurea* L.) fruit ecotypes. *Fruits* 70, 261-270.
- Suárez, J.; Pérez De Camacaro, M.; Giménez, A. 2009. 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. *Revista Científica UDO Agrícola*, Maturín v.9, n.1, p. 60-69.
- Stauffer C E (1989) *Enzyme Assays for Food Scientists*. Van Nostrand Reinhold. USA. 317 p.
- Tavarini, S.; Degl’Innocenti, E.; Remorini, D.; Massai, R.; Guidi, L. (2008). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, Amsterdam, v.107, p.282-288.
- Tsantili, E., Shin Y., Nock, J.F., Watkins, C.B. (2010). Antioxidant concentrations during chilling injury developments in peaches. *Postharvest Biology and Technology* 57: 27-34.
- Vijaya Kumar Reddy, C., Sreeramulu, D., & Raghunath, M. (2010). *Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. Food Research International*, 43(1), 285–288.
- Yahia, Elhadi. (2018). Yahia. *Fruit and Vegetable Phytochemicals- Chemistry and Human health*, 48: 993-1002.
- Yonemoto, Y., Higuchi H., Kitano, Y. 2002. Effects of storage temperatura and wax coatong on ethylene production, respiration and shelf-life in cherimoya fruit. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 71(5): 643-650.
- Zhou, H. J.; Ye, Z. W.; Su, M. S.; Du, J. H.; Li, X. W. (2015). Effect of Heat Treatment on Protein Content and the Quality of ‘Hujingmilu’ Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science*, Virginia, v.50, n. 10, p. 1531-1536.

### **CAPÍTULO III (*Annona squamosa* L.)**

#### **Evaluación del almacenamiento en frío de frutos de saramuyo (*Annona squamosa* L.)**

##### **RESUMEN**

El saramuyo es un fruto tropical con pulpa aromática y de sabor dulce, presenta un potencial alto para su comercialización en fresco o procesado. Recientemente la demanda de estos frutos se ha incrementado considerablemente debido a que son una buena fuente de nutrientes y antioxidantes. Es un fruto altamente perecedero; se puede almacenar a 25 – 28 °C durante 3 – 4 días sin sufrir daño por frío. Sin embargo, para desarrollar tecnologías y manejo poscosecha del fruto, es necesario conocer la respuesta de la mayoría de los parámetros físicos, químicos y fisiológicos cuando son sometidos a temperaturas menores de 20 °C. Por lo que se almacenaron frutos de saramuyo a 18 y 7 °C por 4 o 8 días y se maduraron a temperatura ambiente (26 °C). La respiración y la producción de etileno se incrementan cuando los frutos fueron almacenados a 18 °C, con mayor evidencia en el almacenamiento por 8 días. Los parámetros de color de los frutos almacenados a 7 °C fueron similares a los frutos testigo, mientras que, los frutos almacenados a 18 °C mostraron colores entre amarillos y rojos con baja luminosidad y cromaticidad. No se detectaron diferencias en el contenido de sólidos solubles, acidez titulable, y vitamina C. La firmeza fue irregular en los frutos almacenados por 16 días. El contenido de fenoles totales incrementó significativamente en todos los tratamientos de refrigeración. Sólo la actividad enzimática de peroxidasa se incrementó. No se observó sintomatología de daño por frío en los frutos refrigerados a 7 °C; y la temperatura de 18 °C no logró retrasar la maduración de los frutos, debido a que, al salir de la refrigeración, los frutos se observaron con senescencia.

**PALABRAS CLAVE:** respiración, producción de etileno, sólidos solubles, acidez titulable, firmeza.

## **ABSTRACT**

The sugar apple is a tropical fruit with aromatic pulp and sweet flavor, it presents a high potential for its commercialization fresh or processed. Recently, the demand for these fruits has increased considerably because they are a useful source of nutrients and antioxidants. It is a highly perishable fruit; can be stored at 25 - 28 °C for 3 - 4 days without chilling injury. However, to develop technologies and postharvest handling of the fruit, it is necessary to know the response of most of the physical, chemical, and physiological parameters when they are subjected to temperatures below 20 °C. Therefore, sugar apple fruits were stored at 18 and 7 °C for 4 or 8 days and matured at room temperature (26 °C). Respiration and ethylene production increased when the fruits were stored at 18 °C, with greater evidence in storage for 8 days. The color parameters of the fruits stored at 7 °C were like the control fruits, while the fruits stored at 18 °C showed colors between yellow and red with low luminosity and chromaticity. No differences were detected in the content of soluble solids, titratable acidity, and vitamin C. The firmness was irregular in the fruits stored for 16 days. The content of total phenols increased significantly in all the refrigeration treatments. Only the enzymatic activity of peroxidase is increased. No symptoms of chilling injury were observed in the fruits refrigerated at 7 °C; and the temperature of 18 °C did not manage to delay the ripening of the fruits, because, when leaving the refrigeration, the fruits were observed with senescence.

**KEY WORDS:** respiration, ethylene production, soluble solids, titratable acidity, firmness.

## INTRODUCCIÓN

El saramuyo (*Annona squamosa* L.) es una especie nativa de América tropical que es cultivada en diferentes países tropicales alrededor del mundo (Jagtap y Bapat, 2012; Lim, 2012). Los frutos son redondeados en forma de corazón con pulpa aromática de sabor dulce, tiene una epidermis escamosa o grumosa, de 5 – 10 cm de diámetro y 70 – 230 g de peso, contiene numerosas y pequeñas semillas negras (Wongs-Aree, 2011). Cuando maduran los frutos, los carpelos se separan fácilmente y pueden partirse en el árbol si se dejan madurar por completo. Generalmente los frutos son consumidos en fresco, aunque la pulpa presenta un potencial alto para la elaboración de pulpa pasteurizada o congelada, néctares y otras bebidas (Broughton y Tan, 1979; Leal, 1990). En México el saramuyo se encuentra en la región sureste, en forma silvestre o cultivada principalmente en los estados de Campeche, Chiapas y Yucatán con una superficie de 50.5 ha, una producción de 431.75 t, un rendimiento de 8.9 t ha<sup>-1</sup>, y un valor en la producción de 3,296.26 (SIAP, 2019). Es una especie que es un recurso fitogenético en nuestro país, debido a la importancia de la variación genética y económica que representa para la zona de la península de Yucatán (Salazar et al., 2010).

Su valor alimenticio es debido su alto contenido de azúcares (19.2 – 25.2 g 100 g<sup>-1</sup>), y a su alto contenido de vitamina C (35 – 42 mg / 100 g<sup>-1</sup>); son buena fuente de hierro, calcio y magnesio, con un valor energético de 86 – 114 calorías. Los carbohidratos presentes en la pulpa incluyen fructosa (3,5%), sacarosa (3,4%), glucosa (5,1%) y oligosacáridos (1,2-2,5%) (Morton, 1987; Leal, 1990). Kowsalya et al. (2014) mencionan la presencia de componentes fitoquímicos como aminoácidos, taninos, esteroides, alcaloides, terpenoides, glucósidos, y quinonas. Recientemente la demanda de estos frutos se ha incrementado considerablemente debido a que son una buena fuente de nutrientes y antioxidantes. Sin embargo, su efecto sobre ciertas moléculas (p. Ej., Ácido ascórbico, un compuesto esencial en los tejidos de plantas y animales) o en las capacidades antioxidantes generales, no se ha estudiado adecuadamente. Estos compuestos hacen posible la actividad en la eliminación de radicales libres en especies reactivas de oxígeno (Luximon-Ramma et al., 2003; Zhao et al., 2006; Almeida et al., 2011).

El saramuyo se clasifica como una fruta climatérica altamente percedera; a condiciones ambientales (25 – 28 °C) los frutos maduran en 3 – 4 d, esta corta vida poscosecha se debe a la rápida pérdida de la firmeza de la pulpa, que está asociada con un incremento significativo en la actividad respiratoria (72 h después de la cosecha), y una baja producción

de etileno (84 h después de la cosecha) (Andrade et al., 2001; Nwokocha y Williams, 2009). Algunos de los parámetros importantes para determinar la calidad de la fruta son los sólidos solubles, firmeza, acidez titulable y el color (Bolívar et al., 2009). El contenido de ácido ascórbico incrementa significativamente durante la maduración; la respuesta del ácido ascórbico es contrario a lo que ocurre con otras frutas climatéricas, en donde el contenido de ácidos orgánicos disminuye a medida que evoluciona la madurez (Nwokocha y Williams, 2009). Esto es debido al proceso de interconversión de azúcares a ácidos orgánicos a través de la carboxilación del ácido pirúvico y la síntesis del ácido málico (Broughton and Tan, 1979). Los frutos también contienen considerables cantidades de compuestos fenólicos como los flavonoides que representan una fuente de antioxidantes. Por lo tanto, es importante evitar la oxidación enzimática de estos compuestos para mantener la calidad del fruto.

La maduración de frutos tropicales puede ser retardada mediante almacenamiento en frío, la refrigeración es una de las técnicas más eficaces y de empleo general (Botton et al., 2019); sin embargo, las anonáceas son muy sensibles a las temperaturas bajas, mostrando síntomas de daño por frío caracterizado por oscurecimiento en la epidermis, manchado en la pulpa y pérdida de aroma y sabor (Batten 1990; Paull 1996; Yamashita, et al., 2002). Estudios indican que la temperatura para almacenar el saramuyo es entre 15 – 20 °C dependiendo de la variedad, con el máximo almacenamiento a 15 °C por 9 d. Reportes indican que en frutos de saramuyo expuestos diferentes temperaturas (15, 20 y 25 °C), la temperatura de 20 °C obtuvo la fruta más aceptable para el consumo en fresco. Los frutos con un almacenamiento a temperaturas inferiores de 15 °C, sufren daños por frío, así lo demostraron Vishnu *et al.* (2000); quienes detectaron síntomas del daño en frutos almacenados a 10 °C durante 12 días, como lo son endurecimiento y oscurecimiento de la cáscara, menos dulzura y alteración en la estructura de la pulpa.

En particular las Annonas son susceptibles al pardeamiento enzimático catalizado por la enzima polifenoloxidasas (PFO) que se considera una de las reacciones oxidativas más importantes que conducen a la pérdida de la calidad sensorial y nutricional, el desarrollo del pardeamiento es el factor más importante que limita la calidad de las Annonas recién cortadas (Pareek et al., 2011). El oscurecimiento en la epidermis se ha atribuido a la actividad de la enzimática, principalmente a la enzima PFO. En otras Annonas se ha estudiado la actividad enzimática por Balois *et al.* (2019) que ha servido como indicador de alteraciones metabólicas que se manifiestan como desórdenes fisiológicos externos. Enzimas como catalasa (CAT) superóxido dismutasa (SOD) y peroxidasa (POD) son conocidas como

enzimas antioxidantes primarias, las cuales sirven como primera línea de defensa antioxidante. Estas alteraciones fisiológicas se relacionan con una disminución de enzimas que remueven especies reactivas de oxígeno, tales como superóxido dismutasa (SOD) que convierte el anión superóxido ( $O_2^-$ ) a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ); mientras que, las enzimas CAT y ascorbato peroxidasa (APX) eliminan el  $H_2O_2$  convirtiéndolo en  $H_2O$  (Apel y Hirt, 2004). Enzimas como PFO y POD son relevantes en términos de calidad, ya que conducen al oscurecimiento a través de la catalización de dos reacciones diferentes en presencia de oxígeno molecular: (a) la hidroxilación de monofenoles a orto-difenoles y (b) la oxidación de orto-difenoles a orto-quinonas que son altamente reactivas y pueden combinarse entre sí con otros compuestos para formar pigmentos marrones (Maghoumi et al., 2013; Zhang y Shao, 2015). Mencionado lo anterior, es importante realizar la caracterización de los frutos de saramuyo almacenados a temperaturas bajas, con el fin de optimizar las condiciones de almacenamiento que permitan preservar las características sensoriales del fruto, basados en sus cambios bioquímicos, físicos, fisiológicos y enzimáticos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se colectaron frutos de saramuyo, en una huerta ubicada en Oxkutzcab, Yucatán ( $20^{\circ} 18' 04''$  N  $89^{\circ} 25' 07''$  O, 33 msnm). Los frutos se colectaron en etapa de madurez fisiológica, utilizando el índice de cosecha del productor, que generalmente considera un cambio de color verde oscuro en la epidermis del fruto a un color verde amarillento, además de una ligera separación de los carpelos. Se seleccionaron frutos sin daños físicos o por patógenos. Los frutos se trasladaron vía terrestre a Mérida, Yucatán para ser evaluados. El material vegetal se dejó ambientar a la temperatura del laboratorio, posteriormente se lavaron con agua clorada ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) y se dejaron secar sobre papel absorbente.

Se formaron cinco grupos de 15 frutos, de los cuales cuatro se almacenaron a  $7$  ó  $18 \pm 2$  °C  $85$  % HR durante cuatro u ocho días; un grupo de frutos se almacenó a temperatura ambiente  $26 \pm 2$  °C,  $60$  % HR y se consideró como el grupo testigo. Los tratamientos fueron cinco y quedaron conformados de la siguiente manera: 1) Frutos almacenados a  $18$  °C por 4 d ( $\pm 2$  °C  $85$  % HR), 2) Frutos almacenados a  $7$  °C por 8 d ( $\pm 2$  °C  $85$  % HR), 3) Frutos almacenados a  $18$  °C por 8 d ( $\pm 2$  °C  $85$  % HR), 4) Frutos almacenados a  $7$  °C por 18 d ( $\pm 2$  °C  $85$  % HR) 5)  $26 \pm 2$  °C,  $60$  % HR.

Los frutos almacenados a temperatura baja y después de cumplir el tiempo de almacenamiento se colocaron a temperatura ambiente ( $26 \pm 2$  °C, 60 % HR), realizando evaluaciones diarias o cada dos días de algunos cambios físicos, fisiológicos y químicos. La unidad experimental fue un fruto con cinco repeticiones, el diseño experimental fue uno completamente al azar.

La velocidad de respiración y producción de etileno se determinó por el método estático (Salveit, 2016), donde un fruto se colocó en un recipiente sellado de 1.25 L durante 3 h, posteriormente se extrajo del espacio de cabeza 1 mL del gas, el cual se inyectó en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies® 7890A (USA) y se cuantificó la concentración de dichos gases. Las condiciones de temperatura del inyector, horno y detectores DCT (Detector de Conductividad Térmica) y DIF (Detector de Ionización de Flama) para la determinación de CO<sub>2</sub> y etileno, respectivamente, fueron de 150, 80 y 170 °C. Se utilizó nitrógeno como gas de arrastre. Para la cuantificación de la concentración de gases en las muestras, se usó el método de calibración absoluta utilizando estándares (Praxair®) de CO<sub>2</sub> (460 mg L<sup>-1</sup>) y etileno (100 mg L<sup>-1</sup>).

El color se evaluó, en lados opuestos del fruto en la parte ecuatorial de cada UE con un espectrofotómetro (X-rite, Mod. SP64, USA) que proporcionó lecturas de L\*= luminosidad (0: blanco, 100: negro); C\*= cromaticidad (del gris); h= ángulo matiz (0: rojo, 100: amarillo) (Solórzano et al., 2015).

La pérdida de peso se determinó usando una balanza digital (OHAUS®, Pro scout SP, 2001, New Jersey, USA) para medir la masa individual cada fruto. La pérdida de peso acumulada al final del almacenamiento fue reportada por porcentaje (%). Para obtener el porcentaje acumulado del peso de cada fruto en, se obtuvo con la fórmula:  $[(P_i - P_f) / P_i] * 100$ , donde P<sub>i</sub>= peso inicial, P<sub>f</sub>= peso final.

La firmeza se determinó en cada fruto, se eliminó una parte del epicarpio, en la parte ecuatorial de dos lados opuestos, por medio de un texturómetro manual (Chatillon® modelo E-DFE-025, USA), con capacidad de 100 N, con un puntal cónico (4.7 mm de diámetro en la base), reportando los datos en Newtons (N).

Los sólidos solubles totales (SST) se determinaron directamente del fruto, al realizar una incisión en la epidermis del fruto para obtener una gota de jugo de la pulpa, que se colocó

en refractómetro Atago (PAL-1®, Japón) previamente calibrado con una gota de agua destilada. Los resultados se expresaron en °Brix.

La acidez titulable fue determinada por el método de AOAC (1990), el cual consistió en homogenizar 1 g de pulpa con 10 mL de agua destilada, el macerado fue filtrado con papel filtro, y 5 mL de la alícuota del filtrado fueron tomados. Posteriormente se realizó el volumen de titulación con hidróxido de sodio (0.1 NaOH) usando fenolftaleína como indicador; los resultados fueron expresados como porcentaje de ácido cítrico.

La concentración de fenoles totales se realizó conforme a la metodología de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Se homogenizó un gramo de pulpa con 10 mL de agua destilada con ayuda de un Ultra Turrax (IKA®, USA) y, posteriormente, se centrifugó a 1008 x g durante 15 min a 4 °C. Se tomó 0.5 mL del filtrado y se mezcló con 2.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10), después de 5 min, se adicionaron 2 mL de carbonato de sodio a 7.5% (p/v) y la mezcla se dejó reposar durante 2 h; posteriormente se realizarán las lecturas en un espectrofotómetro (HACH DR 5000®, USA) a 760 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (EAG) 100g<sup>-1</sup> de peso fresco.

El contenido de vitamina C, se siguió la metodología propuesta por Jagota y Dani (1982). La cual es una técnica colorimétrica para estimación de vitamina C usando el reactivo Folin-Ciocalteu. Se pesó 1 g de muestra y se homogenizó con 4 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10 % p/v. se colocaron en un baño de hielo durante 5 minutos, posteriormente se centrifugó a 1008 x g durante 20 minutos a 4 °C. Para realizar la reacción se utilizaron alícuotas de 0.5 mL del sobrenadante, con 1.5 mL de agua bidestilada y 200 µL del reactivo Folin, se dejó reaccionar en la oscuridad durante 15 min y se leyó la absorbancia a 760 nm. Para estimar el contenido de vitamina C se construyó una curva estándar con ácido ascórbico. La concentración total se expresó en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) por 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco.

Actividad antioxidante por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP

Para la obtención de los extractos de muestra se pesó 1 g de pulpa y se homogenizó cada una con agua destilada (1:10) obteniendo las muestras para determinar las variables a estudiar.

Para el método DPPH (1,1 difenil-2-picrilhidrazil), se utilizó la metodología propuesta por Brand-Williams et al. (1995), con mínimas modificaciones, este método consistió en colocar una celda de cuarzo de 3 mL de una solución metanólica 6,1x10<sup>-5</sup> M (Sigma Aldrich®, USA)



y se hicieron reaccionar con 100  $\mu\text{L}$  de solución muestra, la mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min y se leyó a 517 nm el cambio de absorbancia. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA)  $100\text{ g}^{-1}$  de peso fresco.

Para la metodología por ABTS (ácido 1-2'-azinobis(3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico), se preparó el reactivo ABTS (Sigma-Aldrich®, USA) a 7 mM y persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) a 2.45 Mm y se mezcló 1:1, se dejó reposar durante 16 h. Se diluyó con etanol 20% hasta alcanzar una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm. Se agregaron 3 mL de ABTS con 50  $\mu\text{L}$  de extracto y se dejó reaccionar durante 15 min; la absorbancia se leyó a 734 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA)  $100\text{ g}^{-1}$  peso fresco (Re et al., 1999).

La actividad antioxidante por reducción férrica (FRAP). Se realizó mediante la metodología desarrollada por Benzie y Strain (1996): se preparó el reactivo FRAP (TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina 10 mM),  $\text{FeCl}_3$  y tampón acetato de sodio (0.3 mM)), se mezcló 1.8 mL de FRAP con 140  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 60  $\mu\text{L}$  de extracto, se dejó reaccionar durante 30 min a 37 °C y, transcurrido el tiempo de reacción, se leyó la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA)  $100\text{ g}^{-1}$  peso fresco.

#### Polvo de acetona

El polvo de acetona se obtuvo a partir de 5 g de pulpa, que se homogenizaron en 10 mL de acetona fría con un Ultra Turrax (IKA®, USA), posteriormente la mezcla se filtró en un embudo de kitasato con papel filtro; y este proceso se repitió 3-4 veces hasta que el polvo quedara muy fino. Finalmente, el polvo se dejó reposar 30 min para dejar evaporar totalmente la acetona.

#### Proteína soluble

Se determinó por el método de Bradford (1976). Para ello se mezclaron 0.1 g de polvo de acetona con 5 mL de buffer Tris HCl 0.1 M (pH 7.1), en frío. La mezcla se centrifugó a 1008 unidades G por 15 min (4 °C). A una muestra de 0.1 mL del sobrenadante se adicionaron 5 mL de la solución Coomassie Blue, se agitó y registró la absorbancia a 595 nm en el espectrofotómetro. La cuantificación se hizo mediante una curva de calibración con albúmina de bovino.

#### Catalasa (EC. 1.11.1.6; CAT)

La actividad de catalasa se extrajo a partir de polvo de acetona: 0.1 g se mezcló con 5 mL de Tris HCl 0.1 M con pH 8.5 en frío que contenía 1 % de polivinilpirrolidona, en un homogeneizador de tejidos. La mezcla se centrifugó a 1008 unidades G por 15 min en una centrífuga refrigerada a 4 °C. La actividad CAT se evaluó mediante el método descrito por Luck (citado por Blackwell et al., 1990), donde 3 mL de un amortiguador 10 mM Tris-HCl, pH 8.5 y 0.1 mL de peróxido de hidrógeno 0.88 % en 100 mM de Tris-HCl, se mezclaron en una celda de cuarzo. La reacción se inició al adicionar 0.1 mL del sobrenadante y se observó el cambio en absorbancia a 240 nm, y la actividad enzimática se reportó como U g<sup>-1</sup> de peso fresco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la descomposición de 1 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### Superóxido dismutasa (1.15.1.1; SOD)

Esta enzima se evaluó a partir de 0.1 g de polvo de acetona, al cual se adicionaron 5 mL de amortiguador de fosfatos a pH de 7.8 y homogenizado por 40 s. La mezcla se centrifugó a 1008 unidades G durante 20 min a 0 °C. El sobrenadante se utilizó para el ensayo enzimático propuesto por Beyer y Fridovich (1987), donde se propuso la siguiente mezcla de reacción; 27 mL de amortiguador de fosfatos 0.05 (pH 7.8), que contenía 0.1 nM de EDTA, 1.5 mL de L-metionina (30 mg mL<sup>-1</sup>), 1 mL de nitro blue tetrazolium (1.41 mg mL<sup>-1</sup>) y 0.75 mL de Trion X-100 al 1 %. A 3 mL de esta mezcla de reacción se adicionaron 0.03 mL de riboflavina (4.4 mg 100 mL<sup>-1</sup>) y 0.4 mL de sobrenadante; la mezcla se iluminó por 7 min con lámparas de luz fluorescente de 20 W GroLux, y se procedió a leer la absorbancia a 560 nm. El incremento en absorbancia debido a la formación de “nitro blue tetrazolium formazan” por unidad de tiempo equivale a la velocidad de reacción; y la absorbancia en ausencia de SOD y en presencia de varias cantidades de SOD se utilizó para determinar el número de unidades/mL de SOD en la solución (Stauffer, 1989). Una unidad de SOD es igual a la cantidad de sobrenadante que fotoinhibe en 50 % la formación de “nitro blue tetrazolium formazan” (Giannopolitis y Ries, 1977).

#### Polifenoloxidasasa (EC. 1.14.18.1; PFO)

La actividad enzimática se determinó a partir de polvo de acetona, y la PFO mediante el método propuesto por Lamikanra (1995) con modificaciones. La enzima se extrajo a partir de 0.1 g de polvo de acetona con 5 mL de Tris-HCl frío, 100 mM (pH 7.1) que contenía 1 % de polivinilpirrolidona (PVP). Se mezclaron en un homogeneizador de tejidos durante 30 s; posteriormente la mezcla se centrifugó por 20 min a 1008 unidades G a 4 °C. El sobrenadante

se utilizó para evaluar el cambio de absorbancia a 460 nm en el espectrofotómetro. Para el ensayo de la actividad enzimática se emplearon 2.8 mL de catecol 60 mM disuelto en un buffer Tris-HCl 100 mM, pH 7.1 y 0.2 mL del sobrenadante. Los ensayos se realizaron a temperatura de 22 a 24 °C. La actividad enzimática se reporta como U g<sup>-1</sup> de peso seca, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la formación de 1 μmol de o-benzoquinona min<sup>-1</sup>.

Peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD)

La extracción de POD fue similar a PFO y el ensayo se hizo de acuerdo con el método Flurkey y Jen (1978), con las siguientes modificaciones: la mezcla de ensayo tuvo un volumen total de 3 mL, de los cuales 2.6 mL eran del buffer TrisHCl 100 mM, pH 7.1, 0.25 mL de guayacol 0.1 M, 0.1 mL de peróxido de hidrógeno 0.25 % y 0.05 mL del sobrenadante; se determinó el cambio de absorbancia a 460 nm durante 3 min. La actividad enzimática se reportó como U g<sup>-1</sup> de peso seco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a la formación de 1 μmol de tetraguaicol min<sup>-1</sup>. Los ensayos se hicieron a temperatura ambiente, entre 22 y 24 °C.

Los datos obtenidos fueron sujetos a análisis de varianza y comparación de medias por el método de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ). Se presentan gráficas y cuadros del comportamiento de las variables evaluadas (media  $\pm$  error estándar). Utilizando el software Sigma Plot® (Systat Software, San Jose, CA).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los frutos testigo y los frutos almacenados por 4 d a 18 °C, alcanzaron el máximo de producción de CO<sub>2</sub> después de tres y dos días a temperatura ambiente (Figura 2 A). En frutos de saramuyo se ha reportado que tienen un incremento en la producción de CO<sub>2</sub> después de la cosecha, alcanzando su máxima producción entre 3 y 4 días (Bolívar et al., 2009). En saramuyo se ha estudiado que las temperaturas bajas (20 - 10 °C) reducen la respiración de los frutos y el almacenamiento de 10 °C durante 12 días provoca daños por frío (Vishnu et al., 2000), lo cual es distinto a nuestros resultados. Debido a que los frutos refrigerados durante 4 y 8 d a temperaturas de 18 y 7 °C mostraron mayor respiración ( $P \leq 0.05$ ) en comparación con los frutos testigo, siendo esta una alteración temporal en donde el fruto regresa a su metabolismo normal, al ser expuestos al ambiente. Esto es atribuible principalmente al cultivar, a las temperaturas y tiempos de almacenamiento evaluados en este estudio.

La producción máxima de etileno en los frutos testigo se observó a los 3 d después de la cosecha, que coincide con la máxima respiración y con el inicio de la maduración de los frutos (Figura 2 B). En frutos de saramuyo se ha detectado la máxima producción de etileno entre 3 y 4 días después de la cosecha (Bolívar et al., 2009; Vishnu et al., 2000). Los frutos refrigerados a 7 °C por 4 y 8 d, obtuvieron una similar producción de etileno que los frutos testigo, no se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al tratamiento testigo. Los frutos almacenados a 18 °C por 4 y 8 d mostraron mayor producción de este gas con respecto a los frutos testigo, estas diferencias fueron significativas ( $P \leq 0.05$ ) para la prueba. En algunas especies el almacenamiento a bajas temperaturas inhibe la producción de etileno (Botton et al., 2019). Mientras que, en distintos cultivares de guanábana a bajas temperaturas, la producción de etileno puede incrementarse o inhibirse dependiendo del cultivar (Jiménez et al., 2017).

Los frutos testigo obtuvieron pérdidas de peso de 12.81 % después de 4 d de su recolección (Figura 2 C). Vishnu et al, (2000) reportan pérdidas de peso en saramuyos ‘Balanagar’ de 4.0 % después de los mismos días de su recolección (25 °C). Esto nos indica una alta transpiración y respiración de los frutos del presente estudio, los cuales deterioran la calidad de la fruta reduciendo la turgencia de los tejidos y su vida comercial. Los frutos refrigerados a 18 °C por 4 y 8 d, mostraron una mayor pérdida de peso después de cuatro días al ambiente (14.30 y 15.73 %) con respecto a los frutos testigo. Los frutos refrigerados a 7 °C por 4 y 8 d, obtuvieron pérdidas de peso de 12.46 y 14.39 %; sin embargo, ningún tratamiento de refrigeración mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) comparados con el tratamiento testigo. Mientras que; Venkatram y Bhagwan (2013) indican pérdidas de peso de 2.49 % en frutos de saramuyo ‘Balanagar’ a los 4 días (15 ±1 °C). Es posible que, para disminuir las pérdidas de peso de los frutos del presente estudio, se tengan que refrigerar a temperaturas más bajas.

El color de los frutos testigo fue entre verde y amarillo ( $h=98.93$  y  $88.85$ ), con mediana luminosidad ( $L^*=53.83$  y  $44.18$ ) y opacos ( $C^*=28.13$  y  $20.46$ ) desde su recolección hasta 4-5 días de almacenamiento (Figura 1, 2 D-F). Al salir de la baja temperatura, el color de los frutos refrigerados a 7 °C por 4 d, fue similar a los frutos testigo, al no detectar diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos; sin embargo, se detectaron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ) en los parámetros de luminosidad ( $L^*=49.46$  y  $39.70$ ) y cromaticidad ( $C^*=23.41$  y  $13.67$ ) (Figura 1, 2 D-F). En los tratamientos de 18 °C por 4 y 8 d, y en el tratamiento de 7 °C por 8 d, el color de los frutos fue entre amarillo, naranja y rojo, con baja

luminosidad y cromaticidad, debido a que los frutos se ya encontraban iniciando su senescencia al salir de la baja temperatura (Figura 1, 2 D-F). Estos cambios se atribuyen a una disminución en el contenido de clorofilas (Benkeblia y Emanuel, 2014) y al aumento en la biosíntesis de las antocianinas, que son pigmentos relacionados con estos colores durante la maduración de los frutos (Kong et al., 2003).

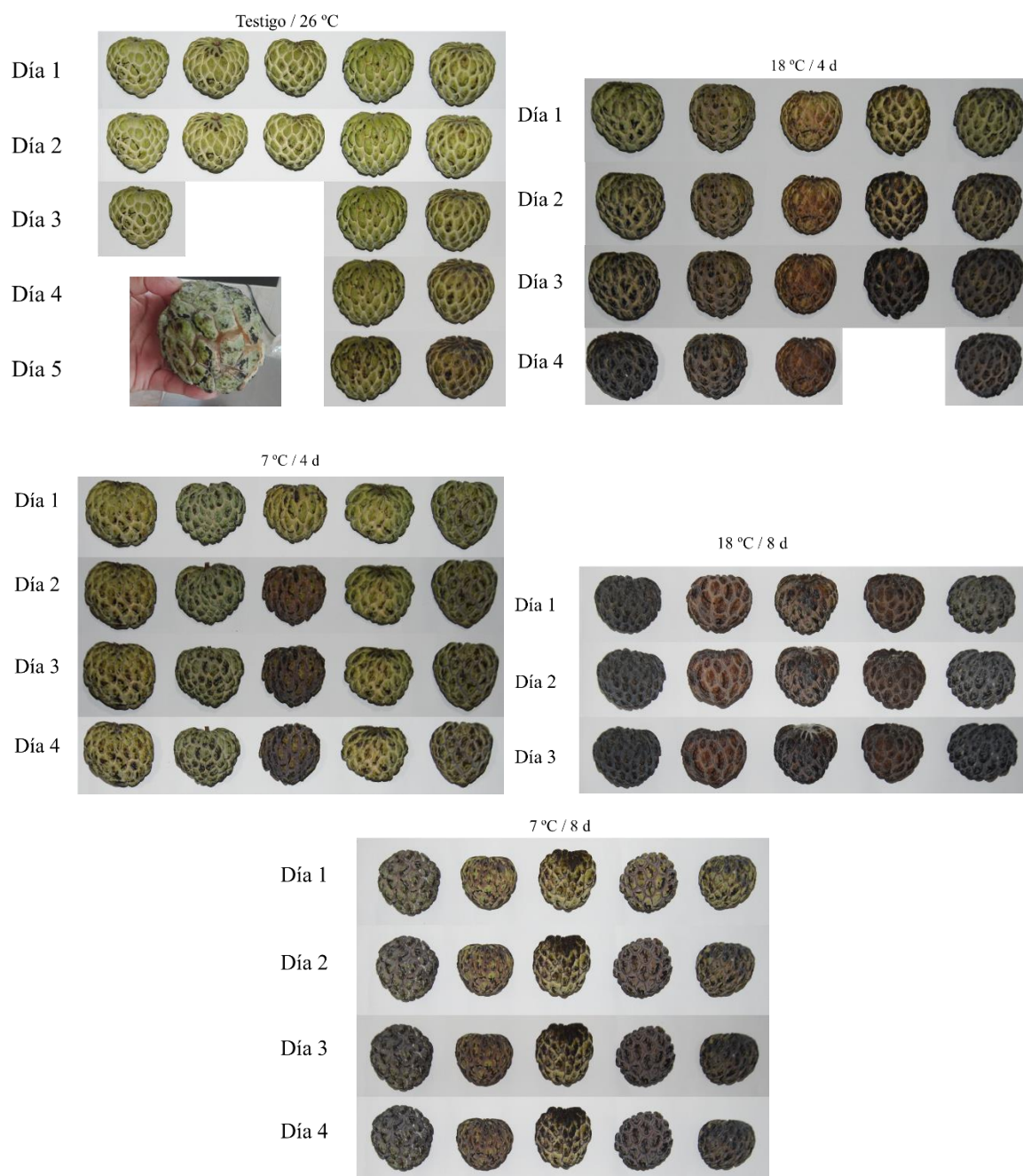


Figura 1. Apariencia de frutos de saramuyo expuestos a temperatura ambiente ( $26 \pm 2$  °C, 60 % HR) durante 5 días, con previa refrigeración a:  $18 \pm 2$  °C por 4 d (85% HR),  $7 \pm 2$  °C por 4 d (85% HR),  $18 \pm 2$  °C por 8 d (85% HR),  $7 \pm 2$  °C por 8 d (85% HR), frutos testigo ( $26 \pm 2$  °C, 60 % HR).

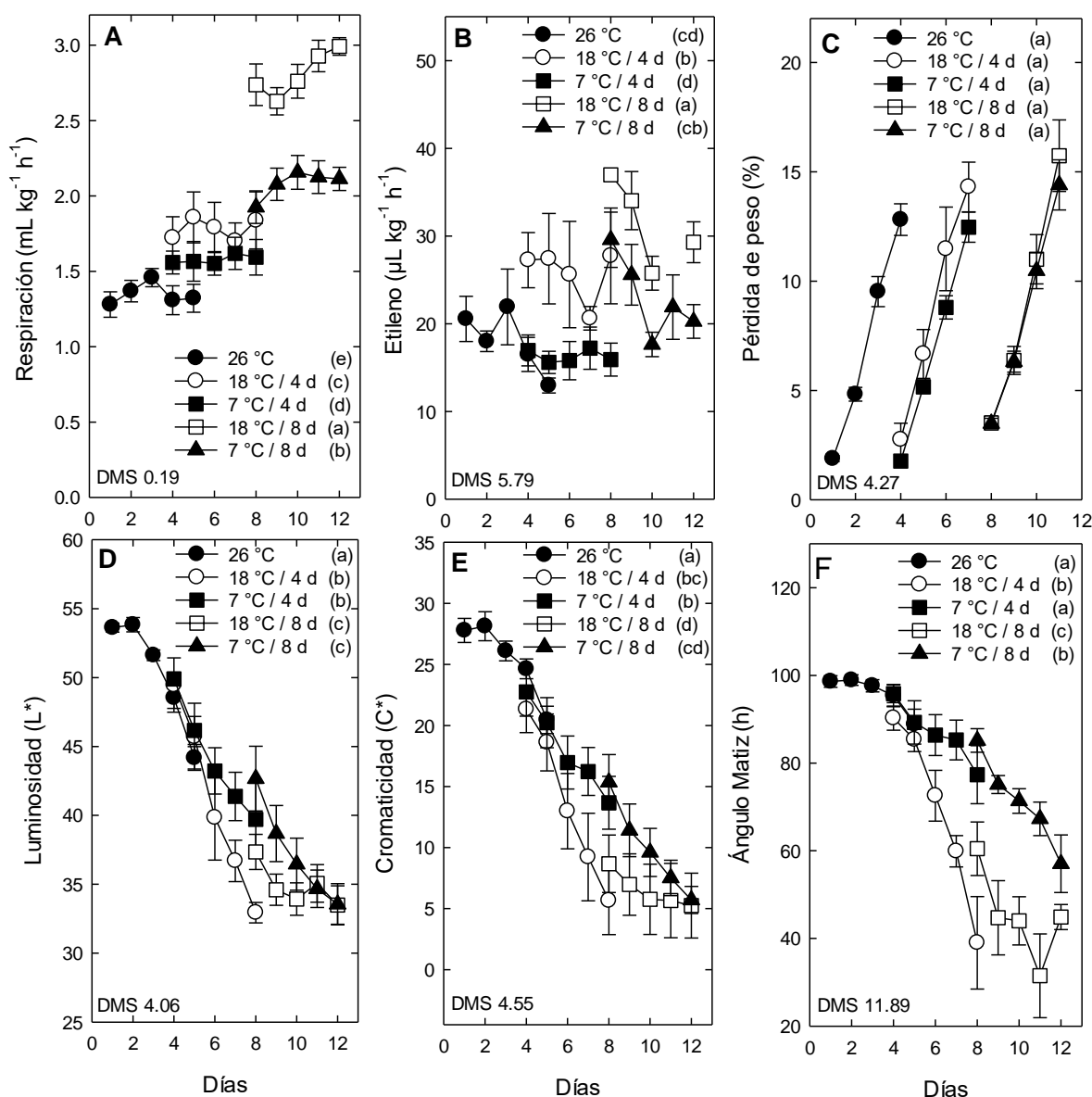


Figura 2. Cambios en respiración (A), producción de etileno (B), pérdida de peso (C) y parámetros de color: Luminosidad (D), cromaticidad (E) y matiz (F) en epidermis de frutos de saramuyo almacenados a temperatura ambiente (26 °C) o bajo refrigeración 7 o 18 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

La firmeza de los frutos testigo fue de 85.62 N en madurez fisiológica; posteriormente la firmeza disminuyó entre 98.85 y 99.25 % después de 2-4 d (Figura 3 A). Se ha reportado que la firmeza de sus frutos de saramuyo disminuye 96.39 %; al momento de su cosecha es de 107.9 N y de 3.9 N después de 4 d (Bolívar et al., 2009). Los frutos almacenados a 18 °C

por 4 y 8 d presentaron una firmeza de sobre maduración al salir de la baja temperatura con valores de 2.97 y 0.46 N, posteriormente estos valores disminuyeron 78.27 y 74.25 %, se detectaron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ) en el almacenamiento de 8 d, con respecto a los frutos testigo. Los frutos refrigerados a 7 °C por 4 y 8 d mostraron mayor firmeza al salir de la refrigeración que los frutos testigo, con valores de 95.54 y 107.34 N, posteriormente los valores disminuyeron 99 % después de 4 días al ambiente, estas diferencias no fueron significativas ( $P \leq 0.05$ ) comparados con los frutos testigo. La disminución de la firmeza puede deberse a una menor actividad de las enzimas a bajas temperaturas que son responsables de la degradación de la celulosa y otras sustancias pécticas (Espinosa et al., 2013).

Los frutos testigo mostraron valores iniciales de sólidos solubles totales (SST) de 6.6 °Brix, posteriormente los valores se incrementaron a 20.1 °Brix y disminuyeron a 12.9 °Brix después de 2 - 4 d (Figura 3 B). En saramuyo se han reportado valores máximos de SST de 29.77 °Brix en frutos provenientes de Sudán (Mohammed et al., 2019). Los frutos almacenados por 4 d a 18 y 7 °C mostraron valores máximos de 16.2 y 17.7 °Brix, mientras que los almacenados por 8 d a 18 y 7 °C obtuvieron valores máximos de 15.8 y 17.7 °Brix (Figura 3 B); no se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo. La hidrólisis de almidón, sacarosa, pectinas y otros compuestos solubles como los ácidos orgánicos o aminoácidos no fueron afectados por la refrigeración. Venkatram y Bhagwan (2013) reportan incrementos desde 20.9 a 25.5 °Brix después de refrigerar a 15 °C por 10 días, frutos de saramuyo 'Balanagar'; mientras que, Vishnu et al. (2000) indican en frutos de saramuyo del mismo cultivar expuestos a bajas temperaturas (15 y 10 °C) diferencias significativas comparados con el grupo testigo (25 °C). Estas diferencias se deben principalmente a la zona geográfica del cultivar y a las condiciones de almacenamiento utilizadas por los diferentes autores.

La acidez titulable (AT) de los frutos testigo fue de 0.26 % después de la cosecha, posteriormente disminuyó a 0.20 % e incrementó a 0.25 % (Figura 3 C). Se ha reportado en saramuyos provenientes de Sudán incrementos en la AT de los frutos de 0.24 a 1.39 % después de 9 d de almacenamiento (Mohammed et al., 2019). En contraste, Lugwisha et al. (2016) reportaron un descenso de AT de 0.28 a 0.12 % en saramuyos de Tanzania, lo cual es atribuido a que los ácidos fueron utilizados para procesos de respiración. Los frutos expuestos a temperaturas de 7 °C por 4 y 8 d mostraron valores máximos de 0.31 y 0.26 %, mientras que los frutos refrigerados a 18 °C por 4 y 8 d presentaron valores máximos de 0.25

y 0.30 %; sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo. Lo que sugiere que este parámetro de la maduración no fue afectado por las bajas temperaturas.

El contenido de fenoles totales en los frutos testigo fue de 65.62 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> pulpa, posteriormente los valores disminuyeron a 33.20 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> pulpa, finalmente se observó un incremento a valores de 47.52 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> pulpa después de 4 d (Figura 3 D). Se ha reportado en cultivares de saramuyo provenientes de Egipto un contenido de fenoles totales entre 1.60 y 9.67 mg EAG g<sup>-1</sup> peso seco (Shukry et al., 2019). Los frutos almacenados por 4 d a 18 y 7 °C mostraron un aumento y un posterior descenso en el contenido de fenoles totales al ser expuestos al ambiente. Los frutos almacenados por 8 d a 7 °C presentaron un incremento después de dos días al ambiente; mientras que, los frutos almacenados por 8 d a 18 °C mostraron un incremento al salir de la baja temperatura (Figura 3 D). En estudios recientes se ha detectado que la acumulación de fenoles como ácido clorogénico, epicatequina, procianidina y quercetina en la epidermis del fruto de manzana es una respuesta al estrés por frío (Cainelli y Ruperti, 2019).

El contenido de vitamina C en los frutos testigo fue de 91.64 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. después de ser cosechados, posteriormente el contenido disminuyó a 58.92 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. después de 2 d, seguido de un ligero incremento a valores de 65.21 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. después de 4 d (Figura 3 E). Mohammed et al. (2019) reportaron en frutos de saramuyo que el contenido de ácido ascórbico disminuye de 31.22 a 17.64 mg/100 mL después de 9 d a temperatura ambiente (26 °C). Los frutos con almacenamiento por 4 d a 18 y 7 °C mostraron una disminución constante en el contenido de vitamina C al ser expuestos al ambiente. Mientras que, los frutos almacenados por 8 d a 18 y 7 °C obtuvieron incrementos al abandonar las bajas temperaturas y sólo los frutos refrigerados a 7 °C obtuvieron descenso posterior en el contenido de ácido ascórbico. No se detectaron diferencias significativas con respecto a los frutos testigo ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 3 E). Estos incrementos de Vitamina C durante la baja temperatura y posterior descenso se han observado en frutos refrigerados (20, 15 y 10 °C) de saramuyo 'Balangar', con una mayor disminución de ácido ascórbico en frutos que mostraron síntomas de daños por frío (10 °C) (Vishnu et al., 2000).



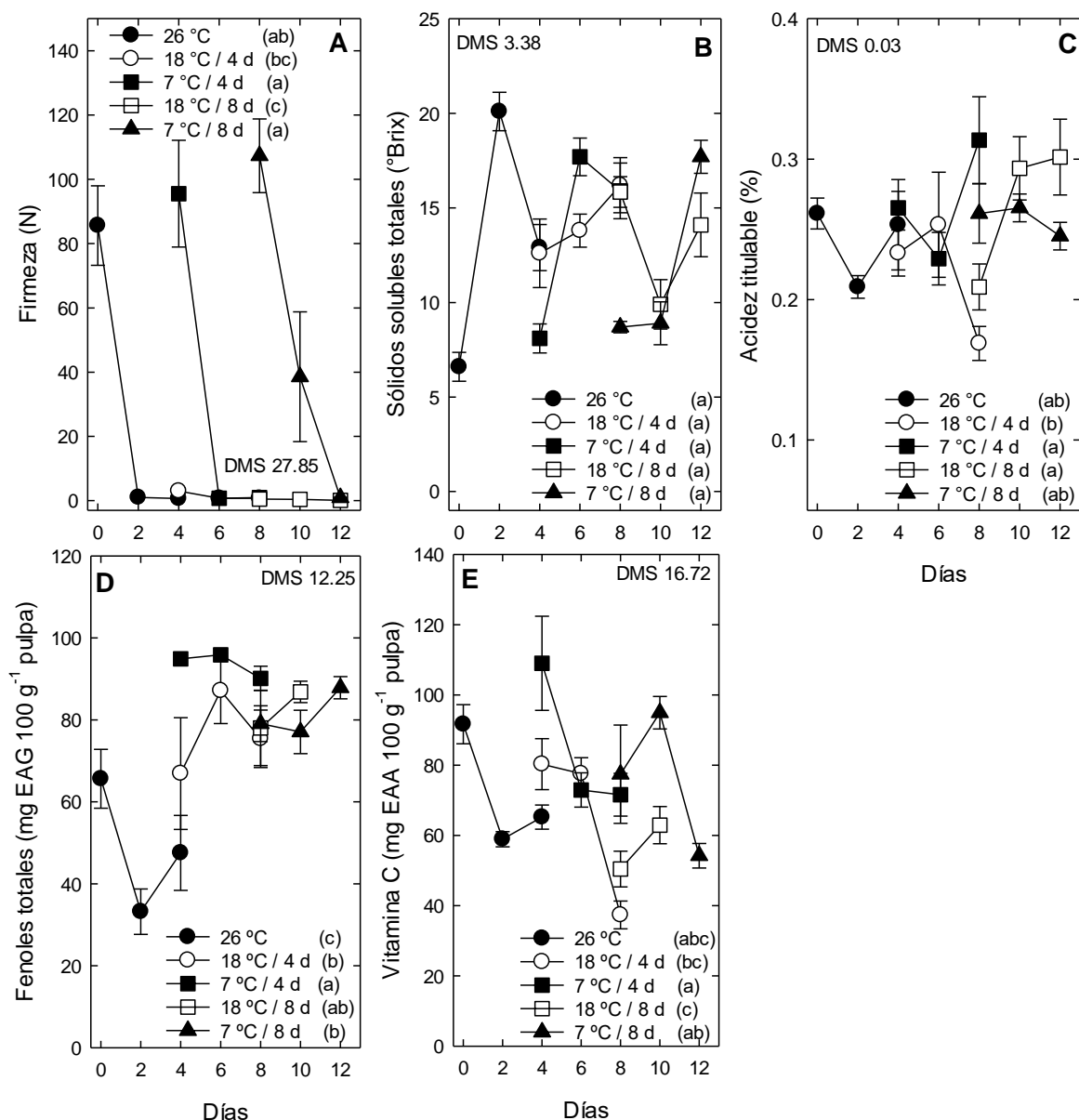


Figura 3. Cambios en firmeza (A), sólidos solubles totales (B), acidez titulable (C) fenoles totales (D) y vitamina C (E) en frutos de saramuyo almacenados a temperatura ambiente (26 °C) o bajo refrigeración 7 o 18 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

En los frutos testigo, la actividad antioxidante inicial evaluada por el método de DPPH fue de 117.34 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. seguido de una disminución a valores de 64.65 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. durante su maduración (4 d) (Figura 4 A). Akomolafe y Ajayi (2015) mencionan que la capacidad para atrapar el radical DPPH podría estar relacionado con la actividad fenólica, que son capaces de atrapar radicales libres. En los frutos refrigerados a 7 °C por 4 d, la

actividad antioxidante se mantuvo constante al transferirlos al ambiente, se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo (Figura 4 A). Mientras que, en los frutos almacenados a 18 °C por 4 y 8 d, la actividad antioxidante se incrementó después de exponerlos al ambiente (Figura 4 A). Estos incrementos son similares a los reportados por Balois-Morales et al. (2019), quienes sugieren que el incremento inicial se debe a una alta actividad metabólica y el periodo climatérico, además de la mayor concentración de ácido ascórbico durante la cosecha.

Los frutos testigo mostraron una actividad antioxidante inicial por el método de ABTS de 210.62 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f., seguido de una disminución constante a valores promedio de 123.68 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. durante la maduración de los frutos (4 d) (Figura 4 B). Huang et al. (2007) describen que la disminución del radical ABTS podrían estar relacionado con el descenso de los compuestos fenólicos durante el final de la maduración de los frutos. Los frutos almacenados por 4 d a 18 °C presentaron un ligero incremento y posterior descenso en esta actividad; mientras que los frutos refrigerados por 4 d a 7 °C mostraron un ligero descenso al abandonar la baja temperatura (Figura 4 B). Los frutos almacenados por 8 d a 18 y 7 °C mostraron un incremento en la actividad antiradical ABTS al transferir los frutos al ambiente (Figura 4 B) En otras anonáceas, el aumento en la actividad de este radical se observó después de una exposición de los frutos a bajas temperaturas (15 °C por 4 d) (Balois-Morales et al., 2019) como respuesta a una reacción producida por el rompimiento celular. El análisis estadístico no detectó diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos de refrigeración y el tratamiento testigo.

Los frutos testigo mostraron una actividad antioxidante inicial de 156.59 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f., seguido de una disminución constante a valores promedio de 93.75 mg EAA 100 g<sup>-1</sup> p.f. durante la maduración de los frutos (4 d) (Figura 4 C). Vasco et al. (2008) reportan actividades antioxidantes por el método de FRAP de  $23 \pm 6$  μmol equivalentes a Trolox g<sup>-1</sup> en chirimoyas provenientes de Ecuador. Los frutos almacenados por 4 d a 18 y 7 °C mostraron un incremento y posterior descenso en la actividad antioxidante al exponer a los frutos al ambiente. Los frutos almacenados por 8 d a 18 y 7 °C mostraron un incremento constante en la actividad antiradical después de exponer los frutos al ambiente (Figura 3). Sólo los frutos refrigerados a 7 °C por 4 d mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo. Frutos de guanábana refrigerados a 15 °C por 4 d, al exponerlos al ambiente (22 °C) la actividad de FRAP disminuyó en la selección G1 y aumentó en la selección G2; sin embargo, ninguna selección presentó daños por fríos

(Balois-Morales et al., 2019). Diversos autores mencionan que los compuestos antioxidantes son sintetizados en respuesta al estrés generado por las bajas temperaturas (Chongchatuporn et al. 2013, Somogyi et al., 2007).

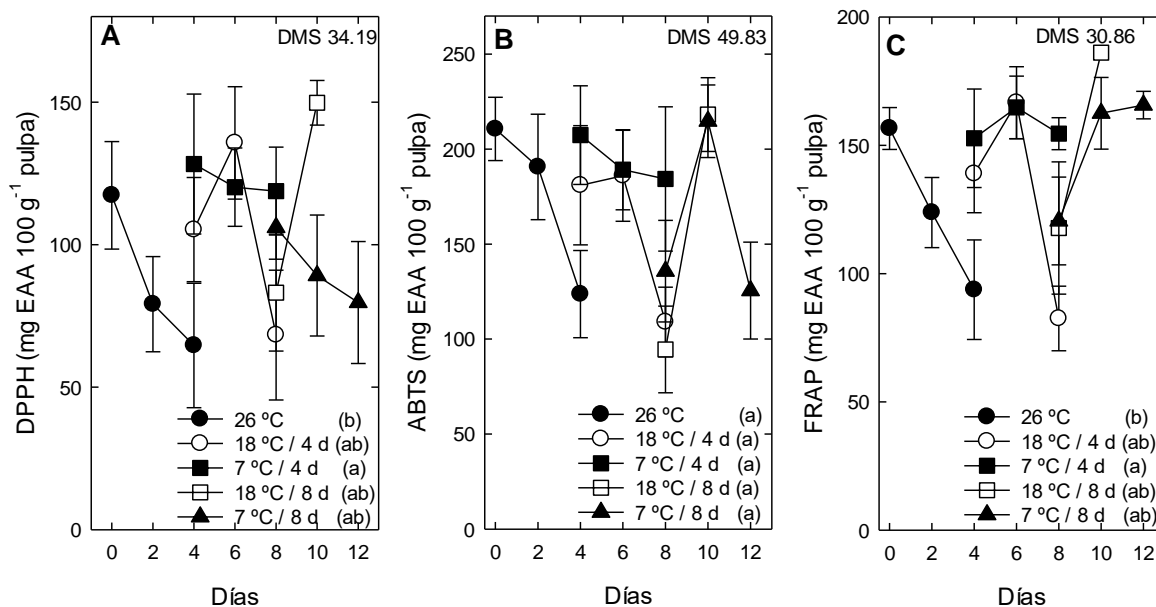


Figura 4. Actividad antioxidante DPPH (A), ABTS (B), y FRAP (C) en frutos de saramuyo almacenados a temperatura ambiente (26 °C) o bajo refrigeración 7 o 18 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

Los frutos testigo mostraron incrementos en el contenido de proteína, con valores de 8.4 mg g<sup>-1</sup> p.s. después de dos días a temperatura ambiente (Figura 5 A). Shukry et al. (2019) reportan valores de proteína de entre 0.73 y 1.41 mg g<sup>-1</sup> de peso fresco en cultivares de saramuyos provenientes de Egipto. Los frutos almacenados por 4 d a 18 y 7 °C mostraron incrementos a valores de 9.06 y 6.26 mg g<sup>-1</sup> p.s. después de dos días al ambiente, posteriormente el contenido de proteína soluble disminuyó después de cuatro días al ambiente, no se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo. Los frutos almacenados por 8 d a 18 y 7 °C mostraron valores máximos de 3.99 y 6.39 mg g<sup>-1</sup> p.s. después de dos y cuatro días al ambiente (Figura 5 A). Los frutos almacenados por 8 d a 18 °C mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos testigo. Zhou et al. (2015) mencionan que el bajo contenido de proteína en frutos refrigerados puede ser atribuido al descenso en la tasa metabólica, originada por los tratamientos de bajas temperaturas.

Los frutos testigo presentaron incrementos de la actividad de CAT a valores de 3542.71 UAE mg g<sup>-1</sup> de proteína (Figura 5 B). Shukry et al. (2019) reportan actividad enzimática de CAT de entre 11.35 y 18.65 mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> de peso fresco en cultivares de saramuyos provenientes de Egipto. Los frutos refrigerados a 7 °C por 4 y 8 d mostraron un incremento en la actividad de CAT a valores de 3888.28 y 2971.5 UAE mg g<sup>-1</sup> de proteína después de dos días a temperatura ambiente, posteriormente los frutos disminuyeron su actividad enzimática (Figura 5 B). Los frutos refrigerados a 18 °C por 4 d incrementaron constantemente la actividad de CAT después de cuatro días al ambiente; mientras que, los frutos refrigerados a 18 °C por 8 d disminuyeron su actividad de CAT después de dos días al ambiente. No se presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos de refrigeración y el tratamiento testigo. En saramuyo se ha reportado que la actividad de CAT disminuye gradualmente durante el almacenamiento de frutos colocados en cajas envueltas con polietileno a 15 °C con 90 % HR durante diez días de almacenamiento (Yiwei Mo et al., 2008). Mientras que en otros frutos como mamey sapote (*Pouteria sapota*) and pitahaya (*Hylocereus undatus*) después de ser refrigerados y expuestos al ambiente la actividad de esta enzima puede incrementar o mantenerse estable (Alia et al., 2005; Balois-Morales et al., 2008). Estas diferencias se deben principalmente a la especie, tiempos de cosecha y condiciones de almacenamiento.

La actividad de SOD de los frutos testigo disminuyó constantemente de valores de 5.19 a 1.59 UAE mg g<sup>-1</sup> de proteína, después de 4 d (Figura 5 C). Los frutos almacenados por 4 d a 18 y 7 °C, presentaron un descenso seguido un incremento en la actividad de SOD después de 4 d al ambiente (Figura 5 C). Esta actividad de SOD es similar a lo reportado por Yiwei Mo et al. (2008) en frutos de saramuyo con refrigeración de 15 °C con 90 % HR, donde se observó que la actividad de SOD se incrementa después de cuatro días seguido de un descenso después diez días. Los frutos almacenados por 8 d a 18 y 7 °C disminuyeron la actividad de SOD después de abandonar la refrigeración y de dos días al ambiente, respectivamente; no existieron diferencias significativas de los tratamientos de refrigeración ( $P \leq 0.05$ ) comparados contra el grupo testigo (Figura 5 C). Una disminución en las actividades de SOD y CAT durante la maduración se puede contribuir a la acumulación de superóxido y peróxido de hidrógeno, resultando en el incremento del estrés oxidativo (Rogiers et al., 1998). Por otra parte, podemos asumir que el incremento en la actividad de SOD a bajas temperaturas es debido a la acción de esta enzima para conferir protección e integridad a la membrana celular.

Los frutos testigo mostraron una disminución constante en la actividad de PFO de valores de 140.53 a 61.09 UAE mg g<sup>-1</sup> de proteína desde su recolección hasta su maduración (Figura 5 D). En frutos de saramuyo provenientes de la India se ha reportado un incremento en la actividad de PFO al evaluarlos durante seis días a temperatura ambiente (25-27 °C) (Vyas et al., 2015). La PFO presenta un papel importante en el pardeamiento de las frutas que es el principal problema en la vida útil del saramuyo. Los frutos almacenados por 4 d a 18 y 7 °C mostraron un aumento en la actividad de PFO al ser transferidos a temperatura ambiente. En frutos de guanábana se ha reportado que la actividad de PFO incrementa después exponerlos a bajas temperaturas (15 °C), mismo incremento en esta actividad enzimática se observó en los frutos testigo (22 °C) (Jiménez et al., 2017). Los frutos almacenados por 8 d a 18 y 7 °C presentaron una tendencia lineal en la actividad de PFO con valores de entre 77.02 y 78.79 UAE mg g<sup>-1</sup> de proteína no existieron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) de los tratamientos de refrigeración comparados contra el tratamiento testigo (Figura 5 D).

Los frutos testigo presentaron un incremento en la actividad de POD con valores de 119.35 a 293.75 UAE mg g<sup>-1</sup> de proteína (Figura 5 E). En saramuyo se ha reportado un incremento durante seis días al ambiente seguido de un descenso en la actividad de POD (Yiwei Mo et al., 2008). La enzima POD cataliza la oxidación de fenoles a quinonas, produciendo colores marrones; sin embargo, esta acción puede degradar a las EROs (Chen et al., 2016). Los frutos refrigerados por 4 d a 18 °C disminuyeron su actividad al exponerlos al ambiente. Caso contrario ocurrió con los frutos almacenados por 4 d a 7 °C y los almacenados por 8 d a 18 y 7 °C debido a que incrementaron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) su actividad de POD al ser removidos de la baja temperatura. Reportes indican al almacenar frutos a bajas temperaturas y su posterior transferencia al ambiente, existen incrementos en la actividad de POD están relacionados con el estrés oxidativo, que causa liberación de POD al citoplasma (Alia et al., 2005; Balois-Morales et al., 2019; Martínez-Damian et al., 2013).

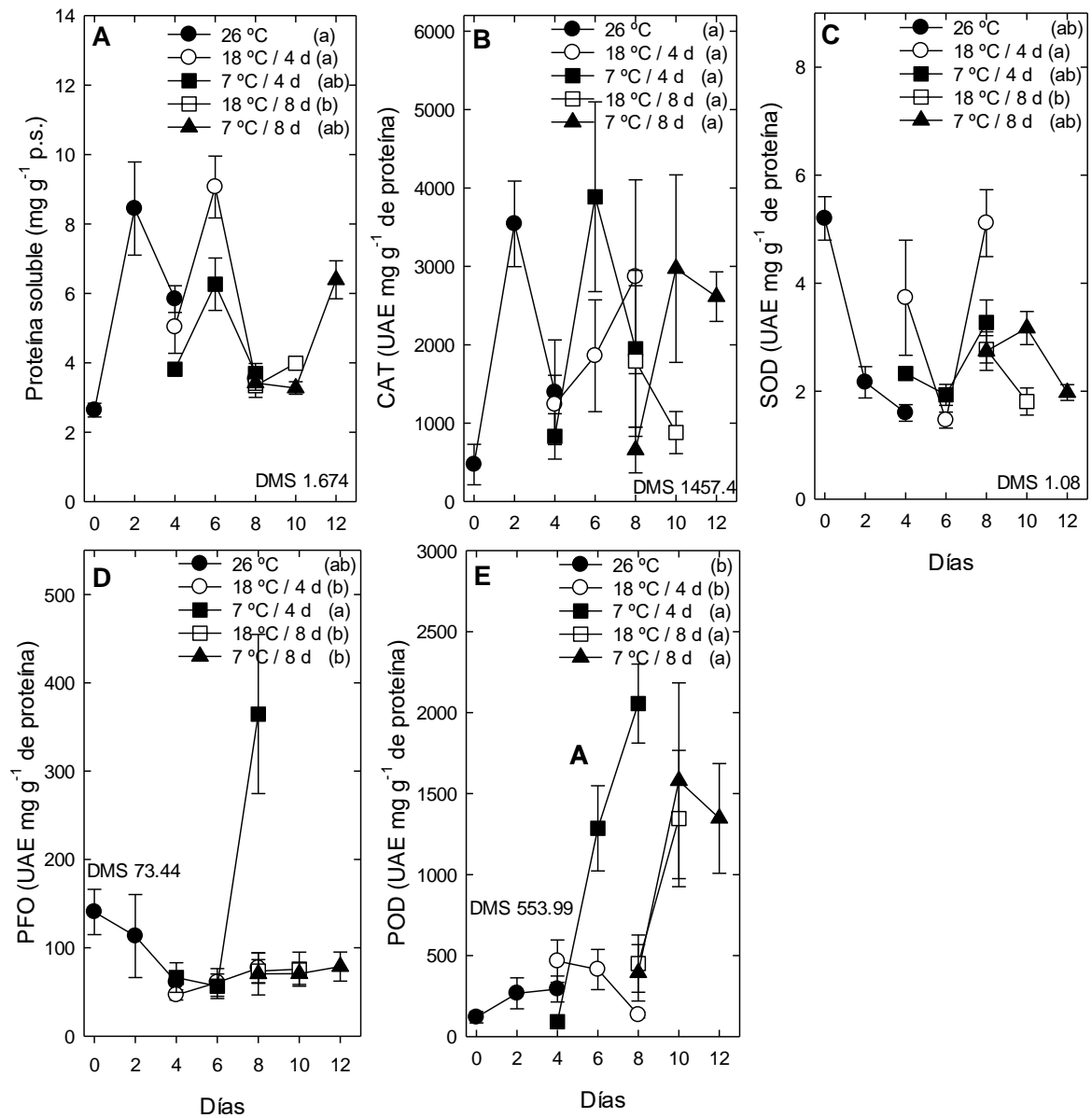


Figura 5. Proteína soluble (A), catalasa (B), superóxido dismutasa (C), polifenoloxidasas (D) y peroxidasa (E) en frutos de saramuyo almacenados a temperatura ambiente (26 °C) o bajo refrigeración 7 o 18 °C por 4 o 8 días. Cada punto representa la media de cinco observaciones y su error estándar. Letras dentro de los paréntesis diferentes entre tratamientos, indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05). DMS: Diferencia mínima significativa.

## CONCLUSIÓN

La refrigeración a 7 y 18 °C no inhibe los procesos de maduración en el saramuyo, la respiración se incrementa, la producción de etileno aumenta en los frutos refrigerados a 18 °C, los frutos expuestos por 8 d a 7 °C se maduran, aunque de manera irregular. El metabolismo de fenoles se incrementa bajo estas condiciones. Sólo la actividad de POD se incrementa. Es posible, que específicamente los frutos provenientes de esta región manifiesten mayores indicadores del daño por frío si se almacenan a temperaturas más bajas.

## CONCLUSIONES GENERALES

En los frutos de guanábana y chirimoya, las temperaturas de 11 y 4 °C presentaron síntomas visuales de daño por frío como una disminución en la acidez titulable y vitamina C, así como incrementos en la actividad antioxidante. Se presentó una menor respiración y producción de etileno en los frutos de guanábana y en los frutos de chirimoya sólo se obtuvo una menor respiración. En los frutos de guanábana se observaron pocos cambios en los parámetros de color y en los frutos de chirimoya se visualizó pardeamiento y endurecimiento de la epidermis. Finalmente, en los frutos de saramuyo no se observaron síntomas de daño por frío en la temperatura de 7 °C, debido a que presentaron pocas diferencias significativas con respecto a los frutos testigo. Mientras que, los frutos almacenados a 18 °C, no se retrasa la maduración de los frutos, debido a que al salir de las bajas temperatura se encontraron senescentes.

## LITERATURA CITADA

- Akomolafe, S. F. y Ajayi, O. B. A. (2015) comparative study on antioxidant properties, proximate and mineral compositions of the peel and pulp of ripe *Annona muricata* (L.) fruit. International Food Research Journal, Selangor, v.22, n.6, p.2381.
- Alia, T. I.; Colinas L. M. T.; Martínez D. M. T.; Soto H. R. M. (2005). Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.)) H. E. Moore and Stearn). II. cambios en fenoles totales y actividad enzimática. Revista Fitotecnia Mexicana, Texcoco, p. 25-32.

- Almeida, M.M.B., de Sousa, P.H.M., Arriaga, Â.M.C. et al. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44(7):2155–2159.
- Andrade, E.H.A., Maria das Graças, B.Z., Maia, J.G.S., Fabricius, H., and Marx, F. (2001). Chemical characterization of the fruit of *Annona squamosa* L. occurring in the Amazon. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(2):227–232.
- AOAC. (1990). *Official Methods and Analysis*. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Helrich, K. (ed.). Arlington, Virginia USA. 1298 p.
- Balois-Morales, Rosendo, Jiménez-Zurita, José Orlando, Alia-Tejacal, Irán, López-Guzmán, Graciela Guadalupe, Palomino-Hermosillo, Yolotzin Apatzingán, & Sánchez-Herrera, Leticia Mónica. (2019). Antioxidant enzymes and antioxidant activity in two soursop selections (*Annona muricata* L.) from Nayarit, Mexico stored at 15 °C. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(1).
- Balois-Morales, R.; Colinas-León, M. T.; Peña-Valdivia, C. B.; Chávez-Franco, S. H.; Alia-Tejacal, I. 2008. Sistema enzimático antisenescencia, catalasa-superóxido dismutasa, de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados con frío. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, Texcoco, v.14, n.3, p.295- 299.
- Batten, D.J. (1990). Effect of temperature on ripening and postharvest life of fruit of atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A squamosa*). c.v. “African Pride”. *Sci. Hortic.* 45, 129 – 136.
- Benzie, I. F. and J. J. Strain. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70-76.
- Benkeblia, N. and Emanuel, M.A. (2014). Variation of reducing and total sugars, total phenols and chlorophylls in soursop (*Annona muricata*) during three “On Tree” ripening stages. *Acta Hortic.* 1047, 153-158.
- Beyer F W, I Fridovich. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analyt. Biochem.* 161:559-566.
- Blackwell R D, A J S Murray, P J Lea. (1990). Enzymes of photorespiratory carbon pathway. In: *Methods in Plant Biochemistry*. P J Lea (ed). Academic Press. USA. pp:129-144.



- Bolivar Fernández, N., C. Saucedo Veloz, S. Solís Pereira, and E. Sauri Duch. (2009). Maduración de frutos de saramuyo (*Annona squamosa* L.) desarrollados en Yucatán, México. *Agrociencia* 43:133–141.
- Botton, A., Tonutti, P. and Ruperti, B. (2019). Biology and biochemistry of ethylene. In *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables*, E. M. Yahia, ed. (Cambridge, UK: Woodhead-Elsevier), p. 92-112.
- Bradford, M. M. (1976). “A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding,” *Analytical Biochemistry*, vol. 72, no. 1-2, p.p. 248-254.
- Brand, W. W., M. E. Culivier, and C. Berset. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 25-30.
- Broughton, W. J., and G. Tan. (1979). Storage conditions and ripening of the custard apple (*Annona squamosa* L.). *Scientia Hort.* 10: 73-82.
- Cainelli, N., Ruperti, B. (2019). Biochemistry and molecular biology in fruits during cold storage. *Annual Plant Reviews* 2, 1-29.
- Chen, Z.; Huang, S.; Zhao, M. (2016). Molecularly Imprinted Polymers for Biomimetic Catalysts, *Molecularly Imprinted Catalysts*, Amsterdam, v.6, p.229-239.
- Chongchatuporn, U.; Ketsa, S.; Doorn, W. G. van. (2013). Chilling injury in mango (*Mangifera indica*) fruit peel: Relationship with ascorbic acid concentrations and antioxidant enzyme activities. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v.86, p.409-417.
- Espinosa, I., R. I. Ortiz, B. Tovar, M. Mata, E. Montalvo. (2013). Physiological and physicochemical behavior of soursop fruits refrigerated with 1-methylcyclopropene. *Journal of Food Quality* 36: 10-20.
- Flurkey W H, J J Jen. (1978). Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.* 43:1828-1831.
- Giannopolities C N, S K Ries. (1977). Superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 59:309-314.

- Huang, R.; Xia, R.; Hu, L.; Lu, Y.; Wang, M. (2007). Antioxidant activity and oxygens scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.113, p.166-172.
- Jagota, S., and H. Dani. (1982). A new colorimetric technique for estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Anal. Biochem.* 128: 178-192.
- Jagtap, U.B., and Bapat, V.A. (2012). Antioxidant activities of various solvent extracts of custard apple (*Annona squamosa* L.) fruit pulp. *Nutrafoods*, 11(4):137–144.
- Jiménez Z. J. O.; Balois. M, R.; Alia. T. I.; Juárez. L.; P., Jiménez. R, E. I.; Bello. L. J. E. (2017). Cold Storage of Two Selections of Soursop (*Annona muricata* L.) in Nayarit, Mexico. *Journal of Food Quality*, Londres, p.1-10.
- Kong, J. M., L. S. Chiam, N. K. Goh, T. F. Chia, and C. Brouillard. (2003). Analysis and biochemical activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64: 923-933.
- Kowsalya, V., Behera, P.R., Mary, E.J., Anusha, N., Vajrai, R., and Brindha, P. (2014). Preliminary phytochemical screening and antibacterial efficacy studies of *Annona squamosa* fruit. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8):286–288.
- Lamikanra O. (1995). Enzymatic browning of Muscadine grapes products. In: *Enzymatic Browning and its Prevention*, C L Lee, J R Whitaker (eds). ACS. Washington, USA. pp:166-177.
- Leal, F. (1990). Sugar Apple. In: Nagy, S., P. E. Shaw, and W. F. Wardowski (eds). *Fruits of Tropical and Subtropical Origin Composition, Properties and Uses*. Florida Science Source, Inc., Lake Alfred, Fla. pp: 149-158.
- Lim, T.K. (2012). *Edible Medicinal and Non-medicinal Plants*, pp. 656–687. Springer: Netherlands.
- Lugwisha E H C, Fabian C, Othman O C. 2016. Postharvest changes in physicochemical properties and l Levels of some inorganic elements in sugar apple (*Annona squamosa* L.) fruits of Coast Region, Tanzania *Journal of Food Nutrition Science* 4: 41–48.

- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., and Crozier, A. (2003). Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83:496–502.
- Maghoumi. M., Gómez. P. A., Mostofi. Y., Zamani. Z., Artés-Hernández., F. Artés. (2013). “Combined effect of heat treatment, UV-C and supertmospheric oxygen packing on phenolics and browning related enzymes of fresh-cuy pomegranate arils,” *LWT-Food Science and Technology*, vol. 54, no. 2, pp. 389-396.
- Martínez M.T., Cruz O., Colinas M.T., Rodríguez J.E., Ramírez S.P. (2013). Actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha piperita* L.) almacenada bajo refrigeración. *Agron. Mesoam* 24(1):57- 69.
- Mohammed Adam Yahya Abdualrahman, Haile Ma, Cunshan Zhou, Abu ElGasim Ahmed Yagoub, Ali Osman Ali, Haroon Elrasheid Tahir, Asif Wali, 2019. Postharvest physicochemical properties of the pulp and seed oil from *Annona squamosa* L. (Gishta) fruit grown in Darfur region, Sudan, *Arabian Journal of Chemistry*, Volume 12, Issue 8. Pages 4514-4521,
- Morton, F. J. (1987). *Fruits of Warm Climates*. Ed. Media Incorporated. Miami, Florida. USA. pp: 69-72.
- Nwokocha, L.M., and Williams, P.A. (2009). New starches: physicochemical properties of sweetsop (*Annona squamosa*) and soursop (*Annona muricata*) starches. *Carbohydrate Polymers*, 78(3):462–468.
- Pareek, S., Yahia, E. M., Pareek, O. P., & Kaushik, R. A. (2011). Postharvest physiology and technology of *Annona* fruits. *Food Research International*, 44(7), 1741–1751.
- Paull., R.E. (1996). Posthrvest atemoya fruit splitting during ripening. *Postharvest Biol. Technol.* 8, 329 – 334.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26: 1231-1337.

- Salazar, Carmen, Vargas-Mendoza, Carlos F., & Flores, José Salvador. (2010). Estructura y diversidad genética de *Annona squamosa* en huertos familiares mayas de la península de Yucatán. *Revista mexicana de biodiversidad*, 81(3), 759-770.
- Salveit, M. E. (2016). Respiratory metabolism. pp: 139-156. In: Pareek, S. (Ed.). *Postharvest Ripening Physiology of Crops*. CRC Press-Taylor & Francis Group. Boca Raton, USA.
- Servicio de Información Agrícola y Pesquera (SIAP). (2019). Cierre de la Producción Agrícola. Consultado el 11 de noviembre de 2019. <http://www.siap.gob.mx/cierre-delaproduccion-agricola-por-cultivo/>.
- Shukry W. M, Galilah D. A, Elrazek A. A, (2019). Mineral composition, nutritional properties, vitamins, and bioactive compounds in *Annona squamosa* L. grown at different sites of Egypt. *Series Bot Environ Sci*;1(1):7- 22.
- Singlenton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology* 299: 152-178.
- Solórzano, M., S., I. Alia T., F. Rivera C., V. López M., L. J. Pérez F., C. Pelayo Z., D. Guillén S., F. D. de León S., and Y. I. Maldonado A. (2015). Quality attributes and functional compounds of Mexican plums (*Spondias purpurea* L.) fruit ecotypes. *Fruits* 70: 261-270.
- Somogyi, A.; Rosta, K.; Pusztai, P.; Tulassay, Z.; Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological Measurement, Bristol*, v.8, p.41-55.
- Stauffer, C. E. (1989). *Enzyme Assays for Food Scientists*. Van Nostrand Reinhold. USA. 317 p.
- Venkatram, A., Bhagwan, A. and Pratap, M. (2013). Effect of polypropylene packaging on shelf life and quality of custard apple *Annona squamosa* L. cv. Balanagar fruits stored at 15±1 °C. *Journal of Research ANGRAU*. 41(3): 1-6.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). *Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador*. *Food Chemistry*, 111(4), 816–823.

- Vishnu Prasanna, K. N., Sudhakar Rao, D. V., & Krishnamurthy, S. (2000). *Effect of storage temperature on ripening and quality of custard apple (Annona squamosaL.) fruits. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 75(5), 546–550.*
- Vyas, P. B., Rao, T. V. R., & Thakkar, V. R. (2015). *Combined effects of chemical and physical elicitors on postharvest quality of custard apple (Annona squamosa L., cv. Balanagar). Scientia Horticulturae, 187, 50–57.*
- Wongs-Aree., C. (2011). Sugar aplee (*Annona squamosa* L.) and Atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A squamosa*). In: Yahia, M. E. (ed). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits. Volumen 4: Mangosteen to white sapote.* Woodhead Publishing. pp: 363-391.
- Yamashita, F., Miglioranza, L. H., Miranda, L. and Souza, C. M. (2002). Effects of packaging and temperatura on postharves of atemoya. *Rev. Bras. Fruticult. 24, 658 – 660.*
- Yiwei, Mo., Gong, D., Liang, G., Han, R., Xie, J., & Li, W. (2008). *Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88(15), 2693–2699.*
- Zhang, X., Shao. X. (2015) “Characterisation of polyphenoloxidase and peroxidase and the role in browning of loquat fruit, “Czech Journal of Food Sciences, vol. 33, no. 2, pp. 109-117.
- Zhao, H., Dong, J., and Lu, J. (2006). Effect of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54:7277–7286.*
- Zhou, H. J.; Ye, Z. W.; Su, M. S.; Du, J. H.; Li, X. W. (2015). Effect of Heat Treatment on Protein Content and the Quality of ‘Hujingmilu’ Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science, Virginia, v.50, n. 10, p. 1531-1536.*



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 14 de diciembre de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae** que presenta el **M. en C. OLIVER MONARRES CUEVAS**, mismo que fue desarrollado bajo mi Codirección con la **DRA. GLORIA ALICIA PÉREZ ARIAS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**DR. IRAN ALIA TEJACAL**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

IRAN ALIA TEJACAL | Fecha:2021-12-14 12:13:50 | Firmante

mPLwLv4m3D+Xcud3CtI9Lmzreiy14wcuMba+Wj9xoj3CBE6rAjrSgRQ+X5ZdcA14tr6BJL/HpLR2pXJSGUv+SkfC/efRYsnv/aSex65bexFDk3OB+biPb1VGh4VvIKA7hitdsLY/GJ8E4IG3gaitwkJH4zW1UGf8pUvkPcybLQ8qzs9+f/nKR/YLuAvzN/DpqUT+wJCKvopmwpcUFW9AfV/iJ4q7IBF1QBPpj0j2ku2b+Jkq04dy/ggKIDegRuRYwvC08PURE6PGj/qIHmqEaV4L6BOR+4dqnhthNBBwv2iN2RzoS7q/pbKJbF0DvWYSGWYR0zytXJTWovRhCIQdw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[vXjlqSPhk](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Lozsb5nGaoVlwngWmh3RICA85b0ex9U>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 14 de diciembre de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae** que presenta el **M. en C. OLIVER MONARRES CUEVAS**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y la **DRA. GLORIA ALICIA PÉREZ ARIAS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx







UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**MANUEL DE JESUS SAINZ AISPURO | Fecha:2021-12-14 17:44:02 | Firmante**

fMSSzOaFW295WU2S443l0jboyD+UZgKyzKHCwSV+/MC535vuUPbClxMEQflWdZNcbGTC849Mfwygw6wx1N1gGtRu5b7h1b3vU1EWfdq3K+ZQsHPMkLQ7eixWV7i0o9lB1ImU  
K3PvlgDYW7MPDL5yJ6q0u6HtPkZ9+IS1Y0r2xuN5rhzM7zEQqThQJBmpDBDWJi0eQTIi3NvhRbClnXbku/RrWTrO453wWf8GATeWP9h9FJaNXm1PTAzt4fykDgAiiuOw0cFNZv  
8eSQnSl2PhkU693lqVWWTiBTzqVbP4LiQzZtx2AYMPFXXkiXlf1Zhb9Zr4eubjOk68HLtferPN55A==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[owqsrNb1z](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/zCjsO9cA0f2ldFqjA6tqyBn65p75qE0r>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 14 de diciembre de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR FRIO EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae** que presenta el **M. en C. OLIVER MONARRES CUEVAS**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y la **DRA. GLORIA ALICIA PÉREZ ARIAS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**PORFIRIO JUAREZ LOPEZ** | Fecha:2021-12-14 12:59:13 | Firmante

bUWMLUQjs8rxUMy+OGEITzHJC5m5zppaDMP5Ov7EbVD14zZQnTb2KVuHX76KXwdj4YEtZ/hBSbYq0RPAInhgbwJTxhNci3geGKGGelMkayLVVWLqW3dv4QY1nxvAM4qViS0Fz9ynODURdix3IXhf6tcKQLiWb9Z2bHoCqe/VhR1Gx+vKOV1cblglILGWfKv0+PZWzovXHjN/5MJZk1PliiSWIGq93HyQM0VUmJ5DZirYBc6fXQUBMjdN+B+KxMzgtqafmWpF MjXt0PtGT0BCcDYKro75eqK0k/qrd0JfZoOOymCz58Kz2J8wckc7D7ITT2pULYVyl8L5ba1jXMUg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



**Nji7uGYCP**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ddWjl9HDV75sFfqZ2AiF4gwudbjL5qv>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 14 de diciembre de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae** que presenta el **M. en C. OLIVER MONARRES CUEVAS**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y la **DRA. GLORIA ALICIA PÉREZ ARIAS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**DR. VÍCTOR LÓPEZ MARTÍNEZ**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**VICTOR LOPEZ MARTINEZ** | Fecha:2021-12-15 10:18:19 | Firmante

cUMQkR48DkUbXSYflVuxZPCC7H7eOwZG+772bUrmc36rc9clczGZI28ySh9CyaDEHP2pic7NAydPgW92CkoH7hcvRW9zO4JyKQ/6YbkBa2/wHml0lhOfxQpbOqpv4+zZ3sDUH  
EQoOxWHJUjafTQz4oYZsoa3OBUBdk041gH9lYp06buEwnEYob3Dce7P6Kw/DUGnYE3pqsw32OybdtwFNEkGEmfYbSoqYxZ5N9hDpSLBPXtxuexJbTaBXkbOwkyH+jup+fA8Z  
DMtQ/2KZgoWvi7Ea6ls6T8nmOAG+ank0/hyi0KHJ+vytNQgw1EHuAWNVAxpOmKpAi8KPatgY6b0OA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



**CZ3YO0F16**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/hDYH5VYmWdkqo3yWC6uwrFPB23PK16Hn>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 14 de diciembre de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae** que presenta el **M. en C. OLIVER MONARRES CUEVAS**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y la **DRA. GLORIA ALICIA PÉREZ ARIAS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**DRA. LIZETTE LILIANA RODRÍGUEZ VERASTEGUI**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**LIZETTE LILIANA RODRÍGUEZ VERÁSTEGUI | Fecha:2021-12-14 15:40:58 | Firmante**

Vv2l6sr9XKHnCPH8WESTXWck/3KFHfsCgkUgnzdllXOsva9ALnVC6VzBjq/EaKEXAqoJmWKeQR0pUav0lQaoGmCLdlbJe2kWTrXx5Sn3+xSA0JUvt7E+FewpAPB6LBBnVJ+1zIUD7qR80l60+ZqPx3st83s9/ruYZMXpK9TM+cZKUoLVThJl5oBZU1Fn9eCoXaZxu1l5D50AAZimSah+d++cNZ6GsdJ755uJAELPNDPaqDCEa2taX8Ke5UsS1m2bq97ZSizpD7gAjpLJae0PzED6YjMS/PS89sNdpElryCpFqPvg4Y03EyGmiZO5HssAm92+RrUitobr3AgzjdjQQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[mXVf8kt6w](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/cYV6EqklwFm65yPQLpHsm3yJMjpTmANb>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
JEFATURA DE PROGRAMAS EDUCATIVOS DE POSGRADO

Cuernavaca, Morelos, 14 de diciembre de 2021.

**Asunto:** Voto Aprobación de Tesis.

**MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESÉNDIZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS.**  
**P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **CARACTERIZACIÓN FÍSICO, QUÍMICO Y FISIOLÓGICO DEL DAÑO POR FRÍO EN FRUTOS DE TRES ESPECIES DE Annonaceae** que presenta el **M. en C. OLIVER MONARRES CUEVAS**, mismo que fue desarrollado bajo la Codirección del **DR. IRAN ALIA TEJACAL** y la **DRA. GLORIA ALICIA PÉREZ ARIAS**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*

**DR. SALVADOR VALLE GUADARRAMA**  
**Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209  
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 3304. fagropecuarias@uaem.mx







UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**SALVADOR VALLE GUADARRAMA | Fecha:2021-12-15 09:46:10 | Firmante**

GMWnBkf8RbqN+EUXh+G6x8/zcGh/4Fj8Xazo4X0iwQ+1jxvm9/FrNEOkwEF5WX+EJJEk2y8DFIU/XZ/AYsDCc5CLHGsovi1EAVC782Ra222W/tPAfy2SG1W/pYBKNRcDMiG0YA  
CgnO8maOuOH6xB6XsyNF0Nkm8yS+c3ldmlGzMufiBk5Wg6LNHuC8buleOeTIGM6/qsXBZWzzmOx61ybnlNAGZJvNyyDYaxirt8r4jGlx0i91tQUqj0Dehy7rlpAA/6aoN0yxPDX+M  
IC+t9VxdfVZ/SKkmetVL7JbSN7KwGV1OaUaccddk/FQjKUH8dLDTHeoqPLe8cjSDoDRRFA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[OE2jLxyYQ](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/IB7peNPhR7OufzA8qn8t92Cx7wkrW8Dq>

