

SISTEMA DE ESTRÉS OXIDATIVO, FENOLES-POLIFENOL OXIDASA-PEROXIDASA, DE FRUTOS DE PITAHAYA (*Hylocereus undatus*) ALMACENADOS CON FRÍO

R. Balois-Morales^{1¶}; M. T. Colinas-León²;
C. B. Peña-Valdivia¹; S. H. Chávez-Franco¹;
I. Alia-Tejaca³

¹Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados,
Campus Montecillo. Km. 36.5. Carretera México-Texcoco,
Montecillo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.
Correo-e: rosendobm@colpos.mx ([¶]Autor responsable)

²Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo.
Km. 38.5 Carretera México-Texcoco.
Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

³Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos,
Av. Universidad 1001, Cuernavaca, Morelos. C. P. 62210. MÉXICO.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la temperatura en el metabolismo oxidativo de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) durante el almacenamiento con frío y temperatura ambiente. Lotes de frutos, cosechados en Tehuacán, Puebla, fueron almacenados cuatro días a temperatura ambiente (22 ± 1 °C), y a 3, 7 y 11 ± 1 °C durante 7, 14 y 21 días, y cuatro días a 22 ± 1 °C al concluir cada período de frigoalmacenamiento. Se determinó el contenido de fenoles totales y la actividad de la polifenol oxidasa (EC. 1.14.18.1; PFO) y peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD) en la pulpa de los frutos de 20 tratamientos que incluyó un testigo sin almacenamiento. Cuatro días de almacenamiento a 22 °C no modificaron el contenido de fenoles solubles ($2.4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), respecto al testigo. El almacenamiento con frío generó pocos cambios en los fenoles y tendieron a incrementar con el tiempo de almacenamiento y temperaturas menores. El almacenamiento con frío inhibió, sin un patrón identificable, las actividades PFO y POD; siete y 21 días a 3 °C disminuyeron 50 % ($> 10 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$) la actividad PFO y la inhibición se mantuvo después de cuatro días a 22 ± 1 °C, complementarios al frigoalmacenamiento. El cambio a 22 ± 1 °C, por cuatro días, después de los períodos a 3 ± 1 °C mantuvo inhibida la actividad POD; en contraste, la inhibición a 7 y 11 ± 1 °C fue parcial o totalmente revertida después de regresar los frutos a 22 ± 1 °C. Los resultados pueden tomarse como evidencia de que sólo las temperaturas menores a 11 °C provocan degradación celular parcial en los frutos de pitahaya y es reversible, cuando el período es sólo de algunos días.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: frutos, almacenamiento, frigoalmacenamiento, oxidación, enzimas.

OXIDATIVE STRESS SYSTEM, PHENOLS-POLIPHENOL OXIDASE-PEROXIDASE, IN PITAHAYA (*Hylocereus undatus*) FRUITS STORED UNDER LOW TEMPERATURES

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the temperature effect on the "pitahaya" (*Hylocereus undatus*) fruit oxidative metabolism during storage at low and room temperature. Batches of fruits, harvested in Tehuacan, Mexico's Puebla State, were stored four days at room temperature (22 ± 1 °C), and at 3, 7 and 11 ± 1 °C during 7, 14 and 21 days, and four days at 22 ± 1 °C after each cold-storage period. The total phenols content, and the poliphenol oxidase (EC. 1.14.18.1; PFO) and peroxidase (EC. 1.11.1.7; POD) activity were evaluated in the fruit pulp from the 20 treatments, including a control without storage. Four days at 22 °C did not modify phenol content ($2.4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) compared with control. Cold storage generated small changes in phenols and they have a tendency to increase directly with storage time and inversely with storage temperature. Low temperature inhibited, without an identifiable trend, the PFO and POD activity; seven and 21 days at 3 °C diminished 50 % the initial PFO activity ($> 10 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$) and the inhibition continued after four days at 22 °C after cold-storage. Changing to 22 ± 1 °C during four days, after 3 ± 1 °C storage, kept inhibited POD activity.

On the contrary, the POD activity inhibition at 7 and 11 ± 1 °C was partially or totally reverted after returning the fruits at 22 ± 1 °C. These results can be considered evidence that in the pitahaya fruits only temperatures lower than 11 °C causes partial and non permanent cellular degradation when the storage period is of just few days.

ADDITIONAL KEY WORDS: fruits, storage, cold-storage, oxidation, enzymes.

INTRODUCCIÓN

La pitahaya (*Hylocereus undatus*) es un fruto exquisito y exótico, además de complejo, parecido a una baya grande y globosa que tiene cáscara color rojo característico cuando madura y está cubierta con brácteas, su pulpa es blanca y posee numerosas semillas pequeñas (Centurión *et al.*, 2000; Rodríguez, 2000). Los frutos son muy cotizados en el mercado internacional por su exquisito sabor, aroma, color y apariencia atractiva. En frutos tropicales, como *H. undatus*, la aplicación de frío durante el manejo postcosecha mantiene su calidad, al reducir su metabolismo y prolonga su vida de anaquel (Wismer, 2003). Las temperaturas bajas retardan la senescencia, aunque pueden causar daño físico que provoca el deterioro y pérdida del valor comercial (Alia-Tejacal *et al.*, 2000). La aparición del daño por frío está en función del tiempo y temperatura de exposición (Wills *et al.*, 2004). El oscurecimiento es una reacción mediada por enzimas, como la polifenol oxidasa (EC. 1.14.18.1; PFO) y peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD), que catalizan la oxidación de los fenoles propios de la célula, abundantes en las vacuolas, que generan quinonas. Estos compuestos además de originar colores oscuros, reducen la calidad y conducen a la muerte del fruto (Apel y Hirt, 2004). El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos del frío en el contenido de fenoles y actividad de dos enzimas involucradas en su oxidación, PFO y POD, y determinar, con base en la información obtenida, si el frío inhibe o activa el desarrollo de colores oscuros indeseables en los frutos de pitahaya durante el almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron frutos de pitahaya cosechados en el Valle de Tehuacán, Puebla, en septiembre de 2004, con un índice de cosecha Grado III, de acuerdo con la clasificación de Centurión *et al.* (2000); se colocaron en cajas de polietileno, con capacidad de 20 kg (previamente desinfectadas) y se transportaron al laboratorio, en un tiempo de 20 horas. En el laboratorio, los frutos fueron re-seleccionados y se descartaron aquellos con daños. Al final se obtuvo una muestra de 170 frutos, que se separó en cinco lotes. Uno fue analizado inmediatamente y fue considerado testigo sin almacenamiento. Los otros cuatro fueron almacenados a 3 ± 1 , 7 ± 1 , 11 ± 1 °C y temperatura ambiente (22 ± 1 °C); los lotes almacenados con frío fueron muestreados a los 7, 14 y 21 días, una parte de esas muestras se mantuvo a temperatura ambiente, por cuatro días, y la otra fue analizada en ese momento. El lote almacenado a 22 °C se analizó después de cuatro días; similarmente, las muestras transferidas a temperatura ambiente, después del

almacenamiento con frío, se analizaron después de cuatro días. Así, se generaron 20 tratamientos.

El diseño experimental fue un completamente al azar, con cinco repeticiones y un fruto como unidad experimental. El análisis estadístico incluyó un análisis de varianza, y la comparación múltiple de medias se realizó con el método de Tukey a una $P \leq 0.5$ y fue realizado con el paquete estadístico SAS (SAS, 2000).

Se evaluaron las actividades enzimáticas PFO y POD, y se determinó la concentración de los fenoles totales y proteína soluble. El contenido total de fenoles se determinó con el método propuesto por Folin & Ciocalteu, modificado por Waterman y Mole (1994). Se trituraron 0.5 g de pulpa fresca, con alcohol etílico al 80 % (en agua v:v), durante 30 segundos, en un homogeneizador de tejidos. Se colocaron 0.85 ml de agua deionizada en tubos de ensaye, se les agregó 0.15 ml del sobrenadante, 16 ml de agua deionizada y 1 ml de solución Folin & Ciocalteu, la mezcla se agitó, luego, antes de los siguientes 8 minutos, se le agregó 2 mililitros de carbonato de sodio al 20 % (en agua p:v). La mezcla se dejó reposar por dos horas y después se determinó su absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro. El desarrollo de color es proporcional a la concentración de fenoles libres. Para calcular la concentración de fenoles en las muestras se utilizó una curva preparada con ácido tánico. Los resultados se presentan en miligramos de ácido tánico por gramo de tejido fresco.

La actividad PFO se evaluó con el método propuesto por Lamikanra (1995) con modificaciones. La enzima se extrajo a partir de dos gramos de pulpa fresca con cinco mililitros de solución extractora Trizma HCl (tris-HCl) 100 mM (pH 7.1), fría, que contenía 1 % de polivinil pirrolidona (PVP). La pulpa en solución tris-HCl se trituró durante 30 segundos en un homogeneizador de tejidos; posteriormente, la mezcla se centrifugó por 20 min a $10000 \times g$ y 4 °C. Se cuantificó el cambio de absorbancia en 0.2 ml del sobre-nadante, en 1.33 min, a 420 nm, en un espectrofotómetro. Al sobrenadante se le agregaron tres mililitros de catecol (20 mM) disuelto en solución tris-HCl y todo se mantuvo entre 20 y 22 °C. La actividad enzimática se presenta en unidades internacionales por gramo de tejido fresco ($U \cdot g^{-1}$), y cada unidad de PFO cataliza la síntesis de un $i \text{ mol} \cdot \text{min}^{-1}$ de ó-benzoquinona.

La actividad POD se determinó con el método descrito por Flurkey y Jen (1978) con modificaciones. La enzima se extrajo en forma similar a lo descrito para PFO sólo que la mezcla se centrifugó 20 min a $15000 \times g$, a 4 °C. El

sobrenadante se utilizó para evaluar el cambio de absorbancia en 2.83 min a 470 nm en un espectrofotómetro. La actividad enzimática se cuantificó en un volumen total de tres mililitros, de los cuales dos y medio eran amortiguador tris-HCl, 0.25 ml de una solución de guaiacol 0.1 M, 0.1 ml de H_2O_2 (0.25) y 0.15 ml del sobrenadante. El ensayo se realizó a temperatura de entre 20 y 22 °C. La actividad enzimática se presenta en unidades internacionales por gramo de tejido fresco ($U \cdot g^{-1}$) y cada unidad de POD cataliza la síntesis de un μ mol \cdot min $^{-1}$ de tetraguaiacol.

La cuantificación de fenoles y actividad enzimática se desarrolló, desde su inicio hasta la lectura de la absorbancia, en penumbra.

La proteína soluble se cuantificó con el método descrito por Bradford (1976) con modificaciones; dos gramos de pulpa fresca con cinco mililitros de solución extractora Trizma-HCl (triz-HCl 0.1 M, pH 7.1) fueron triturados 30 segundos. La mezcla se centrifugó por 20 minutos a 12,000 x g a 4 °C. Se adicionaron cinco mililitros de la solución conocida como azul de Comassie a una muestra de 0.05 ml del sobrenadante, se agitó y se dejó reposar por 12 min, se tomó la lectura de absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro digital. El contenido de proteínas se cuantificó con ayuda de una curva de calibración elaborada con albúmina bovina. La concentración de proteína se presenta en miligramos por gramo de tejido fresco ($mg \cdot g^{-1}$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los compuestos fenólicos son sustratos susceptibles a la oxidación catalizada por enzimas como PFO y POD. Entre los frutos existe un grupo que posee un sistema enzimático que cataliza esa transformación de los fenoles, con el oscurecimiento de la pulpa. El contenido de fenoles solubles de los frutos de pitahaya no se modificó significativamente con el almacenamiento a 22 °C por cuatro días (Cuadro 1). El contenido de fenoles de este fruto es menor que en zapote negro (*Diospyros digyna* Jacq.) maduro ($4.4 \text{ mg} \cdot g^{-1}$) (Arellano-Gómez *et al.*, 2005), pero mayor que en zapote mamey maduro (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn) ($0.60 \text{ mg} \cdot g^{-1}$) (Alia *et al.*, 2005). La variabilidad amplia y contenido elevado de fenoles en los frutos fue señalada por Imeh y Khokhar (2002), quienes determinaron que en un grupo de 14 frutos, que incluyó manzana, peras, duraznos y kiwi, el contenido medio varió

entre 272 a 475 mg de CtE por cada 100 g de tejido fresco.

El almacenamiento con frío de los frutos de pitahaya generó pocos cambios en el contenido de fenoles, con una cierta tendencia a incrementarse en los tratamientos con las dos temperaturas menores y el período más prolongado complementado con los cuatro días a temperatura ambiente (Figura 1).

En los procesos de degradación oxidativa de los compuestos fenólicos, como los que suceden en frutos almacenados con frío, las enzimas PFO y POD son relevantes, pues generan oscurecimiento de los tejidos (Tomás y Espín, 2001). Esto se debe en parte, al hecho de que el oscurecimiento de los tejidos vegetales con frecuencia está asociado con la actividad de la PFO (Paull y Chen, 2000). Las evidencias experimentales de este efecto se tienen en el oscurecimiento de la raíz de jícama (*Pachyrizus erosus* L.) (Aquino-Bolaños y Mercado-Silva, 2004), zapote negro (Arellano-Gómez *et al.*, 2005) y zapote mamey (Alia *et al.*, 2005), entre otros. Dicho oscurecimiento generalmente es indeseable, pues afecta la calidad de los frutos y productos hortícolas en general. Al respecto, es conveniente mencionar que quizá una de las excepciones es el zapote negro, en el que en los cinco días que le toma madurar en postcosecha (de madurez fisiológica a la de consumo) a 25 °C, los fenoles de la pulpa se reducen hasta 85 % por una reacción de oxidación catalizada por PFO, y la actividad de esta enzima incrementa 52 %; todo lo anterior contribuye al color negro-castaño oscuro característico de la pulpa (Arellano-Gómez *et al.*, 2005). Éste no es el caso de los frutos de pitahaya, con pulpa blanca, y un incremento de las actividades PFO y POD durante el almacenamiento podría ir en detrimento de la calidad. Sin embargo, los resultados del presente estudio mostraron que el almacenamiento de los frutos de pitahaya por cuatro días a temperatura ambiente disminuyó 60 % la actividad de PFO; aunque la actividad de POD incrementó poco más del doble en el mismo tiempo y condiciones (Cuadro 1). Este resultado puede ayudar a explicar la aparente estabilidad del contenido de fenoles en los frutos almacenados cuatro días a temperatura ambiente, sin refrigeración previa; pues, la actividad de una de las enzimas encargadas de su oxidación (POD) disminuyó drásticamente (Cuadro 1).

En general, el almacenamiento con frío afectó negativamente la actividad PFO sin un patrón identificable,

CUADRO 1. Contenido de fenoles y proteína soluble y actividad de polifenol oxidasa (PFO) y peroxidasa (POD) de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados a temperatura ambiente (22 ± 1 °C).

Período de almacenamiento (días)	Fenoles totales ($mg \cdot g^{-1}$)	Polifenol oxidasa ($U \cdot g^{-1}$)	Peroxidasa ($U \cdot g^{-1}$)	Proteína soluble ($mg \cdot g^{-1}$)
0	2.37 a	18.08 a	15.06 b	0.123 b
4	2.54 a	7.39 b	42.99 a	0.210 a

Valores seguidos por la(s) misma(s) letra(s) son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

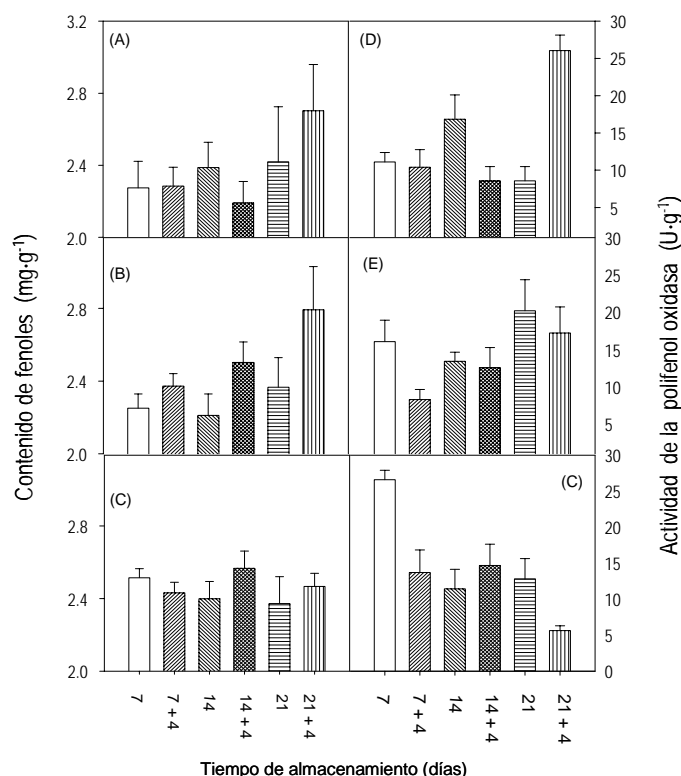


FIGURA 1. Contenido de fenoles (A-C) y actividad de polifenol oxidasa (PFO) (D-F) en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados a 3 (A, D), 7 (B, E) u 11 ± 1 °C (C, F), por siete, 14 o 21 días y transferidos a 22 ± 1 °C, por cuatro días (+ 4). Las líneas sobre las barras indican el error estándar (N=4). El contenido de fenoles y la actividad de la PFO al inicio del almacenamiento y después de cuatro días a 22 ± 1 °C, sin refrigeración previa, fue 2.4 y 2.5 mg·g⁻¹ y 18.08 y 7.39 U·g⁻¹, respectivamente.

respecto a los frutos recién cosechados; en particular, los tratamientos a 3 ± 1 °C mostraron actividad significativamente menor. Siete y 21 días a 3 °C fueron suficientes para disminuir hasta 50 % la actividad inicial PFO (Figura 1). Además, el almacenamiento por cuatro días a temperatura ambiente, adicional al almacenamiento con frío, en general mantuvo el efecto inhibitorio del frío en PFO, en la mayoría de los tratamientos, aunque hubo alguna excepción (Figura 1).

Similarmente a PFO, la actividad POD fue inhibida significativamente por el frío, respecto a la actividad de los frutos recién cosechados, y salvo una excepción la inhibición fue varias veces mayor cuando los frutos fueron almacenados a 3 ± 1 °C. El cambio a 22 ± 1 °C, por cuatro días, después de los diferentes periodos a 3 ± 1 °C, mantuvo inhibida la actividad de POD. En contraste, la inhibición de la actividad POD a 7 y 11 ± 1 °C fue parcial o totalmente revertida después de regresar los frutos a 22 ± 1 °C por cuatro días (Figura 2A).

Alia *et al.* (2005) determinaron que la actividad de PFO se incrementó en los frutos de mamey (*P. sapota* (Jacq.)

H.E. Moore and Stearn) cuando fueron almacenados, por 21 días a 20 °C, durante el cambio de madurez fisiológica a madurez de consumo, con este incremento se observó la disminución del contenido de fenoles totales y astringencia. Los mismos investigadores detectaron la caída de la actividad de la enzima PFO, durante la refrigeración, junto con daños por frío en la pulpa. El efecto inhibitorio del frío en la actividad PFO ha sido documentado en otros frutos, como aguacate (*Persea americana* Mill) (Undurraga *et al.*, 2003). Baquero *et al.* (2005) señalaron que tanto la actividad PFO como POD incrementaron significativamente en los frutos de pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*) durante los primeros seis días postcosecha, como producto del proceso de maduración y senescencia, en los que el pardeamiento y necrosis fueron evidentes. Por ello, los mismos autores sugirieron que la efectividad de los procesos postcosecha, que se apliquen a los frutos como la pitaya, debe inhibir la actividad de ambas enzimas, PFO y POD. Efectivamente, en pitahaya la inhibición de ambas actividades, en la mayoría de los tratamientos del presente estudio disminuyó el desarrollo del defecto de pardeamiento

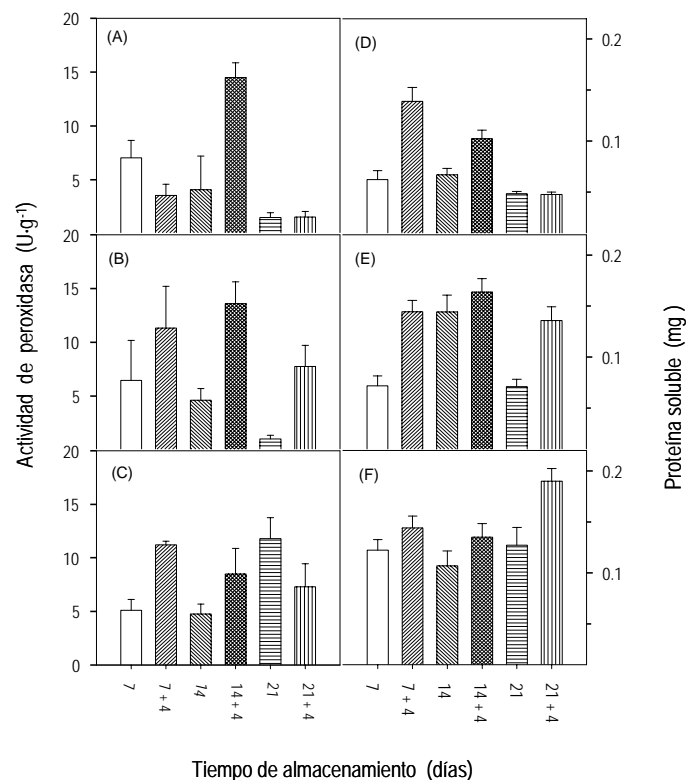


FIGURA 2. Actividad de peroxidasa (POD) (A, B y C) y contenido de proteína soluble (D, E y F) en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados a 3 (A y D), 7 (B y E) u 11 ± 1 °C (C y F), por siete, 14 o 21 días y transferidos a 22 ± 1 °C, por cuatro días (+ 4). Las líneas sobre las barras indican el error estándar (N=4). La actividad al inicio del almacenamiento y después de cuatro días a 22 ± 1 °C, sin refrigeración previa, fue 15.01 y 42.99 U·g⁻¹ y 0.123 y 0.210 mg·g⁻¹, respectivamente.

u oscurecimiento de la pulpa, el que se visualizó sólo en forma de manchones pequeños en los frutos de los tratamientos con almacenamiento mayor a los 14 días (resultados no mostrados).

Así mismo, Alia *et al.* (2005) señalaron que en los frutos de mamey (*P. sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn) almacenados a 5 °C se retardó la disminución de los fenoles totales e inhibió la actividad PFO, ocho días después de haber sido transferidos a 20 °C. Lo anterior corrobora que la disminución de la actividad PFO, debida al frío durante el almacenamiento, en diversos frutos parece ser un efecto general; es decir que esta actividad enzimática es sensible al frío. En contraste, en los frutos de mandarina 'Fortune' almacenados dos semanas a 2 °C, se presentó incremento de la actividad PFO y oscurecimiento (Lafuente y Sala, 2000; Lafuente *et al.*, 2003).

Se ha señalado que la reacción de oscurecimiento probablemente es producida por la oxidación de los fenoles, al respecto, Nerd *et al.* (1999) determinaron que los frutos de pitahaya, almacenados a 6 °C durante dos semanas y transferidos a 20 °C, desarrollan síntomas de daños por frío, como oscurecimiento y marchitamiento de la cáscara, y desarrollo de manchas color marrón en la pulpa. Además, los citados autores señalaron que los cambios anteriores se deben a que cuando los tejidos vegetales son estresados por factores como el frío, ocurren cambios en la intensidad respiratoria, acumulación de compuestos fenólicos e incremento de la actividad PFO, lo que puede provocar cambios en la permeabilidad de las membranas de todo el tejido, así como oscurecimiento y ablandamiento. Estos efectos del frío y alteraciones en los tejidos han sido descritos en los frutos de carambola (*Averrhoa carambola* L. cv. B10) por Pérez-Tello *et al.* (2001) y Ali *et al.* (2004).

Así, las evidencias experimentales indican que existe un traslape entre el beneficio generado por el almacenamiento con frío y el daño en los tejidos que conducen al aceleramiento de la senescencia.

Es de llamar la atención el hecho de que aunque la PFO haya incrementado su actividad en algunos de los tratamientos con frío, respecto a los frutos recién cosechados, la concentración de fenoles prácticamente se mantuvo sin cambio estadístico entre todos los tratamientos. Esto podría indicar que durante la poscosecha se activa la síntesis de fenoles, lo que parece improbable, pues en esta etapa fisiológica generalmente prevalece la degradación de fenoles sobre la síntesis. Lo anterior condujo a suponer que en realidad podría haber otra fuente de dichos compuestos en el fruto. Efectivamente, es probable que las semillas, notablemente abundantes en el fruto de pitahaya, contribuyan al contenido de fenoles cuantificado en la pulpa total (con semillas). Pues, en este trabajo, como en otros en los que se ha estudiado la pitahaya y pitaya, inclusive la tuna, normalmente no se eliminan las semillas durante la realización de las evaluaciones.

La disminución de las actividades PFO y POD en los frutos de pitahaya almacenados con frío, podría ser principalmente resultado de la inhibición de la actividad de estas enzimas; sin embargo, en los frutos de pitahaya la menor actividad de ambas enzimas pareció estar relacionada con procesos de degradación celular (senescencia acelerada por el frío), pues la proteína soluble disminuyó significativamente, a menos de la mitad, con el almacenamiento a 3 ± 1 y 7 ± 1 °C (Figura 2 D y E). Además, a 11 ± 1 °C el contenido de proteína se mantuvo estadísticamente igual que en los frutos recién cosechados (Figura 2 F). El efecto del frío en el contenido de proteína soluble se revertió parcialmente en el tratamiento que permaneció menos tiempo (7 días) a 3 ± 1 °C y totalmente en los de 7 ± 1 °C (Figura D y E). Estos resultados pueden tomarse como evidencia de que en los frutos de pitahaya sólo las temperaturas menores a 11 °C provocan degradación celular parcial y no permanente cuando el período es sólo de algunos días. El incremento estadísticamente significativo del contenido de proteína, al doble (Cuadro 2), después de cuatro días de la cosecha, a 22 ± 1 °C, puede ser evidencia parcial del incremento acelerado del metabolismo de los frutos de pitahaya, pues el aumento del contenido de proteína en los tejidos vegetales frecuentemente está directamente relacionado con la actividad respiratoria y de proteasas, hidrolasas de pared celular, lipoxidasas y otras (Azcon-Bieto y Talón, 2000).

CONCLUSIONES

Los resultados pueden tomarse como evidencia de que en los frutos de pitahaya sólo las temperaturas menores a 11 °C provocan degradación celular parcial y no permanente cuando el período es sólo de algunos días, por lo que el frío aplicado no desarrolló colores oscuros permanentes.

LITERATURA CITADA

- ALI, Z. M. C.; LIENG-HONG, M.; HAMID, L. 2004. Low temperature storage and modified atmosphere packaging of carambola fruit and their effects on ripening related texture changes, wall modification and chilling injury symptoms. *Postharvest Biology and Technology* 33: 181-192.
- ALIA-TEJACAL, I.; SAUCEDO-VELOZ, C.; MARTÍNEZ-DAMIÁN, M. T.; COLINAS-LEÓN, M. T. 2000. Temperaturas de almacenamiento y maduración en frutos de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn). *Rev. Chapingo serie Horticultura* 6(1): 73-78.
- ALIA, T. I.; COLINAS L., M. T.; MARTÍNEZ D., M. T.; SOTO, H. M. R. 2005. Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn) II: Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 28(1): 25-32.
- APEL, K.; HIRT, H. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
- AQUINO-BOLAÑOS, E. N.; MERCADO-SILVA, E. 2004. Effects of polyphenol oxidase and preoxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. *Postharvest*

Biology and Technology 33: 275-283.

- ARELLANO-GÓMEZ, L. A.; SAUCEDO-VELOZ, C.; ARÉVALO-GALARZA, L. 2005. Cambios bioquímicos y fisiológicos durante la maduración de frutos de zapote negro (*Diospyros digyna* Jacq.) Agrociencia 39: 173-181.
- AZCON-BIETON, J.; TALON, M. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. McGraw Hill. Barcelona. 522 p.
- BAQUERO D., L. E.; CASTRO R., J. A.; NARVÁEZ C., C. E. 2005. Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa de pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. Acta Biológica Colombiana 10: 49-59.
- 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.
- CENTURIÓN, Y. A.; PÉREZ, R. V.; SOLÍS, P.; BÁEZ, S. R.; MERCADO S. E.; SAUCEDO V. C.; SAURI, D. E. 2000. Crecimiento, desarrollo y comercialización de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) durante la postcosecha. Rev. Iber. Hort. Mex. 7(3): 419-425.
- FLURKEY, W. H.; JEN, J. J. 1978. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. J. Food Sci. 59: 581-584.
- IMEH, U.; KHOKHAR, S. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. J. Agric. Food Chem. 50(22): 6301 -6306.
- LAFUENTE, M. T.; SALA, J. M. 2000. Catalasa enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruits to chilling. Postharvest Biology and Technology 20: 81-89.
- LAFUENTE, M. T.; ZACARÍAS, L.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A.; SÁNCHEZ-BALLESTA, M. T.; GRANELL, A. 2003. Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. Postharvest Biology and Technology 29: 309-318.
- LAMIKANRA, O. 1995. Enzymatic browning of Muscadine grapes products. pp. 166-177. In: Enzymatic Browning and its Prevention, LEE, C. L.; WHITAKER, J. R. (eds). ACS. Washington, USA.
- NERD, A.; GUTMAN, F.; MIZRAHI, Y. 1999. Ripening and postharvest behavior of fruits of two *Hylocereus* species (cactaceae). Postharvest Biology and Technology 17: 39-45.
- PAULL, R. E.; CHEN, J. N. 2000. Heat treatment and fruit ripening. Postharvest Biology and Technology 21: 21-37.
- PÉREZ-TELLO, G. O.; SILVA-ESPINOZA, B. A.; VARGAS-ARISPURO, I.; BRICENO-TORRES, B. O.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A. 2001. Effect of temperature on enzymatic and physiological factors related to chilling injury in carambola fruit (*Averrhoa carambola* L.). Biochem. Biophys. Res. Com. 287: 846-851.
- RODRÍGUEZ, C. A. 2000. Producción y comercialización de pitahayas en México. Claridades Agropecuarias 82: 44.
- SAS. 2000. SAS. User's guide: statistics. Versión 8.1. SAS. Institute Inc. Cary, NC. USA. 1290 p.
- TOMÁS, B. F. A.; ESPIN, J. C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. J. Sci. Food Agric. 81:853-876.
- UNDURRAGA, P.; OLAETA, J. A.; OPAZO, G. 2003. Caracterización histológica y bioquímica de desórdenes fisiológicos en paltas (*Persea americana* MILL.) cv. Hass en almacenaje refrigerado, en dos estados de madurez. Proceedings V World Avocado Congress. pp. 653-658.
- WATERMAN, P. G.; MOLE, S. 1994. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 238 p.
- WILLS, R. B.; MCGLASSON, D.; GRAHAM, J.; JOYCE, D. 2004. Postharvest. An introduction to the Physiology & Handling of fruit, vegetables & ornamentals. 4th edition. UNSW PRESS. Australia. 262 p.
- WISMER, W. V. 2003. Low temperature as a causative agent of oxidative stress in postharvest crops. pp. 55-68. In: HODGES M., D. (ed). Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops. Food Products Press. New York.