

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES
DE FRESA (*Fragaria x ananassa* Duch.) EN POSTCOSECHA
CON CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN.**

MARÍA DEL CARMEN ZARAGOZA ORTEGA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2015

La presente tesis titulada: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES DE FRESA (*Fragaria x ananassa* Duch.) EN POSTCOSECHA CON CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN. Realizada por la alumna: MARÍA DEL CARMEN ZARAGOZA ORTEGA, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

BOTÁNICA

CONSEJERO:



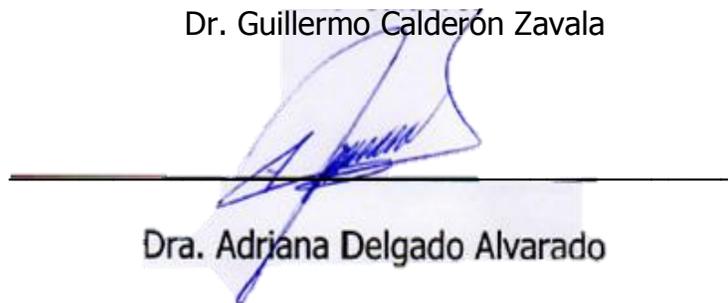
Dr. F. Víctor Conde Martínez

ASESOR



Dr. Guillermo Calderón Zavala

ASESOR



Dra. Adriana Delgado Alvarado

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2015

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES VARIEDADES DE FRESA (*Fragaria x ananassa* Duch.) EN POSTCOSECHA CON CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN.

María del Carmen Zaragoza Ortega, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2015

RESUMEN

El fruto de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) es una fuente importante de azúcares, y de fenoles, antocianinas y vitamina C, entre otros. Estos compuestos han mostrado capacidad antioxidante *in vitro* e *in vivo* que inciden en beneficios para la salud, como es la disminución de la incidencia de enfermedades crónicas. El contenido de estos compuestos varía en función del genotipo e interacciones ambientales, así como, al estado de maduración del fruto y al manejo postcosecha. El fruto de fresa por ser no climatérico debe ser cosechado en su estado máximo de maduración, y la refrigeración es una de las tecnologías difundidas para el mantenimiento de frutos, porque disminuye sustancialmente los procesos metabólicos. Los frutos de las variedades CP- Jacona, CP- Zamorana (de validación mexicana), Albión y Festival (de validación extranjera) fueron evaluadas en el contenido de azúcares totales, glucosa, fructosa y sacarosa, fenoles y antocianinas totales, vitamina C y actividad antioxidante en estado inmaduro y maduro en postcosecha. Los frutos en estado maduro fueron evaluados en condiciones de refrigeración (4°C) por 3, 6 y 9 días de almacenamiento. El contenido de azúcares totales en la etapa inmadura fue menor en comparación con el fruto maduro, para las cuatro variedades evaluadas, la refrigeración mostró una disminución de azúcares en el 3er y 6to día de almacenamiento para las variedades Albión, Festival y CP- Zamorana, mientras que en la variedad CP-Jacona el efecto fue contrario, los azúcares aumentaron en el 9no día de almacenamiento. La glucosa y la fructosa fueron los principales azúcares presentes en ambos estados de maduración y en refrigeración. En etapa inmadura, los frutos de Albión presentaron la mayor concentración de sacarosa, mientras que la variedad CP-Zamorana presentó los valores más altos de glucosa y sacarosa en fruto maduro. En los tres tiempos de almacenamiento a 4°C, CP-Zamorana mostró el mayor contenido de azúcares solubles. Las variedades con menor concentración de glucosa, fructosa y sacarosa fueron Festival y CP-Jacona. El contenido de fenoles totales disminuyó 70% en frutos maduros sin refrigeración con respecto a frutos inmaduros, en condiciones de refrigeración (3, 6 y 9 días de almacenamiento) no se observaron diferencias significativas. Se observó que el contenido de antocianinas totales en frutos maduros aumentó hasta el 96%, en comparación con los frutos inmaduros para las cuatro variedades de fresa evaluadas y con refrigeración se mostró una mayor acumulación de antocianinas (hasta un 27%) en las cuatro variedades al 9no día de almacenamiento. La vitamina C mostro un aumento del 30% en fruto maduro comparado con el inmaduro, mientras que los tratamientos de refrigeración indicaron una ligera disminución (7-26%). La actividad antioxidante expresada en % de DPPH reducido no indicó diferencia significativa entre las diferentes etapas de maduración, así como tampoco en los diferentes tiempos de tratamiento para cada variedad. Los resultados obtenidos indicaron que la etapa de maduración, la temperatura y tiempos de almacenamiento son factores que afectan la calidad del fruto y la acumulación de los antioxidantes en frutos de fresa.

Éstas variables fueron previamente controladas en este estudio, manteniendo en buen estado los atributos físicos de calidad del fruto y con buena aceptación al consumidor, con estas condiciones los parámetros evaluados no mostraron cambios significativos. Las variedades mexicanas CP-Jacona y CP-Zamorana mostraron niveles competitivos en el contenido de azúcares y de compuestos antioxidantes, comparados con Albión y Festival, por lo que pueden ser variedades prometedoras y candidatas para frutos de exportación.

Palabras clave: *Fragaria x ananassa* Duch, azúcares totales, fenoles totales, antocianinas totales, vitamina C y actividad antioxidante.

POST-HARVEST ANTIOXIDANT POTENTIAL OF DIFFERENT STRAWBERRY VARIETIES (*Fragaria x ananassa* DUCH.) UNDER REFRIGERATION.

María del Carmen Zaragoza Ortega, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2015

ABSTRACT

The strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.) is an important source of sugars, phenols, anthocyanins and vitamin C, among others. These compounds have shown antioxidant capacity both *in vivo* and *in vitro*, which can have health benefits, such as decreasing the incidence of chronic diseases. The content of the compounds varies depending on the genotype and environmental interactions, as well as the ripening stage of the fruit and post-harvest management. The fruit is not climacteric, so it must be harvested at its maximum ripening stage. Refrigeration is widely used to preserve fruits because it substantially diminishes their metabolic processes. Total sugars, glucose, fructose and sucrose, total phenols and anthocyanins, vitamin C and antioxidant activity of post-harvest unripe and ripe fruits were measured in the fruits of the following varieties: Mexican varieties CP- Jacona and CP-Zamorana, and foreign varieties Albión and Festival. Ripe fruits were stored at 4°C and evaluated after 3, 6 and 9 days. Total sugars in unripe fruits were lower than in ripe fruits in all four varieties. Refrigerated fruits had lower amounts of sugars after three and six days in the varieties Albión, Festival and CP-Zamorana, while in CP-Jacona, the opposite was observed, having higher amounts of sugar after nine days. Glucose and fructose were the main sugars found in both ripening stages, and under refrigeration. Unripe fruits of Albión had the highest concentration of sucrose, while ripe fruits of CP-Zamorana had the highest concentration of glucose and sucrose. At 4°C, CP-Zamorana had the highest content of soluble sugars at the three evaluated periods. The varieties with the lowest concentration of glucose, fructose, and sucrose were Festival and CP-Jacona. Total phenols decreased by 70% in unrefrigerated ripe fruits compared with unripe fruits. Stored under refrigeration, no significant differences were found after three, six and nine days. Total anthocyanins in ripe fruits increased up to 96%, compared with unripe fruits in all four varieties, and under refrigeration, an increase of up to 27% was observed at day nine. The amounts of vitamin C increased by 30% in ripe fruits compared with unripe fruits, while refrigerated treatments showed a decrease of 7-26%. Antioxidant activity, expressed as the percentage of reduced DPPH, did not show significant differences among neither the different ripening stages nor the storage periods in each variety. The results show that ripening stage, storage temperature, and storage period have an effect on fruit quality and antioxidants accumulation. These variables were previously controlled in this study to preserve the physical characteristics typical of quality fruits, which are appealing to the consumer. Under these conditions, the evaluated parameters did not show significant changes. The Mexican varieties had competitive levels of sugars and antioxidants compared with the foreign varieties, so they could be potential candidates for exportation. **Keywords:** *Fragaria x ananassa*, sugars, phenols, anthocyanins, vitamin C, antioxidant activity.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante la realización de los estudios de maestría.

Al Colegio de Posgraduados y el Posgrado en Botánica por haberme permitido realizar mis estudios de maestría.

Al Doctor Víctor Conde Martínez por su valioso tiempo y dedicación al trabajo de investigación, ya que sin su apoyo no hubiese sido posible terminarlo, y por haberme permitido formar parte de su equipo de trabajo.

Al Doctor Guillermo Calderón Zavala por su participación y sugerencias, así como por las facilidades para la adquisición del material vegetal ya que fue clave importante para la realización del trabajo.

A la Doctora Adriana Delgado Alvarado por sus asesorías y aportaciones, que enriquecieron y mejoraron el trabajo final.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de Bioquímica Sabina Velázquez, Fátima Rasgado, Christian Alvarado, por su apoyo incondicional y por hacer más placentera la estancia en el laboratorio.

Y a todas las personas q de una u otra manera contribuyeron para la buena culminación de este trabajo de investigación.

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme cumplir una meta más.

A mi hija Akemi Iztayana Ayala Zaragoza por haber llegado a mi vida y ser un motivo de superación y seguir adelante, y a mi esposo Erik Ayala por su amor y apoyo incondicional.

A mis padres Juana Ortega Olmedo y Prisciliano Zaragoza Espejel y hermanos Monica, Adela, Javier y Federico por su apoyo y por ser un ejemplo de vida.

A E. Angeles Hermenegildo, Facundo Ayala y Nayeli Ayala por todo su apoyo.

“Es justamente la posibilidad de realizar un sueño lo que hace la vida interesante”.

Paulo Coelho

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1	Importancia mundial y nacional de la fresa	4
2.2	Exportaciones e importaciones de fresa	5
2.3	Cultivares de fresa en México	6
2.4	Generalidades de la fresa	8
2.4.1	Clasificación taxonómica	8
2.4.2	Descripción botánica.....	9
2.4.3	Etapas fenológicas de la fresa.....	13
2.4.4	Composición nutricional del fruto	15
2.4.5	Fitoquímicos presentes en fresa	18
2.5	Radicales libres	21
2.6	Estrés oxidativo	22
2.7	Antioxidantes.....	23
2.8	Compuestos fenólicos	23
2.8.1	Estructura	24
2.8.2	Biosíntesis	24
2.8.3	Funciones	26
2.9	Flavonoides.....	29
2.9.1	Estructura	29
2.9.2	Biosíntesis	30
2.9.3	Clasificación	32
2.9.4	Funciones	32
2.10	Antocianinas.....	36
2.10.1	Estructura	36
2.10.2	Clasificación	39
2.10.3	Biosíntesis	40
2.10.4	Funciones	42
2.11	Calidad de los frutos	45
2.11.1	Características de la calidad del fruto.....	45
2.12	Postcosecha.....	47

2.12.1	Cambios bioquímicos y físicos durante la postcosecha.....	47
2.12.2	Almacenamiento en refrigeración y atmosferas controladas.....	49
3	OBJETIVOS.....	51
3.1	OBJETIVO GENERAL.....	51
3.2	OBJETIVOS PARTICULARES.....	51
4	HIPOTESIS.....	51
5	MATERIALES Y MÉTODOS	52
5.1	Localización del experimento	52
5.2	Material vegetal	52
5.3	Evaluaciones.....	54
5.3.1	Azúcares solubles totales.....	54
5.3.2	Cuantificación de glucosa, fructosa y sacarosa	55
5.3.3	Cuantificación de Fenoles Totales	57
5.3.4	Cuantificación de Antocianinas Totales.....	57
5.3.5	Cuantificación de vitamina C	58
5.3.6	Actividad antioxidante	58
5.3.7	Análisis estadístico.....	59
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
6.1	Contenido de azúcares solubles totales en dos etapas de maduración de frutos de fresa y en condiciones de almacenamiento por refrigeración.....	60
6.2	Contenido de azúcares glucosa, fructosa y sacarosa en dos etapas de maduración de frutos de fresa y almacenamiento por refrigeración	64
6.3	Contenido de fenoles totales en frutos de fresa en dos etapas de maduración y en almacenamiento por refrigeración.	71
6.4	Contenido de antocianinas totales en frutos de fresa en dos etapas de maduración y almacenamiento por refrigeración.	74
6.5	Contenido de vitamina C en frutos de fresa en dos etapas de maduración y almacenamiento por refrigeración.	78
6.6	Actividad antioxidante de frutos de fresa en dos etapas de maduración y en almacenamiento por refrigeración.	82
7	CONCLUSIONES.....	87

LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

Acetil-CoA	Acetil coenzima A
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AOAC	Association of Official Analytical Chemist (Asociación Oficial de Química Analítica)
ATP	Adenosin trifosfato
CONAFRE	Consejo Nacional de la Fresa
DPPH	2,2- difenil-picril-hidrazil
FAOSTAT	Food and Agricultural Organization Statistica (Estadística de la Organización para la Alimentación y la Agricultura)
GAE	Equivalentes de ácido gálico
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietyl)-1-piperazinetanosulfónico
NAD	Nicotinamida-adenina- dinucleotido
NADP	Nicotinamida-adenina- dinucleotido- fosfato
ORAC	Oxigen Radical Absorbance Capacity (Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno)
PAL	Fenil-amonio liasa
PF	Peso fresco

SIAP Servicio de información agroalimentaria y pesquera.

TAL tirosina-amonio liasa

LISTA DE UNIDADES

°C grados Celsius

°Brix grados Brix

g gramos

g l⁻¹ gramos por litro

Kg Kilogramos

ml mililitros

ml l⁻¹ mililitros por litro

mg miligramos

mM milimolar

μl microlitros

μg microgramos

U μl⁻¹ Unidades Internacionales por microlitro

rpm revoluciones por minuto

UV Luz ultravioleta

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición nutricional de frutos de fresa fresca	16-18
2	Compuestos fitoquímicos presentes en fresa	19-21
3	Clasificación de flavonoides, ejemplos, alimentos que los contienen y efectos biológicos	35
4	Principales antocianinas, patrón de sustitución y color	39-40
5	Contenido de azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) (a, b y c respectivamente) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP-Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albión y Festival) en dos estados de maduración y en almacenamiento en refrigeración (4°C).	70

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Planta de fresa	10
2	Rutas de síntesis de compuestos fenólicos	26
3	Esqueleto estructural de los flavonoides	29
4	Ruta de síntesis de los flavonoides	31
5	Estructura básica de las antocianinas	37
6	Ruta general de biosíntesis de las antocianinas	41
7	Contenido de azúcares totales en dos variedades mexicanas de frutos de fresa CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival, en dos estados de maduración.	61
8	Contenido de azúcares totales en frutos de fresa en dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival, a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C.	63
9	Contenido de azúcares solubles (Glucosa, fructosa y sacarosa) en dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival, en estado inmaduro (A) y maduro (B) .	65-66
10	Contenido de azúcares solubles (Glucosa, fructosa y sacarosa) en dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C.	67-69

11	Contenido de fenoles totales en dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival en dos estados de maduración.	72
12	Contenido de fenoles totales en frutos maduros de dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival con diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C.	74
13	Contenido de antocianinas totales en dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival en dos estados de maduración.	75
14	Contenido de antocianinas totales en dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP- Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C.	77
15	Contenido de vitamina C en dos variedades mexicanas CP-Jacona y CP-Zamorana y dos variedades extranjeras Albión y Festival en dos estados de maduración.	79
16	Contenido de vitamina C (mg/100g de PF) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albión y Festival) a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C.	81
17	Actividad antioxidante de frutos inmaduros de cuatro variedades de fresa.	83

18	Actividad antioxidante de frutos maduros de cuatro variedades de fresa	84
19	Actividad antioxidante de frutos maduros de cuatro variedades de fresa almacenados a 4°C por tres días.	84
20	Actividad antioxidante de frutos maduros de cuatro variedades de fresa almacenados a 4°C por seis días.	85
21	Actividad antioxidante de frutos maduros de cuatro variedades de fresa almacenados a 4°C por nueve días.	85

1 INTRODUCCIÓN

En México la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) constituye un cultivo de alta demanda y en los últimos años ha ido en aumento. Se cultiva en 13 estados del país, concentrándose la producción en los estados de Michoacán, Baja California y Guanajuato. Durante el 2012 la superficie sembrada fue de 9,067.80 hectáreas (ha) con un volumen de producción de 360,426.45 toneladas (ton). El estado de Michoacán participa con un 56% de la producción y ocupa el primer lugar de superficie sembrada con 4,716.00 ha, seguido por Baja California con 31% de la producción y una superficie sembrada de 2,480.00 ha y finalmente el estado de Guanajuato con una producción de 5% y una superficie sembrada de 959.50 ha (SIAP, 2012).

La fresa es un fruto no climatérico consumido principalmente en fresco altamente perecedero debido a su elevada tasa de respiración (Manning, 1993). Su vida postcosecha es muy corta, es susceptibles al ataque por microorganismos y al daño físico durante su manejo, almacenamiento y comercialización (Sistrunk y Morris, 1985). Actualmente, se considera un alimento nutraceutico, por ser una fuente de antioxidantes perteneciente a los compuestos fenolicos especialmente hidrosolubles, como antocianinas, ácidos fenolicos, vitamina C, entre otros, los cuales tienen funciones bioactivas específicas como protectores de la oxidación de muchos organelos (Olsson *et al.*, 2004; Russell *et al.*, 2009). El ácido elálgico y sus derivados, de alta concentración en la fresa, son preventores químicos que actúan estimulando la detoxificación de enzimas

y previniendo la interacción de especies carcinogénicas con el ADN (Teel *et al.*, 1985; Hannum, 2004).

Los compuestos fenólicos o polifenoles, constituyen un grupo bastante amplio de sustancias químicas, que se caracterizan por presentar en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y abarcan a más de 8000 compuestos distintos y han demostrado poseer actividad antioxidante. El organismo humano no los produce y se les encuentra en plantas, frutas y diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana (Bravo, 1998; Ramos, 2007).

La investigación agronómica en fresa tiene prioridades para la obtención de altos rendimientos, resistencia a plagas y enfermedades, transporte y conservación de la fruta. Sin embargo, en los últimos años se ha enfocado sobre el valor nutritivo y propiedades relacionadas con la salud (Caposcasa *et al.*, 2008) como parte de las características de calidad convirtiéndose en una estrategia útil de mercado (Ferreyra *et al.*, 2007).

La exportación de frutos de buena calidad y de producción temprana significa el ingreso de divisas importantes para México en el caso de fresa fresca. En el invierno contribuye a la mitad del mercado estadounidense con fruta fresca de exportación y abastece con el 90% de la fruta congelada (Juárez, 1998). Se ha observado que un rápido enfriamiento de los frutos de fresa con temperaturas cerca de 0°C puede retardar los cambios de calidad indeseables e incrementar su vida de anaquel (Pérez *et al.*, 1998). Además de retardar la senescencia, aunque pueden causar daño físico que provoca el deterioro y pérdida del valor comercial (Tejacal *et al.*, 2000). En base a ello es importante investigar los impactos de almacenamiento después de la cosecha sobre compuestos bioactivos y

capacidades antioxidantes de frutos de fresa así como la creación de nuevas variedades que sean competitivas frente al mercado internacional.

En este trabajo se llevó a cabo la evaluación de compuestos bioquímicos en variedades de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) bajo condiciones de refrigeración. Nuestros resultados demostraron que la temperatura de almacenamiento es un factor importante que amplía la vida en anaquel de estos frutos, además que las variedades evaluadas CP-Jacona y CP-Zamorana como variedades mexicanas son altamente competitivas frente a Albión y Festival como variedades extranjeras.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia mundial y nacional de la fresa.

La fresa es una de las frutas más populares y con mayor demanda a nivel mundial es una de las frutas ricas en una variedad de compuestos fitoquímicos, además fuente de importantes antioxidantes y micronutrientes, siendo una fuente rica en vitamina C y ácido fólico, en comparación con otros frutales (Olsson, *et al.*, 2004), poseen un alto contenido de agua, baja cantidad de carbohidratos de bajo peso molecular y una mayor relación glucosa/ fructosa (Olsson *et al.*, 2004; Vinson *et al.*, 2008). Estudios de sus compuestos han demostrado una remarcada actividad captadora de radicales libres y propiedades bioactivas, bloqueando la iniciación de la carcinogénesis y suprimiendo la progresión y proliferación de tumores además se ha demostrado el efecto sobre el sistema inmune (Hannum, 2004).

La fresa se cultiva en más de 60 países del mundo; el principal productor es Estados Unidos, con un millón 312 mil 960 toneladas al año; le siguen Turquía (302 mil 416 toneladas) y España (262 mil 730 toneladas). México ocupa el quinto lugar, con 228 mil 900 toneladas (FAOSTAT, 2011).

El cultivo de la fresa en México se inició a mediados del siglo pasado en el estado de Guanajuato. Sin embargo, no fue hasta 1950 que cobró mayor importancia por la creciente demanda de los Estados Unidos originando que el cultivo de esta fruta se extendiera a Michoacán, pasando de cubrir las necesidades del mercado doméstico hasta ser el mayor productor de fresa a nivel nacional (Jiménez, 2008).

En México la fresa se cultiva en 13 estados del país, concentrándose la producción en los estados de Michoacán, Baja California y Guanajuato. Durante el 2012 la superficie sembrada fue de 9067.80 hectáreas (ha) con un volumen de producción de 360426.45 ton, siendo el estado de Michoacán el de mayor importancia ya que participa con el 56% de la producción y ocupa el primer lugar de superficie sembrada con 4,716.00ha, seguido por Baja California con 30% de la producción y una superficie sembrada de 2,480.00ha y finalmente el estado de Guanajuato con 5% de producción y una superficie sembrada de 959.50ha (SIAP, 2012).

2.2 Exportaciones e importaciones de fresa

España es la nación que encabeza la lista de exportadores de fresa en el mundo, con 231 mil 732 toneladas; seguida de Estados Unidos (139 mil 957 toneladas) y México, con un total de 76 mil 890 toneladas al año (FAOSTAT, 2011).

Dentro de los países con mayor volumen de importación se encuentra Canadá con 123 mil 616 ton. Y Estados Unidos con 110 mil 457 toneladas, Alemania con 98 mil 722 toneladas, y México no aparece como importador para este cultivo (FAOSTAT, 2011). Sin embargo Sánchez (2008) menciona que durante el periodo de 2000 a 2005 México ocupaba el décimo lugar como importador a nivel mundial.

Aunque en México la fresa ocupa solamente el 1% de la superficie dedicada a la agricultura, es muy importante debido a que genera divisas por concepto de exportación y es el principal exportador de fresa al mercado de Estados Unidos (FAOSTAT, 2009). Las importaciones mexicanas representan el 7% del mercado de los Estados Unidos.

Respecto al destino de las exportaciones de fresa mexicana, actualmente los Estados Unidos constituyen el mercado más atractivo, ya que del total que se exporta de este producto mexicano, ese país adquiere el 98.06 % del volumen total anual de la fresa mexicana de exportación.

2.3 Cultivares de fresa en México

En el mundo se conocen más de 1000 variedades de fresa, producto de la gran capacidad de hibridación que presenta la especie. A partir de 1975 todas las plantas madres y nuevas variedades provienen fundamentalmente de viveros de los Estados Unidos (Vega, 2002). El principal programa de mejoramiento genético es el de la Universidad de California y la Universidad de Florida cuyas variedades ocupan más del 50% del área sembrada en el mundo.

En el cultivo de fresa la selección de las variedades apropiadas es muy importante, pues además de determinar el rendimiento y calidad, éstas también delimitan las temporadas de producción y las prácticas de control de plagas (Stapleton *et al*, 2001).

Las variedades de fresa se clasifican en variedades de día corto y neutro. Las primeras forman sus brotes en invierno, cuando los días se hacen cortos y las temperaturas bajan, florecen en primavera y empiezan a producir fruta en esta época. Por su parte, las variedades neutrales son insensibles a la longitud del día y producen fruta en la temporada en que las temperaturas bajan de noche a 15.5 °C (Hancock, 1991).

En México la planta madre se importa de los Estados Unidos y al llegar se establecen viveros para su reproducción y posterior trasplante en las áreas comerciales donde se

obtendrá el producto final. Se cultivan variedades generadas por la Universidad de Florida ('Festival') y la Universidad de California ('Albión', 'Camino Real', y 'San Andreas') y recientemente se están introduciendo variedades de origen español. En base a ello en nuestro país se están generando variedades mexicanas con la finalidad de eliminar la dependencia tecnológica que tiene México del exterior, es decir, contar con variedades apropiadas para las diferentes regiones productoras de fresa en México, lo que contribuya a mejorar sensiblemente los rendimientos y calidad del producto (Sánchez, 2008).

En la región de Zamora, Michoacán las variedades que más se cultivan son Festival con el 32% de la superficie total, Camino real con el 28% y Aromas con el 20% en la zona Norte-Centro, las variedades Camarosa, Camino Real y Festival cubrieron el 97% de la superficie total (Sánchez, 2008).

Actualmente en el Colegio de Postgraduados, con apoyo financiero de la Fundación Produce Michoacán, A. C., se han obtenido nuevas variedades de fresa, entre las que destacan 'CP Zamorana' (CP 02-01) y 'CP Jacona' (CP 02-04), las cuales se encuentran registradas como variedades mexicanas en el catálogo del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), y se les han realizado una serie de evaluaciones como la precocidad en la producción, las proporciones de producción de las diferentes calidades, susceptibilidad o tolerancia a plagas y enfermedades, y su capacidad de conservación postcosecha etc., todo ello en comparación siempre con las variedades extranjeras, las cuales han mostrado ser competitivas.

2.4 Generalidades de la fresa

El género *Fragaria* (*Fragaria spp.*, del latín *fragans*, oloroso) pertenece a la familia *Rosaceae*, agrupa unas 3000 especies de 107 géneros diferentes, distribuidas en su mayor parte en las zonas cálidas del hemisferio norte. Se trata de una de las familias con mayor importancia económica en el mundo, ya que, además de la fresa, incluye otras especies de frutales pertenecientes a diversos géneros como *Prunus*, *Malus* (con más de 2000 variedades registradas), *Rubus*, así como especies de uso ornamental como las pertenecientes al género *Rosa* (con más de 5000 cultivares registrados) (Staudt, 2008).

Las fresas cultivadas en la actualidad son híbridos octaploides reconocidos como *fragaria x ananassa Duch.*, producto de la cruce de *F. virginiana L.*, nativa del Norte de América y Norte de México; y *F. Chiloensis Duch.*, nativa de las costas Oeste de Norte y Sud-América (Bringhurst, *et al.*, 1960), es de amplia adaptación, se cultiva en latitudes bajas de los trópicos y latitudes altas de los sub-trópicos (Hancock, 1999). El rango de temperatura óptimo para el crecimiento y desarrollo es de 10 a 26 ° C (Strik, 1985). Actualmente se tienen variedades o híbridos que tienen un rango de adaptabilidad muy amplio que pueden ser cultivadas en climas tropicales y subtropicales (Aspuria *et al.*, 1996; Larsony, 2000).

2.4.1 Clasificación taxonómica

La fresa es una planta dicotiledónea del género *Fragaria* (Mabberley, 2002; Eriksson *et al.*, 2003). Su clasificación sistemática es:

⊕ Reino: *Plantae*

- ⊕ Subreino: Embriobionta
- ⊕ División: Magnoliophyta
- ⊕ Clase: Magnoliopsida
- ⊕ Subclase: Rosidae
- ⊕ Superorden: Rosanae
- ⊕ Orden: Rosales
- ⊕ Familia: Rosaceae
- ⊕ Subfamilia: Potentilloideae
- ⊕ Tribu: Potentilleae
- ⊕ Subtribu: Fragariinae
- ⊕ Género: *Fragaria*

2.4.2 Descripción botánica

La fresa es una planta perenne de pequeño porte, que se reproduce de manera sexual y asexual (mediante el desarrollo de estolones) (Figura 1) Aunque tradicionalmente se considera como una planta herbácea, en realidad se trata de una planta leñosa y perenne con las mismas condiciones fisiológicas que los árboles y arbustos frutales de hoja caduca (López- Aranda, 2008).



Figura 1. Planta de fresa.

2.4.2.1 Raíz

El sistema radicular es fasciculado, se compone de raíces y raicillas. Las primeras presentan cambium vascular y suberoso, mientras que las segundas carecen de éste, son de color más claro y tienen un periodo de vida corto, de algunos días o semanas, en tanto que las raíces son perennes. Las raicillas sufren un proceso de renovación fisiológico, aunque influenciado por factores ambientales, patógenos de suelo, etc. que rompen el equilibrio. La profundidad del sistema radicular es muy variable, dependiendo entre otros factores, del tipo de suelo y la presencia de patógenos en el mismo. En

condiciones óptimas pueden alcanzar los 2-3 m., aunque lo normal es que no sobrepasen los 40 cm, encontrándose la mayor parte (90%) en los primeros 25cm (CONAFRE, 2012)

2.4.2.2 Tallo

El tallo está comprimido en una roseta basal constituido por un eje corto de forma cónica llamado corona, es una roseta aproximada de 2.5cm que contiene los tejidos vasculares y está cubierta por las estípulas u hojas basales. A partir de éste a través de yemas axilares se forman unas ramificaciones laterales denominadas estolones, los cuales se caracterizan por poseer entrenudos distanciados entre sí, en los que aparecen rosetas de hojas y raíces adventicias. Estos pueden a su vez ramificarse produciendo nuevos estolones (Brazanti, 1989).

2.4.2.3 Hojas

Las hojas aparecen en roseta y se insertan en la corona. Son largamente pecioladas, los peciolo pueden alcanzar hasta 20cm de altura y provistas de dos estípulas rojizas. Su limbo está dividido en tres dentadas de haz glabrescente y envés con pelos aplicados, tienen un gran número de estomas ($300-400/\text{mm}^2$), por lo que pueden perder gran cantidad de agua por transpiración. El ciclo de vida de las hojas es de uno a tres meses, pero puede ser disminuido por plagas y enfermedades y al morir son reemplazadas secuencialmente por hojas nuevas a lo largo del ciclo (Mass, 1998).

2.4.2.4 Flores

Las flores se reúnen en inflorescencias. Las inflorescencias se pueden desarrollar a partir de una yema terminal de la corona, o de yemas axilares de las hojas. La ramificación de la inflorescencia puede ser basal o distal. En el primer caso aparecen varias flores de porte similar, mientras que en el segundo hay una flor terminal o primaria y otras secundarias de menor tamaño. La flor tiene 5-6 pétalos, de 20 a 35 estambres y varios cientos de pistilos sobre un receptáculo carnoso. Cada óvulo fecundado da lugar a un fruto de tipo Aquenio. Las flores de las variedades comerciales son hermafroditas y autofértiles, aunque existe un alto porcentaje de polinización cruzada atribuible a abejas y viento (Strand, 1994).

2.4.2.5 Fruto

El fruto es un poliaquenio conocido botánicamente como eterio, en el que la parte comestible corresponde al receptáculo activado por la fecundación y el cual se encuentra adherido mediante el pedúnculo al racimo floral. El desarrollo de aquenios, distribuidos por la superficie del receptáculo carnoso, estimula el crecimiento y la coloración de éste, dando lugar al fruto de la fresa (Maroto, 1988; Navarro y Muñoz-Garmendia, 2005). Para que el fruto alcance un desarrollo uniforme es indispensable que todos los pistilos sean fecundados de lo contrario se obtendrá un fruto deforme y por lo tanto sin calidad para exportación.

El fruto madura entre 25 y 35 días después de la fecundación, dependiendo de la variedad y época del año.

2.4.3 Etapas fenológicas de la fresa.

En base a la codificación BBCH (Bundesanstalt, Budessortenamt, Chemical), los estadios fenológicos de la fresa son los siguientes (Flórez y Mora, 2010):

Código	Descripción
Estadio principal 0. Brotación	
00	Letargo: Las hojas postradas y parcialmente muertas
03	La yema principal comienza a crecer
Estadio principal 1. Desarrollo de las hojas	
10	Primeras hojas emergen de la yema principal
11	Primera hoja desplegada
12 a 19	Dos hojas desplegadas (estadio 12) hasta nueve hojas desplegadas (estadio 19)
Estadio principal 4. Desarrollo de estolones	
41	Comienzo de la formación de estolón (aprox. 2cm de longitud)
42	Primer estolón visible
43	Comienzo del desarrollo radicular en el primer estolón
45	Primer estolón con raíces listo para ser trasplantado
49	Varios estolones con raíces, formación constante de estolones
Estadio principal 5. Aparición del órgano floral	
55	Los primordios foliares aparecen en la base de la roseta foliar
56	Inflorescencia alargándose

58 Estadio precoz de globo: primeras flores con pétalos formando una bola hueca

59 Estadio de globo: la mayoría de las flores con pétalos formando una bola hueca

Estadio principal 6. Floración

60 Primeras flores primarias abiertas

61 Comienzo de la floración: 10% de las flores abiertas

65 Plena floración: flores secundarias y terciarias abiertas, caen los primeros pétalos

67 Flores marchitándose, la mayoría de los pétalos han caído

Estadio principal 7. Formación del fruto

71 Receptáculo sobresaliendo de la corona de sépalos

73 Semillas, claramente visibles en el tejido del receptáculo

Estadio principal 8. Maduración del fruto

81 Comienzo de la maduración: la mayoría de los frutos blancos

85 Los primeros frutos comienzan a adquirir el color varietal típico

87 Cosecha principal: La mayoría de los frutos coloreados

89 Segunda cosecha: más frutos coloreados

Estadio principal 9. Senescencia y comienzo del reposo vegetativo

91 Comienzo de la formación de botones axilares

92 Hojas nuevas con limbo más pequeño y pedúnculo corto visible

93 Hojas viejas muertas; hojas jóvenes curvándose; hojas viejas del color varietal típico

El código decimal, se divide principalmente entre los estadios de crecimiento principales y secundarios y está basado en el código desarrollado por Zadocks *et al.*, 1974 con la intención de darle un mayor uso a las claves fenológicas.

En condiciones del trópico, estas etapas fenológicas suceden simultáneamente ya que en la zona ecuatorial hay inducción floral durante todo el año ya que el cambio de estaciones no es tan marcado como en zonas templadas. En ausencia de invierno la planta no entra en estado de latencia.

2.4.4 Composición nutricional del fruto

La fresa representa una opción de alimento saludable de acuerdo a su perfil de nutrientes (Cuadro 1). Su contenido de fibra dietética y contenido de fructosa pueden contribuir a regular los niveles de azúcar en la sangre retardando la digestión, además con el contenido de fibra contribuye al control de ingesta de calorías. Es una fuente de ácidos grasos esenciales ya que el aceite es rico en ácidos grasos insaturados (72% de ácidos grasos poli insaturados). Es una fuente de carotenoides, tocoferoles y ha sido reportado la presencia de tocotrienoles.

Se ha desarrollado gran interés por el alto contenido de vitamina C; ha sido comprada con las 11 frutas más consumidas en Estados Unidos y científicos norteamericanos y han concluido que en una relación gramo a gramo la fresa contiene mayor cantidad de vitamina C, E y beta carotenos, los tres antioxidante por excelencia (CONAFRE, 2007).

Junto con éstas vitaminas el ácido fólico juega un papel importante en enfatizar el contenido de micronutrientes del fruto, ya que dentro de los frutos, es una de las fuentes más ricas en este micronutriente esencial, su contenido se considera en el intervalo de 20 a 25mg/100 g de peso fresco.

En menor extensión es una fuente de varias otras vitaminas tales como tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, vitamina K, vitamina A. Es una fuente rica en manganeso una porción de fresas (144g) puede proveer más del 20% del consumo diario adecuado para este mineral. La misma cantidad de fresas puede proveer cerca del 5% del consumo adecuado de potasio y ha sido calificado como una buena fuente de yodo, magnesio, cobre, hierro y fósforo.

Además los fruto de fresa contienen considerables cantidades de compuestos fenólicos con prometedores efectos en la salud, los cuales muestran una evidencia como moléculas de señalización las cuales afectan la función celular y la expresión génica (Aaby *et al*, 2012).

Cuadro 1. Composición nutricional de frutos de fresa fresca. Tomado de Giampieri, *et al*, 2012.

Tipo	Nutriente	Por 100g
PROXIMALES	Agua (g)	90.95
	Energía (Kcal)	32
	Proteína (g)	0.67
	Ceniza (g)	0.40
	Lípidos Totales (g)	0.30
	Carbohidratos (g)	7.68

	Fibra dietética (g)	2.0
	Azúcares (g)	4.89
	Sucrosa (g)	0.47
	Glucosa (g)	1.99
	Fructosa (g)	2.44
MINERALES	Calcio (mg)	16
	Plata (mg)	0.41
	Magnesio (mg)	13
	Fósforo (mg)	24
	Potasio (mg)	153
	Sodio (mg)	1
	Zinc (mg)	0.14
	Cobre (mg)	0.048
	Manganeso (mg)	0.386
	Selenio (µg)	0.4
VITAMINAS	Vitamina C (mg)	58.8
	Tiamina (mg)	0.024
	Riboflavina (mg)	0.022
	Niacina (mg)	0.386
	Ácido pantoténico (mg)	0.125
	Vitamina B6 (mg)	0.047
	Ácido fólico (µg)	24
	Colina (mg)	5.7
	Betaina (mg)	0.2
	Vitamina B12 (µg)	0

Vitamina A, RAE (μg)	1
Luteína + Zeaxantina (μg)	26
Vitamina E, α - tocoferol (mg)	0.29
β - tocoferol (mg)	0.01
γ - tocoferol (mg)	0.08
δ - tocoferol (mg)	0.01
Vitamina K, piero ciloquinona (μg)	2.2

2.4.5 Fitoquímicos presentes en fresa

Los fitoquímicos en fresa están principalmente representados por una extensiva clases de compuestos fenólicos que han mostrado muchas funciones no esenciales en las plantas y un enorme potencial biológico en humanos. La mayor clase de compuestos fenólicos está representado por los flavonoides (Kähkönen *et al.*, 2001; Määtä-Riihinen *et al.*, 2004; Aaby K *et al.*, 2005).

El grupo de compuestos fenólicos en la fresa que ha recibido la mayor atención, son las antocianinas, responsable del color rojo de las bayas. La concentración y composición de antocianinas son por lo tanto importantes para la calidad sensorial de frutas y productos, además de poseer beneficios a la salud.

Muchos estudios han determinado que el contenido total de antocianinas reporta valores de 150 a 600mg/kg de peso fresco; además investigadores han encontrado valores de hasta 800mg/kg de peso fresco. Se han descrito más de 25 diferentes antocianinas en fresas de diferentes variedades y selecciones. Pelargonidina 3- glucósido es la principal

antocianina presente independiente de la genética y de factores ambientales, y la presencia de cianidin-3- glucósido parece ser constante en pequeñas proporciones. Además aunque la glucosa parece ser el más común sustituyente de azúcar en antocianinas, conjugados de rutinosa, arabinosa y ramnosa han sido encontrados en algunos cultivares de fresa (Giampieri *et al.*, 2012).

Contiene altas concentraciones de taninos condensados, es decir, proantocianidina (Gu *et al.*, 2003; Buendía *et al.*, 2010). Algunos de los compuestos fenólicos presentes en concentraciones bajas son flavonoles entre los que se encuentran glucósidos de quercetina y kaempferol, ésteres de ácidos hidroxicinámicos, especialmente de ácido p-cumárico, y el ácido elágico y glucósidos de ácido elágico (Määttä-Riihinen *et al.*, 2004; Aaby *et al.*, 2005; Buendía *et al.*, 2010;) (Cuadro 2). Es importante destacar que la biosíntesis de estos compuestos fitoquímicos varía conforme el genotipo del cultivo, el ambiente y de las prácticas de cultivo (D'Evoli *et al.*, 2009).

Cuadro 2. Compuestos fitoquímicos presentes en fresa .Tomado de Giampieri *et al.*, 2012.

CLASE	GRUPO	COMPUESTO
FLAVONOIDES	ANTOCIANINAS	Cianidin-3-glucósido
		Cianidin-3-rutinosido
		Cianidin-3-malonilglucosido
		Cianidin-3-malonilglucosil-5-glucosido
		Pelargonidina-3-galactósido
		Pelargonidina-3-glucósido
		Pelargonidina-3-rutinósido

		<p>Pelargonidina-3-arabinósido</p> <p>Pelargonidina-3,5- diglucósido</p> <p>Pelargonidina-3-malilglucósido</p> <p>Pelargonidina-3-malonilglucósido</p> <p>Pelargonidina-3-acetilglucósido</p> <p>Pelargonidina-3-disacarido (hexosa + pentosa) acilada c/ ácido acético)</p> <p>5-piranopelargonidina-3-glucósido</p>
	FLAVONOLES	<p>Quercetina-3-glucorónido</p> <p>Quercetina-3-malonilglucósido</p> <p>Quercetina-rutinósido</p> <p>Quercetina- glucósido</p> <p>Quercetina-glucorónido</p> <p>Kaempferol-3-glucósido</p> <p>Kaempferol-3-malonilglucósido</p> <p>Kaempferol-cumaroil-glucósido</p> <p>Kaempferol-glucorónido</p>
	FLAVANOLES	<p>Proantocianidina B1</p> <p>Trímero de proantocianidina</p> <p>Proantocianidina B3</p> <p>(+)- Catequina</p>
ÁCIDOS FENÓLICOS	<p>ÁCIDOS</p> <p>HIDROXICINÁMICOS</p>	p-cumaroil-hexosa
TANINOS	ELLAGITANINOS	Elagitaninos
HIDROLIZABLES		Bis-HHDP-glucosa

		Galloil-HHDP-glucosa
		HHDP-galloil-glucosa
		Galloil-bis-HHDP-glucosa
		Dimero de galloil-bis-HHDP
		Sanguiin H-6
		Metil-ácido elágico-conjugado a pentosa
		Ácido elágico pentósido
		Ácido elágico

HHDP: Galloilbis-hexahidroxidifenol.

2.5 Radicales libres

Son átomos o grupos de átomos que se caracterizan por un electrón desapareado por lo que son muy reactivos y tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose una reacción en cadena que destruye células (Finkel y Holbrook, 2000).

Los radicales libres producen daños considerables al ADN, lípidos, proteínas y otros componentes celulares. El oxígeno tiene la capacidad de adicionarse a las bases nitrogenadas o pentosas del ADN, formándose radicales peroxilo, lo que resulta en daños estructurales y diversas mutaciones, puede cambiar la estructura conformacional de las proteínas, principalmente el radical hidroxilo, ya que los aminoácidos son susceptibles

de ser atacados, etc., por lo tanto el daño que pueden producir es diverso y puede ser manifestado a corto, mediano y largo plazo (Stadtman *et al.*, 2003).

Se ha descubierto que están asociados a muchas patologías del ser humano como son: procesos reumáticos, patologías de tipo gastroentéricas, renales, neurológicas, endócrinas, broncopulmonares, entre muchas otras; las más destacadas son las cardiopatías, cáncer y diabetes, sin embargo, estos pueden ser neutralizados con la capacidad antioxidante que presentan los alimentos de origen vegetal (Valko, 2007).

2.6 Estrés oxidativo

Durante el proceso de oxidación ocurre pérdida de electrones, captación de oxígeno o una cesión de hidrógeno el cual siempre va acompañado de otro de reducción. Son reacción de óxido-reducción o reacciones redox entre pares conjugados. Estas reacciones son importantes ya que los seres vivos obtienen la mayor parte de la energía a partir de estas. En la fotosíntesis la energía solar impulsa la reducción del CO₂ y la oxidación del H₂O formando carbohidratos y O₂ y en el metabolismo aeróbico, realizado por los eucariotas y muchos procariotas, tiene lugar un proceso inverso a la fotosíntesis, que permite almacenar la energía libre producida en la oxidación de los carbohidratos y de otros compuestos orgánicos, en forma de ATP (Elejalde, 2001).

Sin embargo aunque el oxígeno es imprescindible para la vida, puede ser también fuente de enfermedad a través de una producción incontrolada de radicales libres de oxígeno que dañan las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y alteran los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción

de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.) rompiendo el equilibrio y causando el estrés oxidativo (Roche y Romero, 1997). A pesar de ello existe un sistema que ayuda a mantener en equilibrio denominado antioxidantes.

2.7 Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que permiten la vida celular en un ambiente que promueve la formación de radicales libres, esto es, un ambiente rico en oxígeno molecular. Los antioxidantes están presentes en los organismos aerobios, y son los responsables de la eliminación de los compuestos activos de oxígeno o radicales libres los cuales se producen, de manera natural, en los sitios de actividad energética celular. Los perfiles relativos y la cantidad de antioxidantes son variables frente a los estímulos ambientales ya que dependen, para su síntesis, de grupos de genes cuya expresión se induce diferencialmente. Los antioxidantes son componentes importantes en la dieta de los humanos, de allí la importancia de aumentar su cantidad en los alimentos. Se ha evidenciado que los caracteres del suelo modifican la calidad nutricional de las plantas, en particular su contenido de antioxidantes (Benavides *et al.*, 2009).

2.8 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal, forman una de las principales clases de metabolitos secundarios con un amplio rango de estructuras químicas y actividad, son constituyentes importantes de las plantas lo que otorga múltiples efectos benéficos. Están presentes generalmente en forma de glucósidos en los extractos de las frutas,

hierbas, vegetales, cereales y otros materiales lo que ha permitido su utilización por la industria alimentaria no solo por las características organolépticas que le confieren a las frutas y verduras sino que retardan la oxidación de los lípidos y mejoran la calidad nutricional de los alimentos, generalmente poseen un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilos (Robards *et al.*, 1999).

2.8.1 Estructura

Existen varias clases y subclases de compuestos fenólicos que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los no flavonoides, los cuales incluyen fenoles no carboxílicos: C6, C6-C1, C6-C3 y ácidos fenoles en los que se encuentran los derivados del ácido benzoico C6-C1 y derivados del ácido cinámico C6-C3 y los flavonoides (C6-C3-C6) formados por 2 grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado dentro de los que se encuentran Antocianos, flavonas, flavononas, flavanoles, flavanonoles, flavanoles, taninos condensados y lignanos (Rice-Evans *et al.*, 1997).

2.8.2 Biosíntesis

La biosíntesis de los compuestos fenólicos como producto del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shikímico y la ruta del ácido malónico (Bravo, 1998). La ruta del ácido shikímico es la ruta por la que se producen la mayoría de los polifenoles de las plantas superiores, convierte los precursores de los carbohidratos derivados de la glicólisis y de la ruta de las pentosas fosfato, el ácido fosfoenolpirúvico y el sustrato de eritrosa-4-fosfato respectivamente.

Uno de los productos de esta vía es la tirosina, triptófano y la fenilalanina la cual constituye un aminoácido esencial sintetizado en el metabolismo primario de las plantas y donde derivan la mayoría los compuestos fenólicos (Figura 2).

La enzima **fenilalanina amonio liasa** (PAL) cataliza la formación de **ácido cinámico** por eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Esta enzima está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario por lo que la reacción que cataliza es una importante etapa reguladora en la formación de muchos compuestos fenólicos. Las reacciones posteriores a la catalizada por PAL son básicamente adiciones de grupos hidroxilo y otros sustituyentes. Los ácidos trans-cinámico y p-cumárico se metabolizan para formar **ácido ferúlico** y **ácido caféico** cuya principal función es ser precursores de otros derivados más complejos: cumarinas, lignina, taninos, flavonoides e isoflavonoides (Ávalos, 2009).

La vía del ácido malónico es la vía mediante la cual los hongos y bacterias forman polifenoles. En plantas superiores también existe, sin embargo, no es utilizada su sustrato es acetil-CoA (Taiz y Zeiger, 2006).

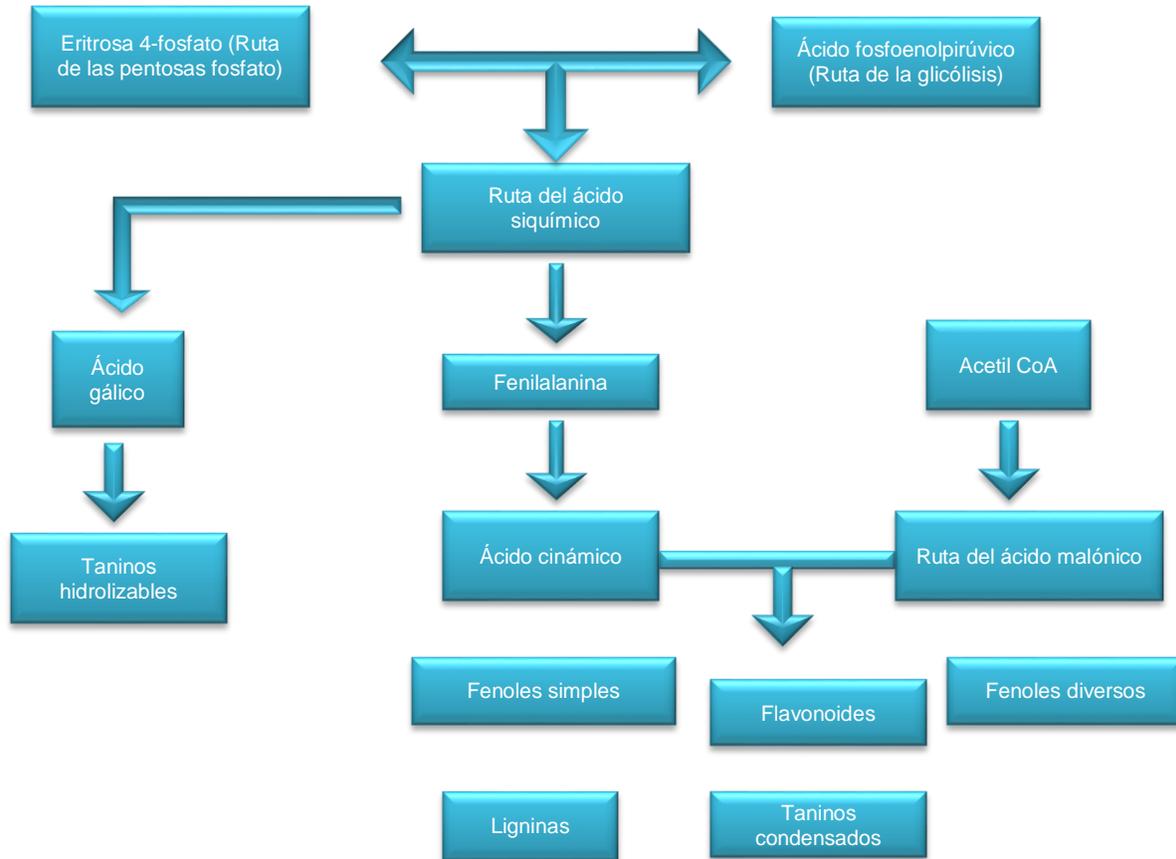


Figura 2. Rutas de síntesis de compuestos fenólicos.

2.8.3 Funciones

Forman uno de los compuestos más ampliamente distribuidos de los fitoquímicos los cuales son considerados de importancia fisiológica y morfológica en plantas. Como un amplio grupo de químicos bioactivos tienen diversas funciones biológicas, pueden actuar como fitoalexinas (defensa contra el ataque de patógenos), atrayentes de polinizadores, agentes protectores contra luz UV y han demostrado jugar un papel importante contra arterioesclerosis, disfunción cerebral y cáncer (Gordon, 1996). En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles vegetales puede mejorar la salud y

disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Schroete *et al.*, 2006; Perez-Vizcaino *et al.*, 2009).

Además especialmente estos componentes pueden ejercer efecto antioxidante como el secuestro de radicales libres, donan moléculas de hidrogeno, barren moléculas de superóxido, quelan metales de transición; estas propiedades son atribuidas principalmente al grupo hidroxilo presente en su anillo estructural, en base a ello, actualmente ha despertado gran interés su presencia en la dieta así como el estudio del metabolismo y biodisponibilidad de estos compuestos por sus propiedades beneficiosas en la salud humana (Muñoz *et al.*, 2007). Por otra parte, su papel como sustratos está probablemente limitado a los alimentos y es invariablemente perjudicial, sin embargo, en algunos casos, es intencional y esencial para el carácter del producto. En ambos sistemas, los agentes oxidantes potenciales son importantes. En los sistemas fisiológicos parecen ser especies reactivas de oxígeno, mientras que polifenol oxidasas y radicales libres son los principales oxidantes en los alimentos cuando los fenoles actúan como sustratos y antioxidantes, respectivamente (Robards *et al.*, 1999).

Los polifenoles son, los principales antioxidantes de la dieta, y su ingesta es 10 veces superior a la de la vitamina C, y 100 veces superior a la de la vitamina E o los carotenoides (Rice-Evans *et al.*, 2006).

Generalmente, los alimentos contienen una mezcla compleja de polifenoles, sin embargo el contenido de estos puede ser afectado por numerosos factores genéticos y ambientales como la luz, el grado de madurez o el grado de conservación pero puede ser modificada por reacciones oxidativas durante el procesamiento y almacenamiento

dos de los más importantes procesos involucrados en la actividad antioxidante de los fenoles y pardeamiento oxidativo (Robards *et al.*, 1999). El clima (exposición al sol, precipitaciones, etc.) o factores agronómicos (diferentes tipos de cultivos, producción de fruta por el árbol, etc.) juegan un papel fundamental. La exposición a la luz es, en particular, uno de los principales condicionantes para determinar el contenido de la mayoría de los polifenoles. El grado de conservación puede también determinar el contenido en polifenoles fácilmente oxidables, permitiendo la formación de sustancias polimerizadas que afectan al color y a las características organolépticas de los alimentos. La conservación en frío, sin embargo, no afecta al contenido de polifenoles. El contenido de polifenoles en los alimentos está también influenciado por los métodos culinarios de preparación; así, el contenido de polifenoles de las frutas y de los vegetales pueden disminuir por el simple hecho de pelar estos alimentos, ya que estas sustancias están a menudo presentes en altas concentraciones en las partes externas de los mismos. La cocción de los alimentos puede disminuir hasta un 75% el contenido inicial de polifenoles (Van der Sluis *et al.*, 2001).

De todos los polifenoles, el grupo de los flavonoides es el más extendido en la naturaleza, son los que se consumen en abundancia en la dieta humana y una tercera parte de la ingesta total de polifenoles corresponde a ácidos fenólicos y flavonoides (Flavonoles y antocianinas), por lo que estudios epidemiológicos han demostrado que una ingesta rica en flavonoides se relaciona con un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares hipertensión, cáncer y diabetes (Kris-Etherton *et al.*, 2004).

2.9 Flavonoides

Los flavonoides, nombre que deriva del latín “*flavus*”, cuyo significado es “amarillo”, constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal, se pueden encontrar en frutos y vegetales, así como en té negro, café y vino rojo. Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da (Bravo, 1998).

2.9.1 Estructura

Constituyen un grupo de 15 C, todos presentando un esqueleto hidrocarbonado del tipo C6-C3-C6 (difeníl-propano) derivado del ácido shiquímico y de 3 restos de acetato. En cada caso dos anillos de benzeno están unidos junto a un grupo de tres carbonos (Figura 3). Existen 13 subclases de flavonoides con un total de más de 5000 compuestos. Todos los flavonoides son estructuras hidroxiladas en sus anillos aromáticos.

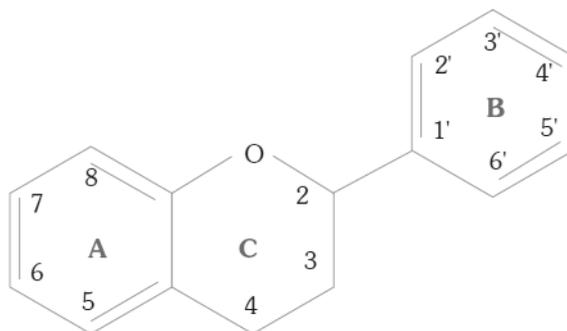


Figura 3. Esqueleto estructural de los flavonoides.

Dentro de cada uno de estos grupos los compuestos se diferencian entre sí por el arreglo de los grupos sustituyentes (metilos, azúcares y/o ácidos orgánicos, más habitualmente) y por la configuración en el anillo C (Rivas *et al.*, 2002).

Los flavonoides se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre (llamados agliconas flavonoides). Además, se pueden presentar como sulfatos, dímeros o polímeros. Los glucósidos se pueden encontrar de dos formas: como O-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal), o como C-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de enlaces carbono-carbono. De todas estas formas naturales, los O-glucósidos son los mayoritarios (Quiñones *et al.*, 2012).

2.9.2 Biosíntesis

En las plantas, todos los flavonoides son sintetizados a partir de flavanona derivada a su vez de chalconas provenientes de la ruta fenil propanoide. La síntesis de las estructuras básicas de los esqueletos de flavonoides recae sólo en tres grupos de enzimas: oxigenasas dependientes del 2-ox glutarato, citocromo P₄₅₀ hidroxilasas y reductasas dependientes de NADPH.

Los precursores de los flavonoides proceden de la ruta común fenilpropanoide que inicia con la conversión de fenilalanina en ácido cinámico por la PAL. El ácido cinámico es convertido en ácido 4-cumárico (p-cumárico) por la cinamato-4 hidroxilasa (C₄H). En algunas plantas, la PAL exhibe también actividad de TAL (tirosina-amonio liasa) sobre la tirosina para generar directamente ácido 4-cumárico. En el siguiente paso, el ácido

4-cumárico es transformado en 4-cumaroil-CoA por la 4-cumarato CoA ligasa (4CL). La 4-cumaroil-CoA, un producto central de la ruta fenil propanoide, es condensada con 3 moléculas de malonil CoA para formar naringenina-chalcona o pinocembrina chalcona (de tirosina o fenilalanina respectivamente) por la enzima chalcona isomerasa (CHI) ciclando a la narinjerina o pinocembrina chalcona mediante isomerización estereoespecífica para formar las flavonas naringenina o pinocembrina (2S). Las flavonas son ulteriormente modificadas por enzimas de la ruta flavonoide para generar una amplia diversidad de derivados (Dixon *et al.*,1999 ; Turnbull *et al.*, 2004)(Figura 4).

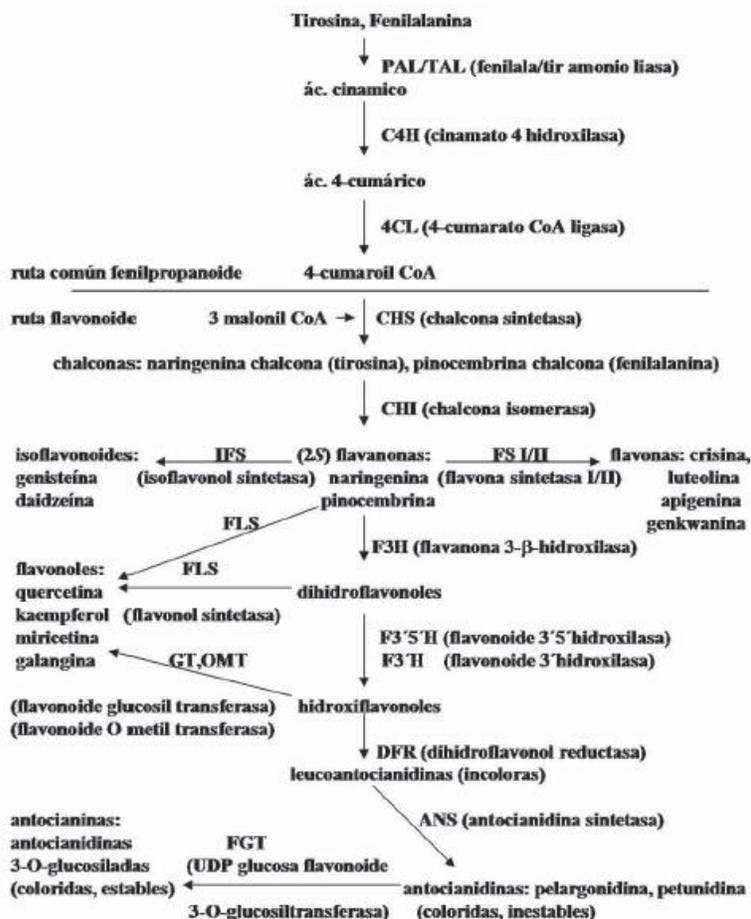


Figura 4. Ruta de síntesis de los flavonoides. Tomado de Drago, 2007.

2.9.3 Clasificación

Estos grupos se diferencian entre sí por el grado de insaturación y sustituyentes del anillo C. Se pueden distinguir entre compuestos que poseen un radical cetónico en el heterociclo: flavonas, flavonoles, flavanonas (dihidroflavonas) y chalconas, y los que no lo poseen: flavanoles y antocianidinas. La existencia de un hidroxilo en posición 3 es otra característica común a antocianidinas, flavanoles y flavonoles (Figura 5).

2.9.4 Funciones

Los flavonoides desempeñan un papel importante en las plantas responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación, incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre (Cook y Samman, 1996). Pueden localizarse en distintas zonas de la planta, aunque principalmente aparecen en las partes aéreas. Son compuestos necesarios para el desarrollo fisiológico de los vegetales, y se ubican en la membrana del tilacoide de los cloroplastos. Además participan en la vía de expresión de dos enzimas multigenicas, la fenilalanina amonio liasa y la chalcona sintasa, que son enzimas importantes en el proceso de pigmentación de los vegetales.

Por poseer en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, les confiere una gran capacidad antioxidante (Tsao and Yang, 2003). Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen

efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer (Pace-Asciak *et al*, 1995; Jang *et al*, 1997). Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas y ADN, catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres.

Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica (Cuadro 3).

Otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO) (Groot, 1998; Ferrandiz *et al*, 1991), evitando la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2 (FLA2) (Lindahl *et al*, 1997) al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD) (Sudheesh *et al*, 1999). De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de radicales libres y en la formación del radical en sí (Van Acquire *et al*, 1996).

Flavonoides como la catequina o la quercetina han mostrado directamente neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), como el O_2 , el H_2O_2 (Binsack *et al*, 2001) o el HClO (Cotelle *et al*, 1996). La quercetina y la miricetina, seguidas por el kaempferol, son los flavonoides que poseen mayor actividad neutralizadora de radicales libres. El grupo fenólico que poseen puede actuar directamente capturando electrones desapareados de

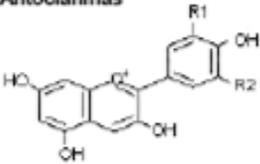
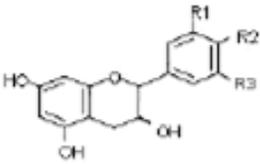
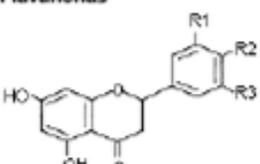
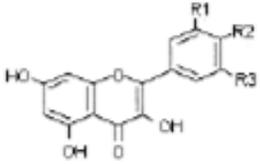
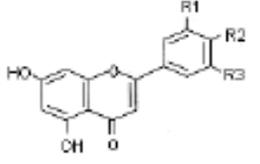
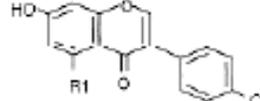
las ROS, y generando así especies menos reactivas (Korkina *et al*, 1997) y los cuales han mostrado ser abundantes en frutos de fresa (Hannum, 2004).

Compuesto como la catequina presente principalmente en frutos de fresa ha sido estudiado como un compuesto potencial quimioprotector. En un estudio realizado por Seeram *et al*, 2001 se evaluó la capacidad de antocianinas y catequinas para inhibir la proliferación de varias líneas celulares de cáncer en humanos se mostró que solo los derivados de catequinas de galolil fueron efectivas para inhibir la proliferación de estas líneas celulares.

En un modelo *in vitro* de enfermedades del corazón en el cual fue medida la oxidación de lipoproteínas de baja densidad se encontró que muchos flavonoides tienen más poder antioxidante que las vitaminas C y E (Vinson *et al*, 1995).

Además de secuestrar RL, quelatar iones metálicos e inhibir oxidasas, los flavonoides pueden aumentar la disponibilidad de antioxidantes endógenos, así como la actividad de enzimas antioxidantes. Al mismo tiempo que son capaces de inhibir enzimas involucradas en la generación de especies reactivas de oxígeno.

Cuadro 3. Clasificación de flavonoides, ejemplos, alimentos que los contienen y efectos biológicos.

Flavonoides	Subclase de flavonoides	Alimentos que los contienen	Efectos biológicos
<p>Antocianinas</p> 	<p>R1=R2=H: Pelargonidina R1=OH; R2=H: Cianidina R1=R2=OH: Delphinidina R1=OCH3; R2=OH: Petunidina R1=R2=OCH3: Malvidina</p>	<p>Moras rojas y azules, uvas, vino tinto</p>	<p>Antioxidante, Antiinflamatorias, Antihipertensivos, Neuroprotectores, Inhibe peroxidación lipídica, Antidiabéticos</p>
<p>Flavanoles</p> 	<p>R1=R2=OH; R3=H: Catequina R1=R2=R3=OH: Galocatequina</p>	<p>Té verde, chocolate, uvas, moras, manzana, té negro y Oolong, Chocolate, uvas rojas, moras, vino tinto</p>	<p>Antioxidante, Antiproliferativos, Prevención de enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares, Anticancerígenos Antidiabéticos</p>
<p>Flavanonas</p> 	<p>R3=H; R2=OH: Naringenina R3=R2=OH: Quercetina R1=OH; R2= OCH3: Hesperidina</p>	<p>Cítricos, jugos</p>	<p>Antiproliferativas, Antiinflamatorias, Disminución de adhesión de moléculas</p>
<p>Flavonoles</p> 	<p>R2=OH; R1=R3=H: Kaempferol R1=R2=OH; R3=H: Quercetina R1=R2=R3=OH: Miricetina</p>	<p>Cebollas amarillas, cebolletas, col, brócoli, manzana, moras, té</p>	<p>Antioxidante, Prevención de enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares Anticancerígenos</p>
<p>Flavonas</p> 	<p>R1=H; R2=OH: Apigenina R1=R2=OH: Luteolina</p>	<p>Perejil, tomillo, apio, chiles</p>	<p>Antiproliferativos, Anticancerígenos, Antiinflamatorias,</p>
<p>Isoflavonas</p> 	<p>R1=H: Daidzeina R1=OH: Genisteina</p>	<p>Frijol de soya, alimentos a base de soya, legumbres</p>	<p>Propiedades estrogénicas, Anticancerígenos, Antiproliferativas Inhibe peroxidación lipídica</p>

2.10 Antocianinas

Las antocianinas (del griego *anthos*: flor y *kianos*: azul) representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano (Strack y Wray, 1994). Estos pigmentos son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, acumulados en las vacuolas de la célula (Wagner, 1982).

2.10.1 Estructura

Químicamente las antocianinas son glucósidos polihidroxilados o polimetoxilados, acilglucósidos de antocianidinas, los cuales son derivados oxigenados de 2-fenilbenzopirilo o sales flavilio. Pertenecen a la familia de compuestos conocidos como flavonoides y se distinguen de los otros por su capacidad para formar cationes flavilio (Brouillard, 1982; Mazza *et al.*, 1993; Mazza *et al.*, 2004).

Las antocianidinas son las estructuras básicas de las antocianinas constan de un compuesto aromático anillo [A] unido a un anillo heterocíclico [C] que contiene oxígeno, que está unido por un enlace carbono-carbono aromático a un tercer anillo [B] (Konczak y Zhang, 2004) (Figura 5). Cuando las antocianidinas son encontradas en forma de glucósido (unido a un resto de azúcar) son conocidos como antocianinas. Los carbohidratos que comúnmente se encuentran son glucosa y ramnosa, seguidos de galactosa, xilosa y arabinosa, ocasionalmente, gentobiosa, rutinosa y soforosa.

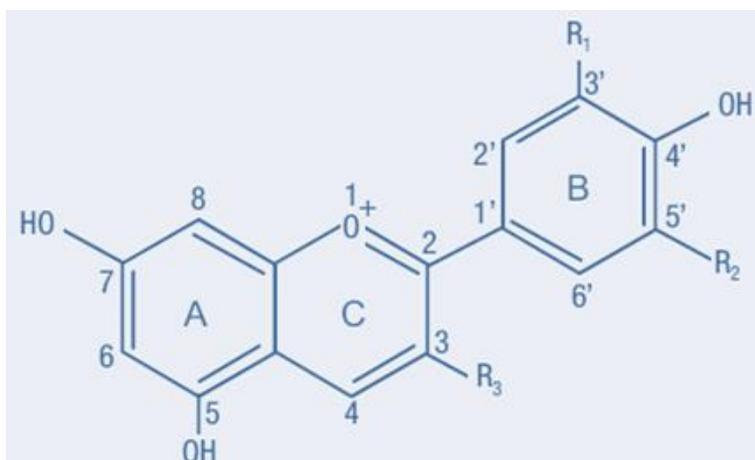


Figura 5. Estructura básica de las antocianinas. Tomado de Mazza, 2007.

El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación del color rojo (Badui, 2006).

Hay una gran variedad de antocianinas distribuidas en la naturaleza, siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-coumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico confiriendo estabilidad a la molécula bajo condiciones extremas de pH y temperatura. Stintzing *et al.*, 2002 demostraron que el tipo de sustitución glicosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura.

Las antocianinas entre todos los flavonoides son las únicas que sufren una transformación reversible dependiendo del pH en soluciones acuosas. Existen principalmente cuatro formas principales estables de las antocianinas: el catión flavilio de color rojo, la base quinoidal azul, la pseudobase carbinol incolora y la chalcona también incolora. A pH 1 el catión flavilio es la especie predominante y contribuye a los colores morados y rojos. A valores de pH 2 y 4 la especie azul quinoidal es predominante. A pH 5 y 6 son observadas las dos especies incoloras. A pH mayores a 7 las antocianinas son degradadas dependiendo de los grupos sustituyentes (Hutchings, 1999).

La co-pigmentación es un fenómeno en el cuál los pigmentos y otros compuestos orgánicos incoloros, iones metálicos forman moléculas o asociaciones complejas generando un cambio o un incremento en la intensidad del color. En la ciencia de los alimentos este fenómeno es importante ya que el color es uno de los principales factores de calidad en la aceptación de un producto. Algunas investigaciones sugieren que la co-pigmentación de las antocianinas con otros compuestos es el principal mecanismo de estabilización de color en las plantas (Castañeda-Ovando *et al*, 2009).

La variedad de color en las flores inicialmente fue explicada por la formación de quelatos entre metales y sales flavilio. Una de las principales características de las antocianinas y antocianidinas con grupos *o*-di-hidroxilo en el anillo B (Cy, Dp, Pt) es su capacidad para formar complejos metal-antocianina. Algunos estudios sobre la estabilidad del color en las plantas sugiere que los colores azules son debido a los complejos entre antocianinas y algunos metales tales como Al, Fe, Cu y Sn o Mg y Mo. Estudios más recientes han mostrado que los complejos entre antocianinas *o*-di-hidroxilo y los iones Fe (III) o Mg (II) a pH 5 son esenciales para el color azul (Hale *et al*, 2001).

2.10.2 Clasificación

Recientemente se han reportado más de 500 diferentes antocianinas y 23 antocianidinas de las cuales seis son las más comunes en las plantas vasculares, pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina. En la naturaleza los más comunes son los derivados glucosilados no metoxilados de tres antocianidinas (cianidina, delphinidina y pelargonidina) encontrándose 80% en hojas pigmentadas, 69% en frutos y 50% en flores. La distribución de las seis principales antocianidinas en frutos y vegetales es: cianidina 50%, delphinidina 12%, pelargonidina 12%, peonidina 12%, petunidina 7% y malvidina 7% (Kong *et al.*, 2003) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Principales antocianinas, patrón de sustitución y color. Tomado de Castañeda *et al.*, 2009.

NOMBRE	ABREVIACION	PATRON DE SUSTITUCIÓN							COLOR
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	
Apigenidina	Ap	H	OH	H	OH	H	OH	H	
Arabidina	Ab	H	H	OH	OH	H	OH	OMe	
Aurantidinina	Au	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	
Capensinidina	Cp	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	Azul-rojo
Carajurina	Cj	H	H	OH	OH	H	OMe	OMe	
Cianidina	Cy	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Naranja-rojo
Delphinidina	Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Azul-rojo
Europinidina	Eu	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	Azul-rojo
Hirsutidina	Hs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	Azul-rojo
3'-HidroxiAb	3'OHAb	H	H	OH	OH	OH	OH	OMe	

Continua. Cuadro 4.

6-HidroxiCy	6OHCy	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Rojo
6-HidroxiDp	6OHDp	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Azul-rojo
6-HidroxiPg	6OHDg	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	
Luteolina	Lt	H	OH	H	OH	OH	OH	H	
Malvidina	Mv	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	Azul-rojo
5-MetilCy	5-MCy	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H	Najanja-rojo
Pelargonidina	Pg	OH	OH	H	OH	H	OH	H	
Peonidina	Pn	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Naranja-rojo
Petudina	Pt	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Azul-rojo
Pulchellidina	Pl	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	Azul-rojo
Riccionidina A	RiA	OH	H	OH	OH	H	OH	H	
Rosinidina	Rs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	Rojo
Tricetinidina	Tr	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Rojo

2.10.3 Biosíntesis

Los precursores de las antocianinas son bien conocidos (Springob *et al.*, 2003). Se ha establecido que al anillo A de las antocianinas se sintetiza por la ruta del ácido malónico con la condensación de tres moléculas de malonil-CoA, mientras que el anillo B se sintetiza por la ruta de ácido shikímico. El ácido shikímico da paso a la fenilalanina que por acción de una fenilalanina amonio liasa (PAL), y después de una pérdida de NH₃ se convierte en ácido p-coumárico. El p-coumaril-CoA luego participa en una reacción de condensación con las tres moléculas de malonil- CoA para formar una chalcona de 15 C, reacción propiciada por una chalcona sintetasa. Este compuesto intermedio de 15 C

es transformado en una flavanona en una reacción catalizada por una chalcona isomerasa para producir naringerina. Finalmente, la flavanona es transformada en la correspondiente antocianidina por una reacción de hidroxilación en el carbono 3 seguida por una deshidratación (Figura 6). La molécula de antocianidina se estabiliza por glicosilación del heterociclo; reacción en la que interviene una glicosil transferasa y posterior posibles reacciones de metilación de los hidroxilos seguidas de acilaciones (Delgado-Vargas, 2000).

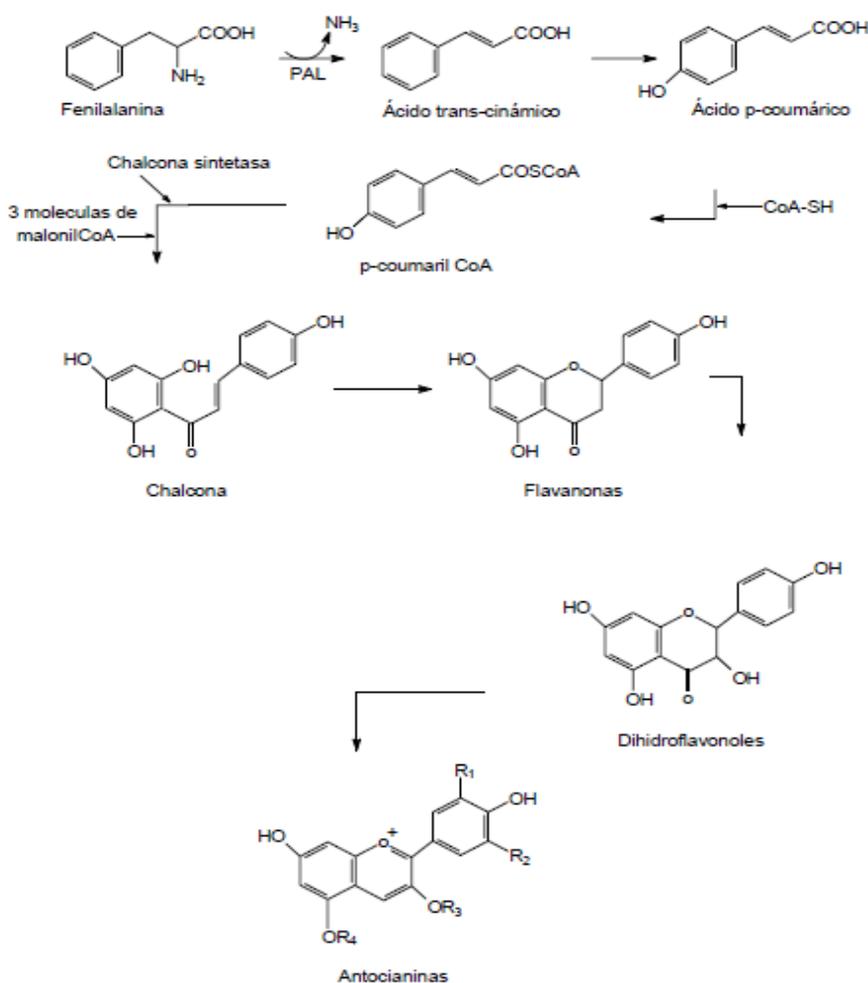


Figura 6. Ruta general de biosíntesis de las antocianinas (Delgado-Vargas, 2000).

2.10.4 Funciones

La función más importante de las antocianinas es su capacidad para dar color a las plantas o a los productos vegetales que producen. Juegan un papel importante en la atracción de los animales para la polinización y dispersión de semillas, por lo tanto, son consideradas de valor en la co-evolución en interacciones planta-animal. Pueden actuar como antioxidantes, fitoalexinas o como agentes antibacteriales (Kong *et al.*, 2003).

Pueden ser factores importantes en conjunto con otros flavonoides en la resistencia de las plantas al ataque de insectos. Por ejemplo cianidin 3-glucósido ha mostrado proteger a las hojas de algodón contra el gusano de tabaco.

Algunos estudios han demostrado que las antocianinas pueden proteger a los tejidos fotosintéticos contra la fotoinhibición, fenómeno que se presenta cuando hay una disminución de la tasa fotosintética, teniendo un efecto negativo en la supervivencia de las plantas (Steyn *et al.*, 2002).

Recientemente se ha intensificado el interés en los pigmentos derivados de antocianinas debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas (Astrid, 2008). Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas (Miyazawa *et al.*, 1999), lo que hace que estas moléculas sean de gran interés.

Numerosos estudios han demostrado un amplio rango de las actividades biológicas de la antocianinas incluyendo antioxidante, anti-inflamatorio, antimicrobial y actividad anticarcinogénica, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento

cognitivo Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante (Mazza, 2007).

Además las antocianinas muestran una variedad de efectos sobre los vasos sanguíneos y plaquetas reduciendo el riesgo de enfermedades coronarias. Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han mostrado ser efectivas para atrapar especies reactivas de oxígeno además de inhibir la oxidación de lipoproteínas. Lo que sugiere que las antocianinas puede ser un componente clave en el vino rojo que protege contra enfermedades cardiovasculares (Ghiselli *et al.*, 1998).

Las antocianinas son potentes antioxidantes superiores a los antioxidantes clásicos como butilato hidroxianisol (BHA), butilato hidroxitolueno (BHT), y α -tocoferol. Wang y Jiao (2000) y Wang y Lin (2000) han demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra radicales peróxido, (ROO.), superóxido (O_2^-), hidroxilo (.OH) y oxígeno singulete (1O_2) (Garzón, 2008).

Tristan *et al.* (2005) realizaron bioensayos que demuestran que los arándanos inhiben las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis. Por su parte Hagiwara *et al.* (2002) demostraron que el suministro de papas púrpuras dulces y repollo morado a ratas de laboratorio, causan supresión de tumores. De igual manera, Koide *et al.* (1997), reportaron efectos antitumorales al usar extractos de frijoles rojos de soya que contenían cianidina conjugada con glucosa y ramnosa (Kong *et al.*, 2003).

Meiers *et al.* (2001) encontraron que agliconas de las más abundantes antocianinas en alimentos, cianidina y delfinidina poseen la capacidad para inhibir el crecimiento de

células tumorales *in vitro* en el rango micromolar. Sin embargo la malvidina una antocianina típica en uvas fue menos activa.

Hale *et al.* (2005) han demostrado que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales de ratas de laboratorio pueden ser mejorados a través de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas. Ohgami *et al.* (2005) suministraron extractos de frutas ricas en antocianinas a ratas con deficiencia ocular, resultando en una reducción de la inflamación y aumento de la agudeza visual.

Las antocianinas pueden prevenir la oxidación del ácido ascórbico causada por la quelación de los iones metálicos y la formación del complejo ascórbico (copigmento)-metalantocianina (Sarma *et al.*, 1997). Además pueden atrapar radicales O_2^- , Noda *et al.*, 1998 reportó que la antocianina delfinidina-3-(*p*-coumaroil rutinósido)-5-glucósido (nasunin) obtenido de piel de berenjena pueden atrapar O_2^- (Kong *et al.*, 2003).

La actividad antioxidante en frutos y hojas de diferentes variedades de la zarzamora sin espinas (*Rubus* sp.), dos especies de frambuesa (*Rubus idaeus* L.), (*Rubus occidentalis* L.) y la fresa (*Fragaria x ananassa* D.) fue reportado por Wang y Lin (2000). Los resultados mostraron una correlación lineal entre el contenido de fenoles totales y la actividad ORAC por los frutos y hojas. Para las bayas maduras, se mostró una relación lineal entre valores ORAC y el contenido de antocianinas.

2.11 Calidad de los frutos

2.11.1 Características de la calidad del fruto

El control de la calidad comienza en el campo, con la selección de la calidad máxima en el momento adecuado de la cosecha (Strum *et al.*, 2003). La fresa es un fruto no climatérico, por lo tanto, la maduración y senescencia es rápido, debido a una alta tasa de respiración y la producción de etileno, disminuyendo la calidad de los frutos rápidamente después de la cosecha (Knee *et al.*, 1997; Kader, 2002; Wills *et al.*, 2004).

La calidad de los frutos de fresa depende principalmente de su apariencia, firmeza y composición química. Los valores de estos atributos determinan el valor del cultivo y la aceptación del fruto por el consumidor. El color es probablemente el atributo más importante de apariencia, causado por la acumulación de antocianinas, el cual afecta la aceptación por el consumidor, la percepción del dulzor y sabor. El contenido de antocianinas varía entre 10 y 80 mg/100 g de fruta fresca (Heinonen *et al.*, 1998; Zabetakis *et al.*, 2001) la variación se debe al estado de madurez, variedad y a las condiciones ambientales (Haffner *et al.*, 1998). Además de la importancia del color, las antocianinas y otros compuestos ejercen acción protectora contra diversas enfermedades en humanos (Silva *et al.*, 2007).

La firmeza determina propiedades mecánicas de los frutos y está involucrada en la calidad sensorial (Gunness *et al.*, 2009). El cambio en la textura es consecuencia de un proceso natural de senescencia y además de la atmosfera en el cual los frutos son almacenados.

Los azúcares y ácidos orgánicos tienen gran importancia en la composición química de los frutos. Los azúcares están implicados en el sabor del fruto y determinan el valor calórico de las fresa, se acumulan en el fruto en forma de glucosa, fructosa y sacarosa (Ranwala *et al.*, 1992), que representan aproximadamente el 99 % del contenido total de azucares y el resto formada por sorbitol, xilitol y xilosa, aunque la cantidad de glucosa, fructosa y sacarosa varía con el grado de madurez del fruto (Hubbar *et al.*, 1991; Pérez *et al.*, 1997), el contenido total de azucares normalmente se encuentra dentro del rango de 70 a 100 mg en 100 g de fruta fresca (Hubbard *et al.*, 1991).

Los ácidos orgánicos están implicados en el sabor, la textura, pH y color alterando la calidad sensorial del fruto. En fresa, los ácidos principales son cítrico, málico y ascórbico, los cuales son secuestrados en vacuolas y pueden ser utilizados en el proceso de respiración o convertidos en azúcares (Perkins-Veazie, 1995). El pH de los frutos maduros varía entre cultivares, en un rango de 3.6 a 4.1 (Cordenunsi *et al.*, 2003).

El ácido ascórbico es uno de los ácidos orgánicos más importantes en los frutos de fresa su concentración varía entre 9.15 y 20.27 g kg⁻¹ en la etapa madura del fruto, contribuye a muchos efectos protectivos a la salud y nutrición y muestra actividad antioxidante debido a la facilidad con la cual puede perder electrones actuando como agente reductor para un número de especies reactivas. Además ayuda a mantener la configuración enzimática en el estado de reducción correcta para la actividad catalítica y está involucrado en la desactivación de la carcinogénesis (Kalt, 2001). Otros compuestos químicos incluyendo los volátiles son importantes en la calidad del fruto.

Los atributos de calidad están altamente influenciados por la maduración. Las fresas como frutos no climatéricos son cosechados en su estado completo de maduración para garantizar la calidad máxima en relación al sabor y color, ya que posteriormente no desarrollan atributos de calidad tras el desprendimiento, es decir son cosechadas listas para su consumo, lo que significa que tienen un periodo de vida corto (Cordenunsi *et al.*, 2003). Además de las lesiones mecánicas, el crecimiento de hongos es otra causa del deterioro de los frutos ya que el uso de fungicidas no está permitido, para evitar este deterioro las bajas temperaturas y el empleo de atmósferas modificadas son las más utilizadas para evitar parcialmente el crecimiento de hongos y la senescencia de los frutos extendiendo así la vida útil de los frutos de fresa (Manning, 1996).

2.12 Postcosecha

2.12.1 Cambios bioquímicos y físicos durante la postcosecha

La vida poscosecha de las frutas y hortalizas se ha definido tradicionalmente en términos de apariencia visual (frescura, color y ausencia de alteraciones fisiológicas) y la textura (firmeza, jugosidad y textura crujiente). Aunque este concepto implica el atractivo estético y las propiedades mecánicas asociadas con la calidad, no tienen en cuenta el sabor y la calidad nutricional (Pelayo *et al.*, 2002).

Los frutos carnosos son susceptibles al deterioro poscosecha (ya sea por un ablandamiento excesivo o por el ataque de patógenos), lo que dificulta el almacenamiento de los mismos y conduce a importantes pérdidas económicas.

Durante la maduración, se produce un conjunto de procesos físico-químicos entre la finalización del desarrollo y el principio de la senescencia, los cuales conducen a cambios en la textura, aroma, sabor y color de los mismos. Este es el caso de frutos como tomate, sin embargo en frutos como frutilla, la división entre desarrollo y maduración no se encuentra claramente definida. Por lo tanto, la maduración puede considerarse como un proceso de desarrollo continuo, en el cual varias etapas fisiológicas pueden estar solapadas (Manning, 1993).

La velocidad de ablandamiento de los frutos es el principal factor que determina el deterioro post-cosecha, el cual influencia la susceptibilidad al ataque por patógenos, la frecuencia de cosecha y la vida útil de los frutos una vez cosechados. El proceso de ablandamiento limita, además, el transporte y almacenamiento de los frutos (Fischer y Bennett, 1991, Brummell y Harpster, 2001).

Los cambios bioquímicos importantes en las paredes celulares de la fresa implican el aumento de la fracción de pectina, y los cambios histológicos son causados por modificaciones en la composición y paredes estructurales de la célula de la fruta (Redgwell *et al.*, 1997). En fresa, durante la maduración, se aumenta la expresión del gen que codifica la síntesis de *Pectatoliasa* y por lo tanto, aumenta el ablandamiento del fruto (Medina *et al.*, 1997).

La acidez total se incrementa durante el desarrollo hasta el estadio verde grande y luego disminuye hasta un mínimo en el estadio sobremaduro, debido principalmente a una reducción en el contenido de ácido málico (Manning, 1993).

El contenido total de compuestos fenólicos decrece continuamente durante la maduración de frutilla y las concentraciones de antocianinas totales aumentan durante la maduración, sin embargo, las concentraciones de fenoles totales se mantienen o cambian durante el almacenamiento en función de las variedades o las etapas de madurez (Nunes *et al.* 2006).

2.12.2 Almacenamiento en refrigeración y atmosferas controladas.

Las tecnologías de conservación postcosecha buscan retardar la maduración y senescencia, con el fin de prolongar el tiempo de vida útil de los productos y conservar su calidad. En la mayoría de los casos consiste en una desaceleración del metabolismo respiratorio a través del almacenamiento a bajas temperaturas o el almacenamiento con condiciones altas de dióxido de carbono (Hardenburg *et al.*, 1986). La refrigeración es una de las tecnologías más difundidas para la conservación de frutas y hortalizas. Su amplia utilización se debe a que permite conservar el valor nutritivo, sabor natural, olor y calidad de los productos almacenados resultando éstos semejantes a los recién cosechados. Asimismo, esta práctica de conservación permite, en muchos casos, un mayor margen de tiempo para su transporte. La baja temperatura puede disminuir sustancialmente la velocidad de muchos procesos metabólicos (respiración, producción de etileno, maduración y senescencia), además de proteger al fruto del ataque de patógenos que conducen al deterioro y a la pérdida de la calidad (Kitinoja y Kader, 2003).

Las temperaturas alrededor de los 0°C son consideradas las mejores para el almacenamiento de los frutos de fresa, debido a que causan pocos cambios en la calidad. Sin embargo, la comercialización y almacenamiento post-mercado ocurren a

temperaturas más altas, las cuales pueden afectar no solo la vida útil del fruto sino también valores nutricionales como los azúcares solubles, vitamina C y compuestos antioxidantes (Cordenunsi *et al.*, 2005).

Se ha observado que los frutos con 6 horas después de cosecha y posterior almacenamiento en bajas temperaturas, muestran cambios indeseables en color textura y además una reducción del 50% en el contenido de agua, en comparación con aquellos que son inmediatamente puestas en refrigeración después de la cosecha (Nunes *et al.*, 2005).

Las atmosferas controladas y modificadas tienen la ventaja del control del decaimiento de los frutos postcosecha, aunque se ha demostrado que el enriquecimiento de la atmosfera con CO₂ y bajas concentraciones de O₂, así como ciertas concentraciones de etileno pueden afectar el contenido de ácido ascórbico total y antocianinas de manera negativa, afectando también el color del fruto y el valor nutricional, inhibiendo las enzimas relacionadas con la síntesis de antocianinas, la enzima fenilalanina amonio liasa y el flavonoide glucotransferasa y promoviendo la actividad de la ascorbato oxidasa, que causa la oxidación del ácido ascórbico a ácido dehidroascorbico. Se sabe que la síntesis de antocianinas continua después de la cosecha y también durante el almacenamiento a bajas temperaturas, pero se inhibe en frutos almacenados en altas concentraciones de CO₂ (Cordenunsi *et al.*, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluación de compuestos químicos en cuatro variedades de fresa en postcosecha y en condiciones de refrigeración.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el contenido de azúcares solubles totales, así como de glucosa, fructosa y sacarosa en frutos de fresa en estado inmaduro y maduro postcosecha sin y en condiciones de refrigeración.
- Establecer el contenido de algunos compuestos químicos relacionados con la capacidad antioxidante de frutos de fresa en estado inmaduro y maduro en postcosecha sin y con refrigeración

4 HIPOTESIS

- El estado de madurez del fruto (*Fragaria x ananassa* D.) afecta la concentración de compuestos químicos en el mismo.
-
- La temperatura modifica la concentración de los compuestos químicos en el fruto de fresa, relacionados con sus propiedades nutraceúticas y de calidad.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización del experimento

El estudio se llevó a cabo en un invernadero de vidrio no climatizado ubicado en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, en Texcoco, Estado de México 19° 30' LN, 98° 53' LO, 2250msnm con una temperatura de 25 y 16°C (día y noche) y humedad relativa de 56 y 76°C (día y noche).

5.2 Material vegetal

Se utilizaron frutos de fresa cosechados en etapa inmadura y máxima de maduración (20 y 30 días después de la antesis), provenientes de plantas de cuatro variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*), dos variedades mexicanas Zamorana (CP 02-01) y Jacona (CP 02-04) y dos variedades comerciales extranjeras Festival y Albión. Se utilizaron 40 plantas de cada variedad, y en la etapa de inicio de la floración, las flores fueron marcadas diariamente en el momento de la antesis, para uniformizar la edad de los frutos y su cosecha respectiva.

Características de las variedades empleadas:

Zamorana: producto de la cruce de CP 99-1 y Camarosa. Altamente productiva de frutos grandes, de calidad y firmeza superior; producción precoz, con altos porcentajes de fruta con calidad de exportación; adecuada para consumo en fresco por su gran balance en sabor. Sensibilidad moderada a cenicilla (*Sphaerotheca macularis*) y *mancha angular*

(*Xanthomonas fragariae*) (Calderon *et al.*, 2009). Registro definitivo en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNRVV-SNICS) FRE-001-070807.

Jacona: producto de la cruce de CP 99-11 y Camarosa. Fruto grande y firme de excelente sabor adecuado para consumo en fresco; altamente productiva con altos porcentajes de fruto con calidad de exportación; producción precoz. Limitada sensibilidad a enfermedades como cenicilla (*Sphaerotheca macularis*) y mancha angular (*Xanthomonas fragariae*) (Calderon *et al.*, 2009). Registro definitivo en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNRVV-SNICS) FRE-002-070807.

Festival: Produce frutos firmes, de color rojo profundo con excelente sabor. Esta variedad es susceptible a la antracnosis (pudrición de fruto y corona) causado por *Colletotrichum fragarie* (Stapleton *et al.*, 2001).

Albion: Variedad de día neutro, planta rustica con hojas gruesas, frutos grandes cónicos y alargadas con color rojo intenso, excelente sabor, resistente a Phytophthora, Verticillium y Anthracnosis.

Las plantas fueron establecidas en bolsas de plástico negras con capacidad de 4Kg y fueron llenadas con una mezcla de vermiculita, Peat Moss y tierra de monte en una proporción 1:1:3, previamente esterilizado. Previo al trasplante la raíz de las plantas fueron lavadas con fungicida Ridomil® (1g /l), trasplantadas el día 22 de enero de 2013 y regadas de inmediato con agua corriente a capacidad de campo, los riegos posteriores se llevaron a cabo cada tercer día. Después de un mes de establecido el cultivo las plantas fueron fertilizadas con nitrato de calcio a una concentración de 10g/l de agua y aplicando 100ml /planta.

Durante el desarrollo del cultivo se presentaron problemas de pulgón el cual fue controlado con dimetoato a una concentración de 1.5ml /l de agua aplicado por aspersión solo por las tardes cada 5 días.

5.3 Evaluaciones

Los compuestos químicos fueron evaluados en frutos inmaduros y maduros frescos y en almacenamiento a 4°C, durante un periodo de 9 días, las cuantificaciones se realizaron cada 3 días, es decir, a los 0, 3, 6 y 9 días. Para la evaluación en almacenamiento los frutos fueron colocados en un empaque tipo clamshell en un refrigerador vertical industrial marca Ojeda® modelo RVP-310 con una puerta de cristal sin luz. El número de frutos por tratamiento fueron de 140 y se consideraron 10 frutos por repetición

5.3.1 Azúcares solubles totales

5.3.1.1 Extracción de azúcares

Se pesaron 10g de muestra vegetal y cortaron en trozos finos y se colocaron en un vaso de precipitado de 250 ml, posteriormente se adiciono 50 ml de Etanol al 80 % y se fijó la muestra por 10 min en ebullición, se retiró, macero y filtro la muestra con un papel filtro Whatman. El papel filtro con el material macerado se enrolló en forma de cartucho, se engrapo para evitar pérdida de muestra, después se colocó el cartucho en un aparato Soxhlet. Al mismo tiempo, el filtrado previo se llevó a un volumen aproximado de 100 ml con Etanol al 80% en un matraz para Soxhlet. Una vez montado el sistema de Soxhlet se inició la extracción de azúcares por reflujo continuo, por aproximadamente 1.5h y se

continuo con la eliminación del alcohol por evaporación para concentrar la muestra hasta un volumen final de 10 ml y almacenamiento a -20°C, cuando no se utilizó de manera inmediata.

5.3.1.2 Cuantificación de azúcares solubles totales

Para la determinación de azúcares totales se empleó el Método de Antrona (Montreuil *et al.*, 1997). Una vez obtenido el extracto anterior se realizó una dilución de la muestra la cual pudiera efectuarse la lectura en el espectrofotómetro y se elaboró una curva patrón de glucosa a una concentración de 2.5mg/ml. Se colocaron en tubos de ensaye 300µl de solución estándar o muestra y 300µl de agua destilada y fueron colocados en hielo junto con el reactivo de antrona. Posteriormente fue agregado con agitación constante, 3ml del reactivo de antrona frío y se mezcló durante 5 minutos en frío, y colocados en baño maría a 100°C e incubado durante 10 minutos exactos y se determinó la absorbancia a 625nm en un espectrofotómetro Jenway 6305 (UV/Vis). Los resultados fueron expresados en mg / g de peso fresco (PF).

5.3.2 Cuantificación de glucosa, fructosa y sacarosa

El proceso de cuantificación de azúcares solubles se basó en una serie de reacciones enzimáticas secuenciales de la ruta de la glicólisis, donde todos los azúcares se convierten en glucosa 6-fosfato, y el sustrato para la reacción final resulta en la producción de NADH (Scholes *et al.*, 1994). El NADH tiene la absorbancia máxima a una longitud de onda (λ) de 340nm que fue la longitud a la que se hicieron las lecturas. Con

el extracto obtenido se realizó una dilución con la finalidad de poder realizar la lectura en el espectrofotómetro.

Se elaboró una solución stock de glucosa, fructosa y sacarosa. 15mg de cada azúcar se disolvieron en 6ml de agua destilada para tener una concentración de 2.5mg/ml. De esta solución se elaboró una curva patrón tomando los siguientes volúmenes 0,20, 40, 60, 80 y 100µl en tubos ependorff, los cuales se aforaron a 1000µl con agua destilada. Para obtener las siguientes concentraciones 0, 50, 100, 150,200 y 250µg.

Para medir los azúcares solubles de cada ensayo se colocaron 800µl de HEPES 100mM (pH 7.5), 40µl de NAD 40mM (Sigma), 40µl de ATP 100mM pH 7 (Sigma), 40µl de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (0.05U/µl de amortiguador de HEPES) (Roche), y 40µl de solución de estándares o extracto de cada muestra.

Para la determinación de glucosa a cada ensayo se adiciono 40µl de Hexocinasa (0.05U/µl de amortiguador de HEPES) (Roche) y se dejó actuar 20min a temperatura ambiente posteriormente se realizó la lectura en el espectrofotómetro. El contenido de fructosa se determinó agregando 40µl fosfoglucosa isomerasa (0.06U/µl de amortiguador de HEPES) (Roche) y 20 min después se tomó la lectura. Finalmente para la determinación de sacarosa se adicionaron 40µl de invertasa (0.8U/µl de amortiguador de HEPES) (Sigma) y se dejó 20min posteriormente se realizó la lectura. Todas las lecturas se realizaron en un Jenway 6305(UV/Vis).

5.3.3 Cuantificación de Fenoles Totales

Para la cuantificación de fenoles totales se empleó el método de Folin- Ciocalteu® (Sigma- Aldrich, USA) (descrita por Ornelas- Paz *et al.*, 2013). Una porción de frutos se macero y se tomó una muestra de 5g la cual fue homogenizada con 15ml de metanol al 70% (el cual contenía 5% de ácido acético), se centrifugo a 12000rpm por 10 min a 5°C. El extracto se recuperó y diluyo con metanol al 70% el cual contenía 5% de ácido acético. Alícuotas de 250µL del extracto fueron mezcladas con 1.25ml del agente Folin-Ciocalteu al 10% y 1ml de una solución de carbonato de sodio (7.5% p/v). La mezcla fue incubada a 45°C durante 40min. La absorbancia de la solución fue determinada a 750nm en un espectrofotómetro Jenway 6305 (UV/Vis). El ácido gálico® (Baker, USA) fue usado como estándar (0.02mg/ml). La concentración de fenoles totales fue expresa como mg de ácido gálico por 100g de peso fresco (mg GAE/100g).

5.3.4 Cuantificación de Antocianinas Totales

Una porción de frutos se maceró y se tomó una muestra de 3 g que se depositó en matraces de 125 ml y se añadieron 20 ml de ácido trifluoroacético (TFA) al 1 % en metanol y se colocaron en condiciones de refrigeración y en ausencia de luz durante 24h; posteriormente se decantó el sobrenadante y al residuo se le agregaron nuevamente 20 mL de disolvente, una mezcla de metanol: ácido acético: agua (10:1:9v/v/v). Los matraces se colocaron en un agitador horizontal durante 24 horas a temperatura ambiente. En total se realizaron dos extracciones sucesivas con el solvente metanol: ácido acético: agua (10:1:9v/v/v), al término de cada extracción, se decantó el

sobrenadante y se hizo pasar a través de papel filtro (Whatman® No 42 de 70 mm Ø). Posteriormente se midió la absorbancia de cada una de las tres extracciones a 520nm, en un espectrofotómetro Jenway 6305 (UV/VIS). Con los datos de volumen, absorbancia y peso de muestra se calculó el contenido total de antocianinas en términos de pelargonidina clorada® (Sigma Chem. MN), con la cual se preparó una curva patrón a partir de una solución estándar de 1mg/ml (Salinas *et al.*, 1999) para cada uno de los solventes.

5.3.5 Cuantificación de vitamina C

El contenido de vitamina C fue determinado usando el método de la AOAC (Boland, 1990) por una titulación con solución de Tillman (DFI- 2,6 diclorofenol indofenol 0.02%). Se tomaron 5g de tejido el cual fue homogenizado con 50ml de ácido oxálico (0.5%). Se tomó una alícuota de 5ml de la solución y se tituló con la solución de tillman hasta notar el vire de color. Para el cálculo se elaboró una curva patrón de ácido ascórbico a diferentes concentraciones.

5.3.6 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por medio del método del radical libre (Soler-Rivas *et al.*, 2000), que consiste en hacer reaccionar una cantidad conocida de DPPH® (2,2-difenil-picril-hidrazil) (Sigma- Aldrich, USA) a una concentración de 60µM, en metanol al 80 % con una concentración conocida del antioxidante a evaluar. El DPPH antes de la reacción con el antioxidante muestra un color morado intenso, que al ser reducido adquiere una coloración amarilla.

Para la actividad antioxidante las muestras se llevaron a las mismas concentración de 5µg/ml, tomaron 250 µL del extracto y se añadió 750 µL metanol al 80 % , mismo que se hizo reaccionar con 2 ml de una solución de DPPH 60 µM, en metanol al 80 %. Se midió la absorbancia del metanol al 80% a 515nm para calibrar a cero, además se midió la absorbancia DPPH puro. Posteriormente se llevó un registró de la absorbancia de la mezcla a diferentes tiempos de la reacción (0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 y 120 min); el análisis se realizó por triplicado. Con los datos obtenidos se determinó el porcentaje de DPPH reducido (% DPPH) durante la reacción; para esto se utilizó la fórmula propuesta por Soler-Rivas *et al.* (2000):

$$\%DPPH = \frac{\text{abs DPPHo} - \text{abst}}{\text{abs DPPHo}}$$

Dónde: abs DPPHo es la absorbancia de la solución de DPPH 60 µM y abst es la absorbancia de las diferentes muestras al tiempo t.

5.3.7 Análisis estadístico

El análisis de los datos se hizo con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) para Windows versión 9.0, con un análisis de varianza completamente al azar y una prueba de tuckey $\alpha \leq 0.05$

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Contenido de azúcares solubles totales en dos etapas de maduración de frutos de fresa y en condiciones de almacenamiento por refrigeración.

Con base en los resultados obtenidos, se observa un incremento notable en el contenido de azúcares totales para las cuatro variedades evaluadas; Albión, Festival, CP-Jacona y CP-Zamorana (hasta con un 70%) en comparación con los frutos inmaduros, y presentaron diferencias significativas ($Tuckey \leq 0.05$) entre los dos estados de maduración. La variedad Festival fue la que mostro mayor acumulación de azúcares con un valor de 138.89mg/g de peso fresco (PF), seguido de Albión con 117.81mg/g posteriormente CP-Zamorana y CP-Jacona con 111.88mg/g y 100mg/g, respectivamente (Figura 7). Mientras que en frutos en estado inmaduro no hubo diferencias significativas. El contenido de azúcares que presenten los frutos de fresa es importante ya que están directamente implicados en los atributos sensoriales, son indicadores determinantes en la calidad del fruto. El sabor es una de las propiedades más importantes que da valor comercial a los frutos en general, y en particular en los frutos de fresa maduros está condicionado por el balance entre azúcares y ácidos. La fresa al ser un fruto no climatérico debe ser cosechado en su estado máximo de maduración ya que posterior al corte no desarrolla atributos de calidad.

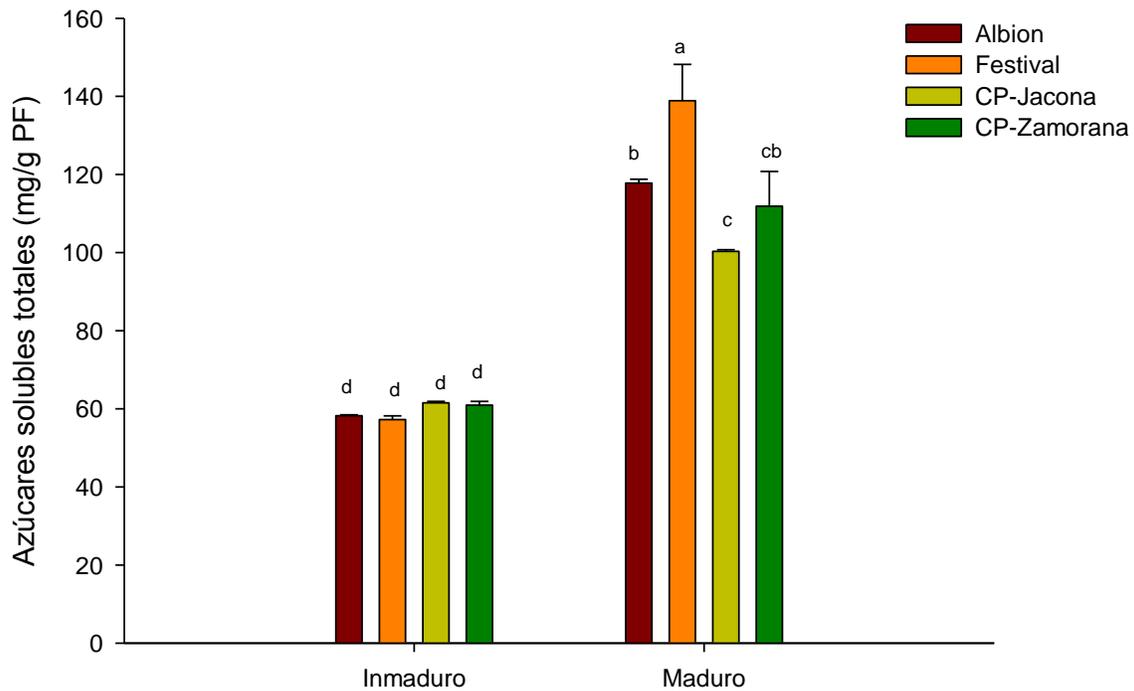


Figura 7. Contenido de azúcares solubles totales (mg/g de PF) en dos variedades mexicanas de frutos de fresa (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival), en dos estados de maduraci3n. Los datos son el promedio m1s la desviaci3n est1ndar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

Cuando los frutos de fresa se sometieron a diferentes tiempos de almacenamiento por refrigeraci3n (4°C), se observaron cambios significativos (Tuckey ≤ 0.05) en el contenido de azúcares, en el 3o y 6o día de refrigeraci3n se observ3 una disminuci3n de azúcares en un rango 10-30% para las variedades Albi3n, Festival y CP-Zamorana, excepto CP-Jacona, y los valores fueron de 85-125mg/g de PF (Figura 8). Datos comparables fueron obtenidos por Gil *et al.* (1997) y Pelayo *et al.* (2003) quienes encontraron una disminuci3n

entre el 8-16% en el contenido de azúcares de frutos de fresa almacenados a 5°C. En otro estudio Pineli *et al.* (2012) observaron disminución de azúcares durante el almacenamiento de 9.3% y 11.9%, para las variedades Oso grande y Camino Real, respectivamente. Los resultados observados pueden ser debido a que la fresa es un fruto que no sintetiza azúcares después de la cosecha, por lo tanto, no contiene reservas de almidón para el mismo fin, y ésta disminución se debe al consumo de sus reservas durante la respiración (Ayala-Zavala *et al.*, 2004; Pineli *et al.*, 2012). Sin embargo, se observó que la variedad CP-Jacona mostro un aumento después de 9 días de almacenamiento a 4°C, el cual puede ser una consecuencia de la degradación de la pared celular (Cordenunsi *et al.*, 2003).

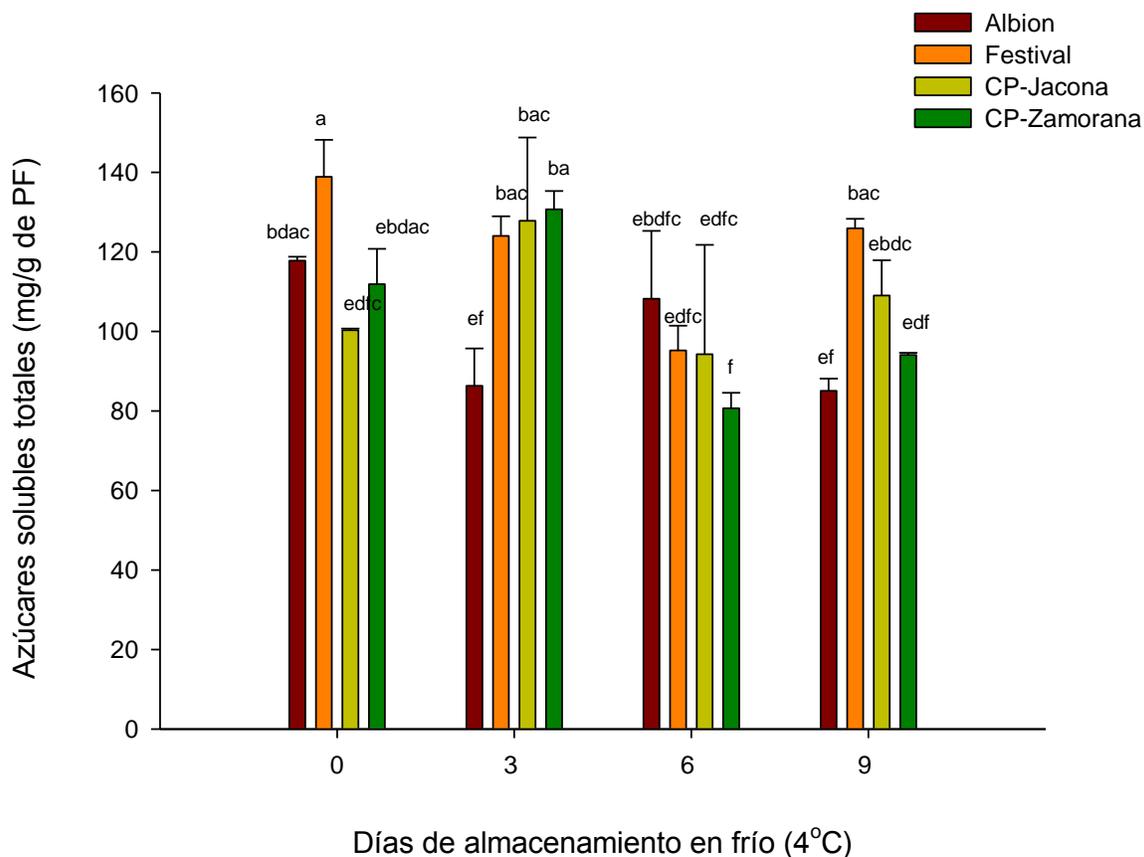


Figura 8. Contenido de azúcares solubles totales (mg/g de PF) en frutos de fresa en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival), a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C. Los datos son el promedio m1s la desviaci3n est1ndar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estad1sticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

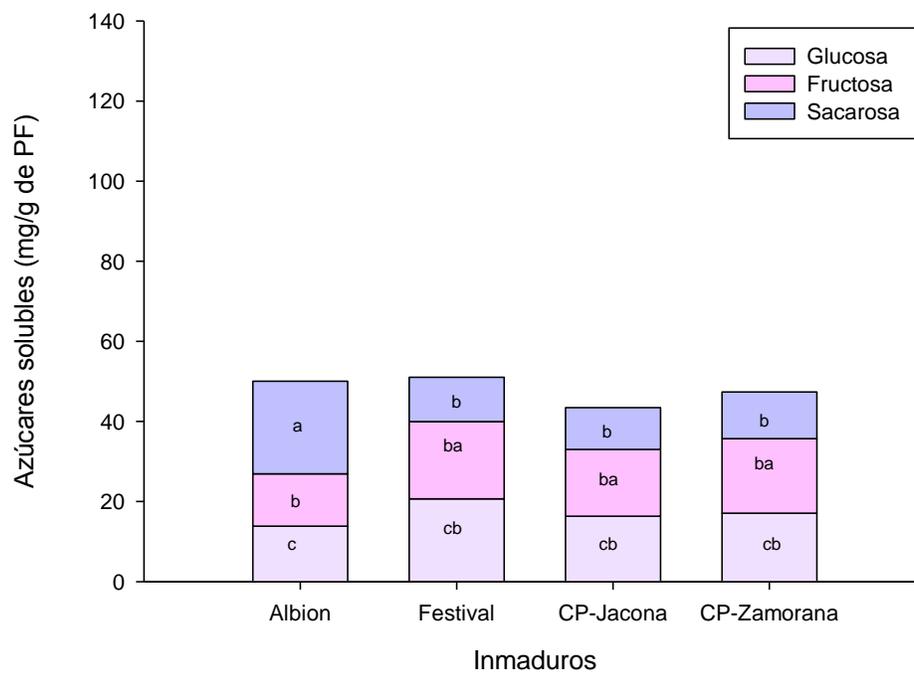
El contenido de azúcares totales presentes en las variedades evaluadas se encuentra dentro de rango normal establecido 70-100mg/g de PF (Hubbard *et al.*, 1991), por lo tanto las variedades mexicanas pueden ser competitivas y útiles para comercializaci3n.

6.2 Contenido de azúcares glucosa, fructosa y sacarosa en dos etapas de maduración de frutos de fresa y almacenamiento por refrigeración

Los principales azúcares solubles y en mayor concentración en fresa son glucosa, fructosa y sacarosa (Cordenunsi *et al*, 2003; Cordenunsi *et al*, 2005), estos azúcares fueron evidenciados en las cuatro variedades de fresa de este trabajo (Figura 9A), mostrando diferentes concentraciones en los dos estados de maduración y en las cuatro variedades evaluadas (Figura 9B). Glucosa y fructosa fueron los principales azúcares presentes en ambos estados de maduración mostrando valores en un rango de 13-50mg/g de PF lo que comprende entre 35-44% del contenido total de azúcares, los contenidos de glucosa y fructosa para la variedad festival fueron de 20 y 19mg/g de PF, respectivamente, mostrando los valores más altos en la etapa inmadura de los frutos. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas entre las diferentes variedades. En la misma etapa inmadura, los frutos de Albión presentaron la mayor concentración de sacarosa con 23mg/g de PF, indicando diferencia estadística con respecto a las otras tres variedades. En la etapa de madurez de los frutos la variedad CP-Zamorana presentó los valores más altos de glucosa con 52.16mg/g de PF, mientras que la fructosa mostró valores de 18-22mg/g de PF para el caso de las cuatro variedades, y sin diferencias estadísticas significativas entre variedades y en los dos estados de maduración. En estado de frutos maduros la sacarosa en CP-Zamorana presentó la mayor concentración, mostrando diferencias estadísticas significativas en tres de las variedades, a excepción de festival en ambos estados de maduración. Estas oscilaciones pueden deberse debido a que la sacarosa es la fuente primaria de glucosa y fructosa (Cordenunsi *et al*, 2005). El contenido de azúcares totales puede variar durante el

crecimiento, sin embargo, la proporción de cada azúcar soluble puede permanecer constante para diferentes condiciones de cultivo y variedades (Forney *et al*, 2000).

A.



B.

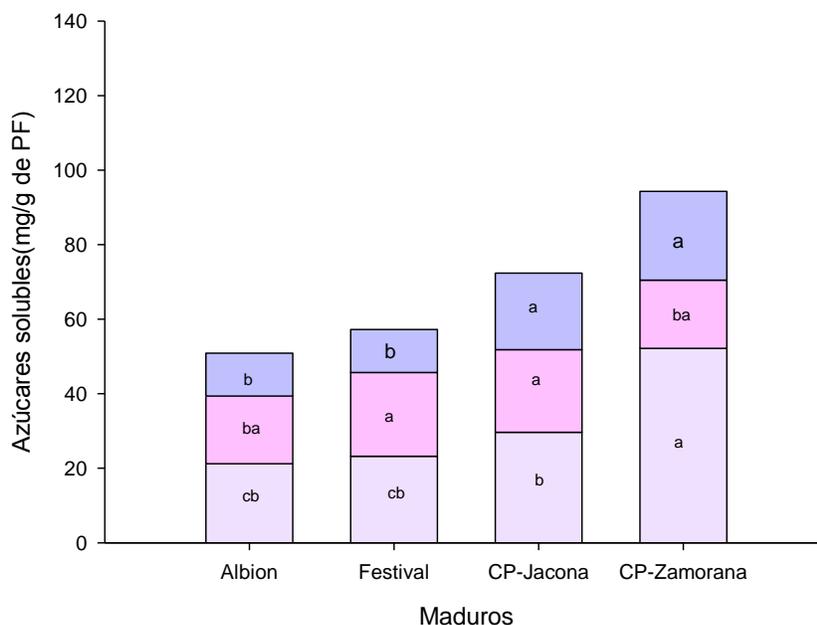


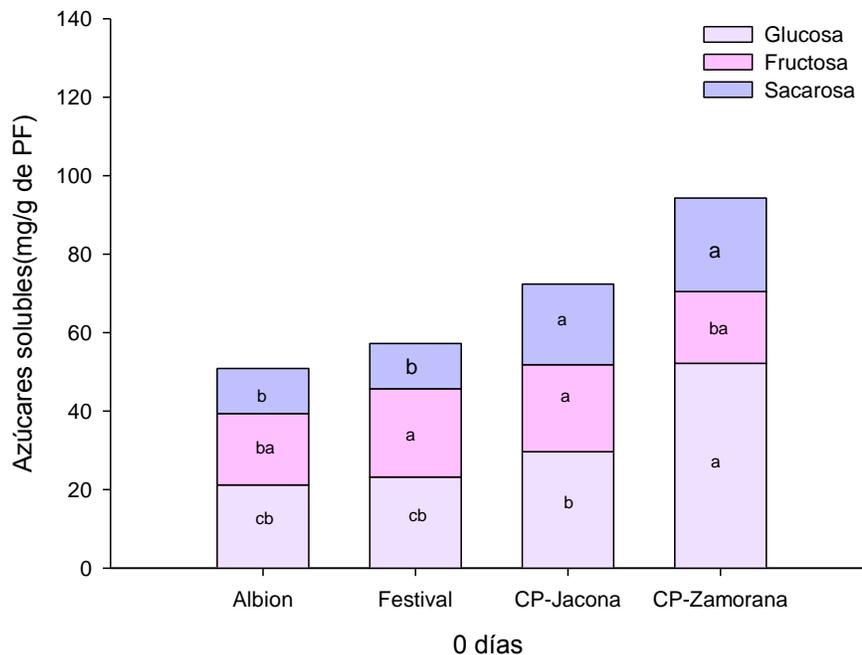
Figura 9. Contenido de azúcares solubles (Glucosa, fructosa y sacarosa) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival), en estado inmaduro **(A)** y maduro **(B)**. Los datos representan el promedio de tres repeticiones. Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

Durante la refrigeraci3n a 4°C los frutos mostraron cambios significativos para cada uno de los azúcares evaluados entre variedades y tiempos de almacenamiento (Figura 10). Los azúcares predominantes fueron glucosa y fructosa (40 y 30%, respectivamente). La mejor variedad fue CP-Zamorana que mostr3 el mayor contenido de azúcares solubles, a excepci3n del 6to d3a donde se observ3 disminuci3n de los tres azúcares evaluados. Al final del almacenamiento la concentraci3n de glucosa no mostro diferencias significativas, en cuanto a fructosa Albi3n y CP-Zamorana mostraron diferencias

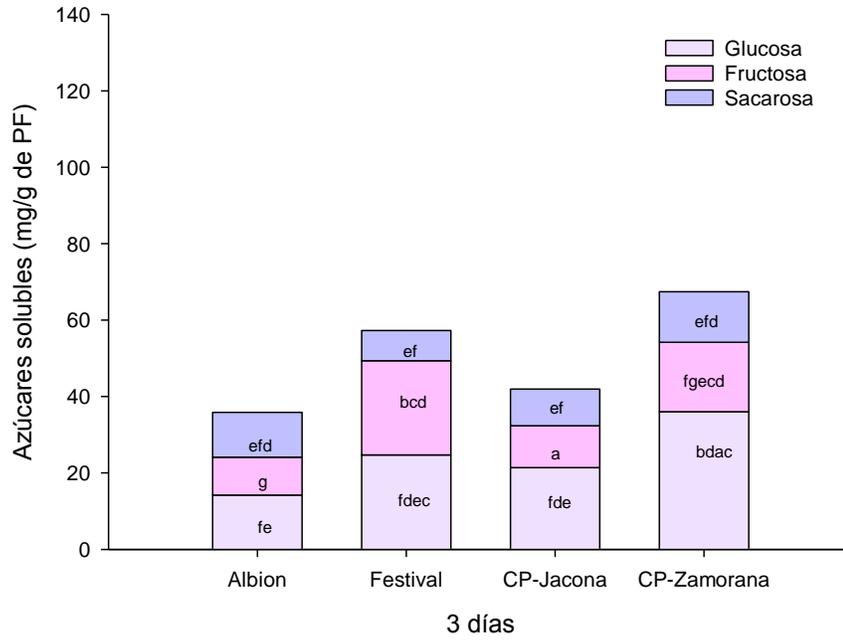
estadísticas, y finalmente la sacarosa solo mostro diferencias en la variedad CP- Jacona. De manera general, las variedades que mostraron menor concentración de glucosa, fructosa y sacarosa fueron Festival y CP-Jacona.

La temperatura es uno de los factores más importantes que afectan la vida postcosecha de frutas y verduras. A bajas temperaturas se disminuye la respiración, lo cual favorece la conservación de los carbohidratos en el tejido, esto concuerda con Ayala *et al*, quien observó que a 0°C y 5°C se mantuvo una baja tasa respiratoria y por lo tanto no hay un cambio significativo en el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) (SST), los cuales son importantes en el sabor de los frutos de fresa y están íntimamente relacionados con el contenido de glucosa y fructosa. Se ha reportado que glucosa y fructosa contribuyen con más del 65% de SST (Wang and Camp, 2000).

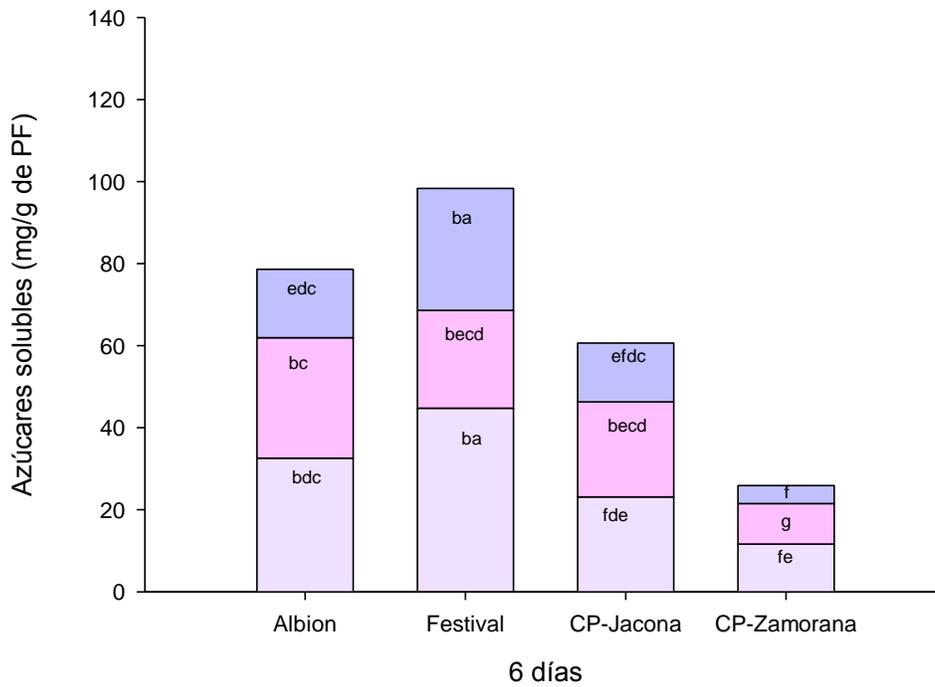
A)



B)



C)



D)

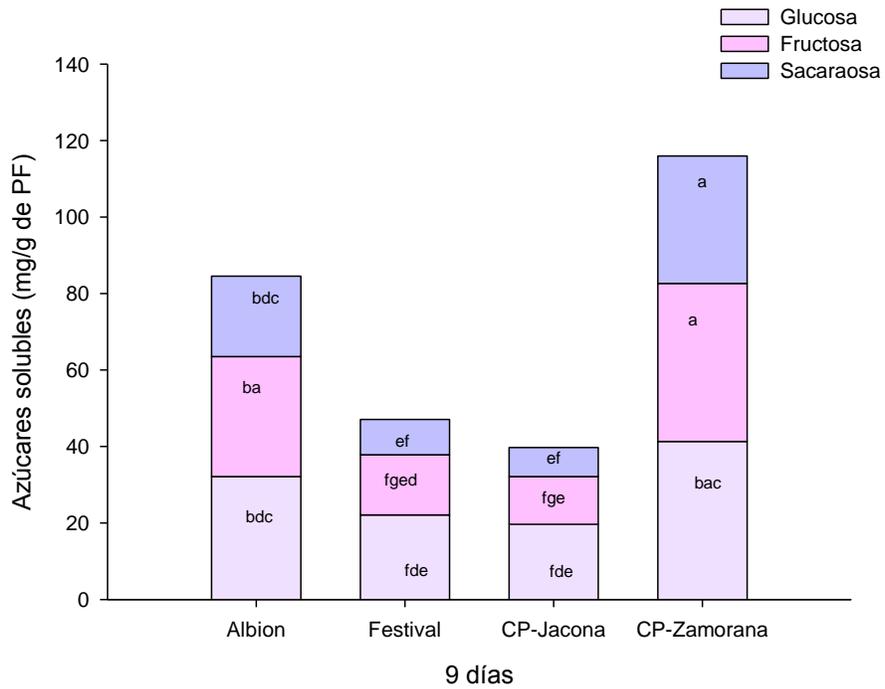


Figura 10. Contenido de azúcares solubles (Glucosa, fructosa y sacarosa) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival) a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C 0,3, 6 y 9 d3as (A, B, C y D respectivamente). Los datos representan el promedio de tres repeticiones. Letras distintas representan diferencias estad3sticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

Al realizar comparaciones entre variedades glucosa y sacarosa en frutos inmaduros no mostraron diferencias estad3sticas, en cuanto almacenamiento en refrigeraci3n la variedad que mostro las mayores concentraciones fue CP-Zamorana, fructosa no mostro diferencias estad3sticas en frutos inmaduros y maduros y en almacenamiento la variedad Festival se observaron las mayores concentraciones (Cuadro 5).

Cuadro 5. Contenido de azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival) en dos estados de maduraci3n y almacenamiento en refrigeraci3n (4°C).

GLUCOSA					
Variedad	Inmaduro	Maduro (0 d3as)	3 d3as	6 d3as	9 d3as
Albi3n	13.85±0.90a	21.21± 0.40b	14.20±0.04 c	32.58±0.01ba	32.14±0.04ba
Festival	20.70±0.07a	23.23±0.49b	24.72±0.12b	38.10±0.40a	22.10±0.96b
CP-Jacona	16.33±0.55a	29.67±1.67b	21.40±0.73b	23.14±0.42bc	19.65±0.92b
CP-Zamorana	17.1±0.30a	52.16±0.83a	36.01±0.09 a	11.65±1.35c	41.33±0.49a
FRUCTOSA					
Albi3n	13.07±1.55a	18.14± 0.76a	9.92± 1.34c	26.00±0.56a	31.39±0.75a
Festival	19.28±0.33a	22.45±0.48a	24.64±0.34a	30.53±0.02a	15.73±0.61b
CP-Jacona	16.7±0.90a	22.16±0.14a	10.96±0.57c	23.16±0.84a	12.48±0.49b
CP-Zamorana	18.62±0.78a	18.32±0.75a	18.18±1.32b	9.88±1.45b	41.32±0.60a
SACAROSA					
Albi3n	16.96±1.85a	11.52±0.07b	11.73± 1.23ba	16.68± 0.81b	21.02± 0.96b
Festival	11.07±0.00 b	11.56±1.88 b	7.93±0.22c	29.70±0.19a	9.26±0.38c
CP-Jacona	10.40±1.70 b	20.52±0.27ba	9.60±1.18bc	14.32±1.16b	7.59±1.17c
CP-Zamorana	11.66±2.00 b	23.83±0.74 a	13.23±0.08 a	4.36±0.90c	33.30±0.18a

Medias ± la desviaci3n est3ndar en la misma columna con distinta letra son significativamente diferentes (Tuckey $p \leq 0.05$). Los valores son medias de tres repeticiones.

6.3 Contenido de fenoles totales en frutos de fresa en dos etapas de maduración y en almacenamiento por refrigeración.

En la figura 11 se observó que en estado inmaduro de los frutos de fresa la variedad que presentó mayor concentración de fenoles fue CP-Jacona con 426.44mg GAE/100g de PF, seguido de Festival con 293, Albión y CP-Zamorana con 289 y 278mg GAE/ 100g de PF, respectivamente. Mientras que en frutos maduros la variedad CP-Jacona presentó la mayor concentración de fenoles (127mg GAE/100g de PF) comparada con las variedades de Festival (113mgGAE/100g de PF), Albión (121mg/100g de PF) y CP-Zamorana (90mg/100g de PF), los valores encontrados en las variedades evaluadas se encuentran dentro del rango reportado 86mg/100g de PF (Kalt *et al.*, 1999) y por debajo de las variedades 'Dover', 'Campineiro' y 'Oso grande' (300mg/100g de PF) reportadas por Cordenunsi *et al.* (2005), sin embargo no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre variedades para el estado maduro.

Durante el desarrollo de maduración del fruto se observó que el contenido de fenoles totales tiende a disminuir de manera significativa para las cuatro variedades en un 70% (Figura 12). Esto resultados concuerdan con Spayd y Morris (1981) quienes reportaron una disminución en el contenido de fenoles totales en la variedad 'Cardinal' durante el desarrollo del fruto. Ferreyra *et al.* (2007) observó cambios similares en frutos de fresa de la variedad 'Selva' y Nunes *et al.* (2006) en las variedades 'Sweet Charlie' y 'Oso Grande'.

El método empleado en la determinación de fenoles totales es un factor importante ya que Ornelas- Paz *et al.* (2013) encontró que las concentraciones de compuestos

fenólicos totales determinado por el método del Folin-Ciocalteu eran considerablemente inferiores a los obtenidos por la suma del contenido individual. Las limitaciones del ensayo de Folin-Ciocalteu han sido ampliamente descritas en la literatura, incluyendo la interferencia de compuestos no fenólicos, la baja y sobreestimación por diferencias en la λ_{max} . Sin embargo, este método es muy utilizado para la determinación del contenido de fenoles totales.

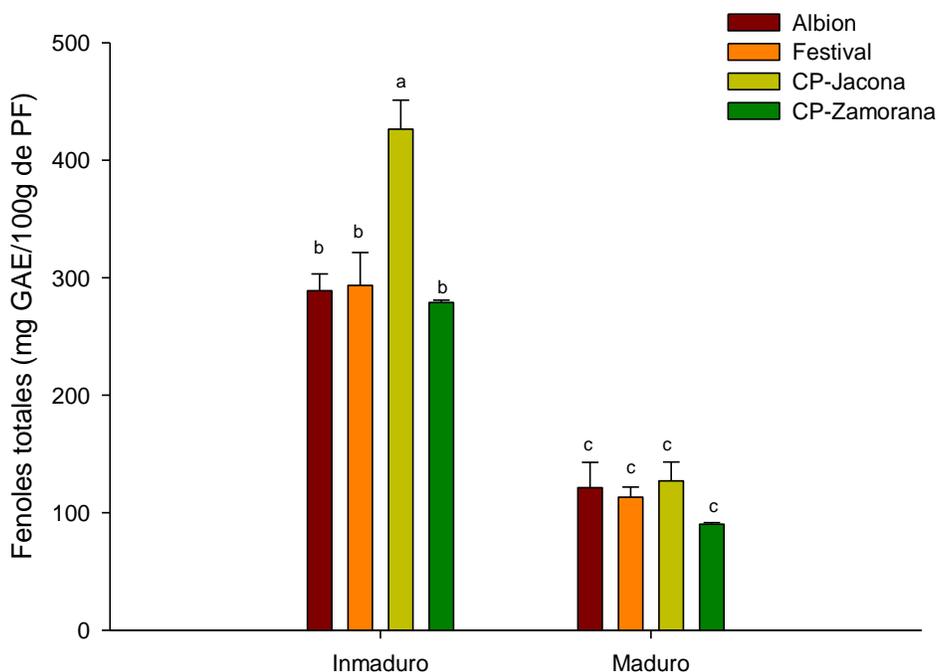


Figura 11. Contenido de fenoles totales (mg GAE/100g de PF) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albión y Festival) en dos estados de maduración. Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

El almacenamiento a 4°C, no mostró un cambio significativo en el contenido de fenoles totales para las diferentes variedades, y tampoco durante los diferentes tiempos de almacenamiento (Figura 12), esto también fue observado por Cordenunsi *et al.* (2005) quien no observó cambios significativos en frutos almacenados a 6, 16 y 25°C. Ayala-Zavala *et al.* (2004), al evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento en frutos de la variedad 'Chandler', observaron que el nivel de fenoles totales se mantuvo constante a 0°C hasta por 13 días, sin embargo un aumento sustancial fue observado a 5°C y 10°C. Cantillano *et al.* (2012) evaluó el contenido de fenoles totales en dos cultivares 'Camino Real' y 'Camarosa' después de ocho días de almacenamiento a 1°C, los niveles de fenoles totales en los frutos tuvieron aumento superior a 14 y 8% respectivamente. Además de la temperatura de almacenamiento, el aumento en el nivel de estos compuestos se puede deber al grado de estrés mecánico y biológico, a la exposición a la luz y a la disponibilidad de oxígeno (Cantillano *et al.*, 2012).

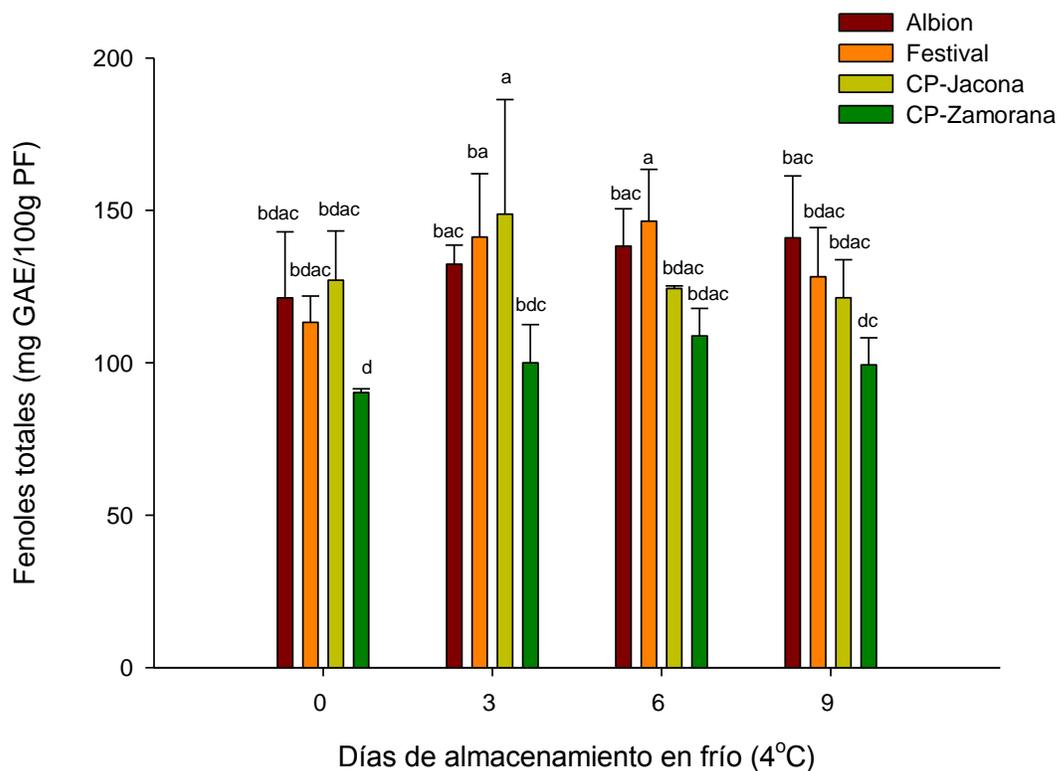


Figura 12. Contenido de fenoles totales (mgGAE/100g de PF) en frutos maduros de dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival) con diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C. Los datos son el promedio m3s la desviaci3n est3andar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey \leq 0.05).

6.4 Contenido de antocianinas totales en frutos de fresa en dos etapas de maduraci3n y almacenamiento por refrigeraci3n.

A diferencia del contenido de fenoles totales, el contenido de antocianinas totales tiende a aumentar durante la maduraci3n (96%) observando diferencias estadísticas significativas entre los dos estados de maduraci3n (Figura 13). Wang y Lin, 2000, encontraron que a partir de la etapa de blanco (3mg /100 g de PF) se aumenta el

contenido de antocianinas hasta de un 100% en color rojo (39 mg / 100 g de PF). Resultados similares fueron encontrados por Montero *et al.* (1996) para el cultivar ‘Chandler’ y Ferreyra *et al.* (2007) para el cultivar ‘Selva’. La concentración promedio de antocianinas que presentaron las diferentes variedades en frutos inmaduros fue de 0.88mg/100g de PF, mientras que en frutos maduros la variedad que presentó mayor contenido de antocianinas fue Albión con 24mg/100g de PF, las otras tres variedades presentaron concentraciones entre 21-23mg/100g de PF, las cuales se encuentran dentro del rango reportado (18-60mg/100g de PF) en la literatura (Ornelas-Paz *et al.*, 2013).

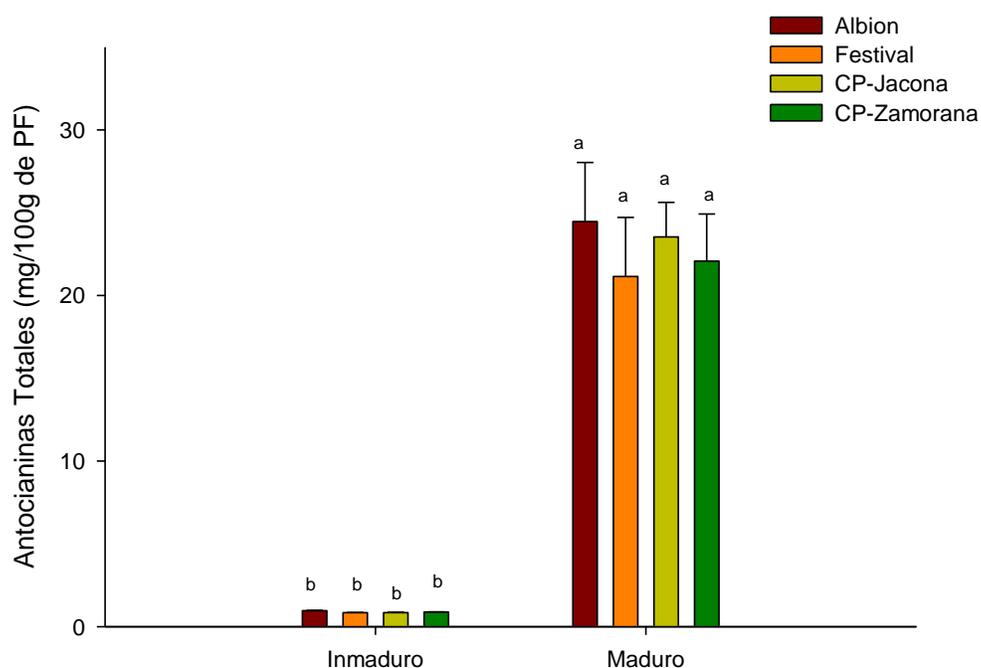


Figura 13. Contenido de antocianinas totales (mg/100g de PF) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albión y Festival) en dos estados de maduración. Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey \leq 0.05).

Los niveles de antocianinas en los frutos maduros con diferentes tiempos de almacenamiento de 3, 6 y 9 días a 4°C no mostraron diferencias estadísticas significativas, sin embargo, en el noveno día se observó incremento del 27% para las cuatro variedades, con un valor promedio de 28mg/100g de PF (Figura 14). Cordenunsi *et al.* (2003) encontraron un ligero aumento (20%) en el contenido de antocianinas totales en los cultivares 'Campineiro' y 'Dover' almacenados por 7 días a 6°C. Holcroft y Kader (1999) también observaron una ganancia significativa de 35% en los niveles de antocianinas de frutos del cultivar 'Selva' almacenados por 10 días a 5°C, estos incrementos pueden indicar que la ruta biosintética para antocianinas continúa aun después de la cosecha y del almacenamiento a bajas temperaturas, que no inhiben este proceso. Por otro lado, se ha reportado que las bajas temperaturas en combinación con atmósferas modificadas, producen una relación inversa entre la concentración de CO₂ y contenido de antocianinas (Odriozola, 2009). Debido a que en el presente trabajo no se modificó la atmósfera, entonces el contenido de antocianinas en el período de almacenamiento se puede atribuir sólo a la baja temperatura utilizada.

Cantillano *et al.* (2012) encontraron que frutos de fresa almacenados a 1°C durante 8 días son afectados por el tiempo de almacenamiento y por el sistema de producción modificando significativamente los niveles de antocianinas totales, los frutos cultivados con un sistema orgánico aumentaron hasta el 8º día de almacenamiento (30%), en tanto que en los cultivados en el sistema convencional disminuyeron en el 8º día de almacenamiento (4%). Por lo tanto, el genotipo y las condiciones ambientales son factores importantes ya que influyen en las características físicas y químicas de los frutos

de fresa. Existe una compleja interacción entre la temperatura y la duración del día que determinan los rendimientos y la calidad de los cultivares de fresa en una región determinada (Scott *et al.*, 1975).

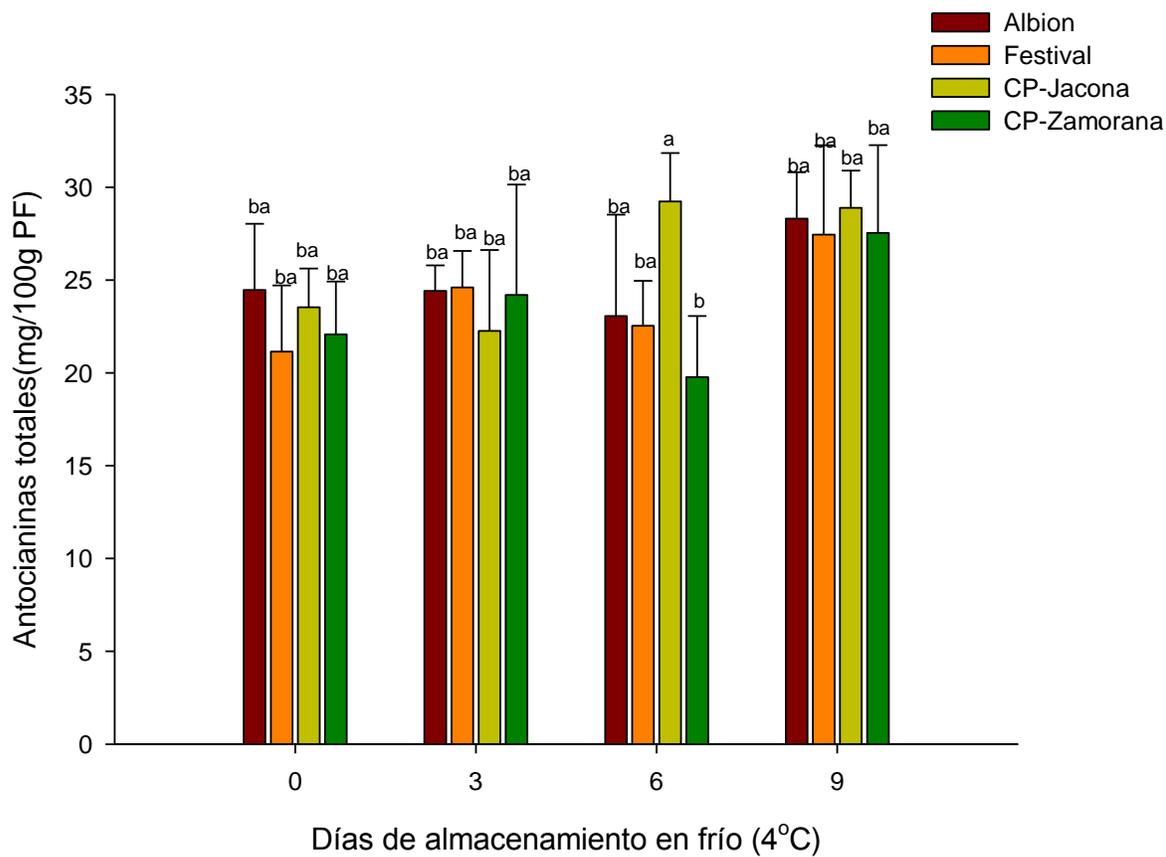


Figura 14. Contenido de antocianinas totales (mg/100g de PF) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP- Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival) a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C. Los datos son el promedio m3s la desviaci3n est3ndar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estad3sticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

La capacidad de los polifenoles para modular la actividad de diferentes enzimas, y para interferir consecuentemente en mecanismos de se3alizacion y en distintos procesos celulares, puede deberse, a las caracter3sticas fisicoqu3micas de estos compuestos, lo que les permiten participar en distintas reacciones metab3licas celulares de 3xido-

reducción, por lo que tienen propiedades antioxidantes que justifican muchos de sus efectos beneficiosos (Quiñones *et al.*, 2012). Por lo que su detección y relativa concentración en frutos de fresa en postcosecha, así como en condiciones de refrigeración por tiempos hasta de 9 días mantienen e incluso aumentan estos compuestos antioxidantes. Los niveles “altos” de antioxidantes encontrados en fresa los hacen ser frutos competitivos con respecto a otros frutos como zarzamora (74-2809mg GAE/100g PF), frambuesa (356-2066mg GAE/100g de PF) (Hannum *et al.*, 2004). Además de sus propiedades nutricionales y de su importancia comercial en producción nacional e internacional, su valor se incrementa por demostrar ser frutos que previenen y ayudan contra enfermedades cardiovasculares, disfunción cerebral y cáncer. Se destaca que las variedades mexicanas presentaron valores similares con las variedades extranjeras, por lo tanto pueden ser competitivas para el mercado de exportación.

6.5 Contenido de vitamina C en frutos de fresa en dos etapas de maduración y almacenamiento por refrigeración.

Con base a los datos obtenidos, se observó que el contenido de vitamina C aumenta a medida que la maduración del fruto avanza en promedio 30%, presentando diferencias estadísticas significativas entre variedades y estados de maduración (Figura 15). En estado inmaduro el contenido de vitamina C varió de 16 a 23mg/100g de PF y en estado maduro fue de 44-58mg/100g de PF, estos valores están dentro del rango reportado en la literatura (19-110mg/100g de PF), la variedad que mostró mayor contenido de vitamina

C fue CP-Jacona con 58.69mg/100g de PF. Cambios similares fueron observados por Kafilas *et al.* (2005) en frutos de fresa de diez cultivares durante la maduración. Pineli *et al.* (2011) también observaron que el contenido de esta vitamina aumento de 2 y 1,6 veces del estado verde a la de color rosa en los cultivares 'Osogrande ' y ' Camino Real, respectivamente. Sung *et al.* (2013) encontraron que el contenido de ácido ascórbico varió de 21.7- 62.9 mg/100g de PF, de una etapa a otra en los cultivares 'Maehyang', 'Seolhyang', 'Keumhyang', 'Akihime' y 'Red Pearl'.

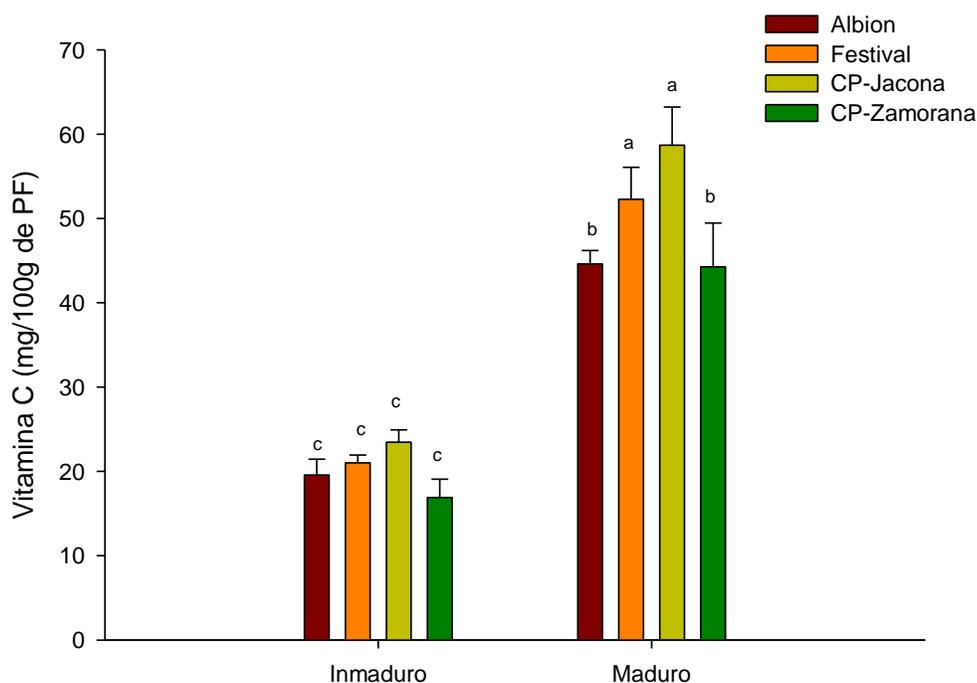


Figura 15. Contenido de vitamina C (mg/100g de PF) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP-Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albión y Festival) en dos estados de maduración. Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

Los resultados observados indican que el periodo de almacenamiento por refrigeración a 4°C provocó una ligera disminución de 7-26% en el contenido de ácido ascórbico, para las cuatro variedades evaluadas y después de nueve días de tratamiento por frío, la variedad CP-Jacona mostró concentraciones más altas durante los tres diferentes tiempos de refrigeración evaluados. No hubo diferencias estadísticas significativas en cada una de las variedades de fresa durante el almacenamiento (Figura 16). Los resultados de Cordenunsi *et al.* (2003) reportaron una disminución de 50% en el contenido de ácido ascórbico en frutos de fresa de los cultivares 'Dover', 'Campineiro', 'Mazi', 'Toyonoka' and 'Oso Grande almacenados a 6°C durante 6 días. Sin embargo, en estudios posteriores de Cordenunsi *et al.* (2005) indicaron que a esta temperatura los niveles iniciales de ácido ascórbico se mantienen sin disminuir, y cuando los frutos se almacenaron a 16° C, se detectó un aumento de al menos 10% al final del almacenamiento con el mismo tiempo. Shin *et al.* (2007) encontraron que las concentraciones de ácido ascórbico se mantienen similares durante los primeros 2 días de almacenamiento a 0.5, 10 y 20°C y no son afectadas por la humedad relativa. Después de los dos días las concentraciones de ácido ascórbico disminuyen en los frutos almacenados a 0.5 °C y 20°C, aunque las concentraciones se mantuvieron sin cambios a 10 °C. Con base a estos reportes se nota que las fluctuaciones observadas demuestran que la síntesis de ácido ascórbico es afectada o alterada por la temperatura de almacenamiento, además de otros factores como el cultivar, prácticas culturales, la intensidad de la luz y condiciones climáticas.

Existen reportes (Lee y Kader, 2000) que indican la influencia positiva de las bajas temperaturas en el mantenimiento de contenido de vitamina C de frutas y verduras, y no

se conoce en la literatura síntesis de ácido ascórbico durante el almacenamiento por frío. Sin embargo la pérdida de agua puede aumentar la pérdida de vitamina C debido al aumento de la oxidación (Nunes *et al.*, 1998).

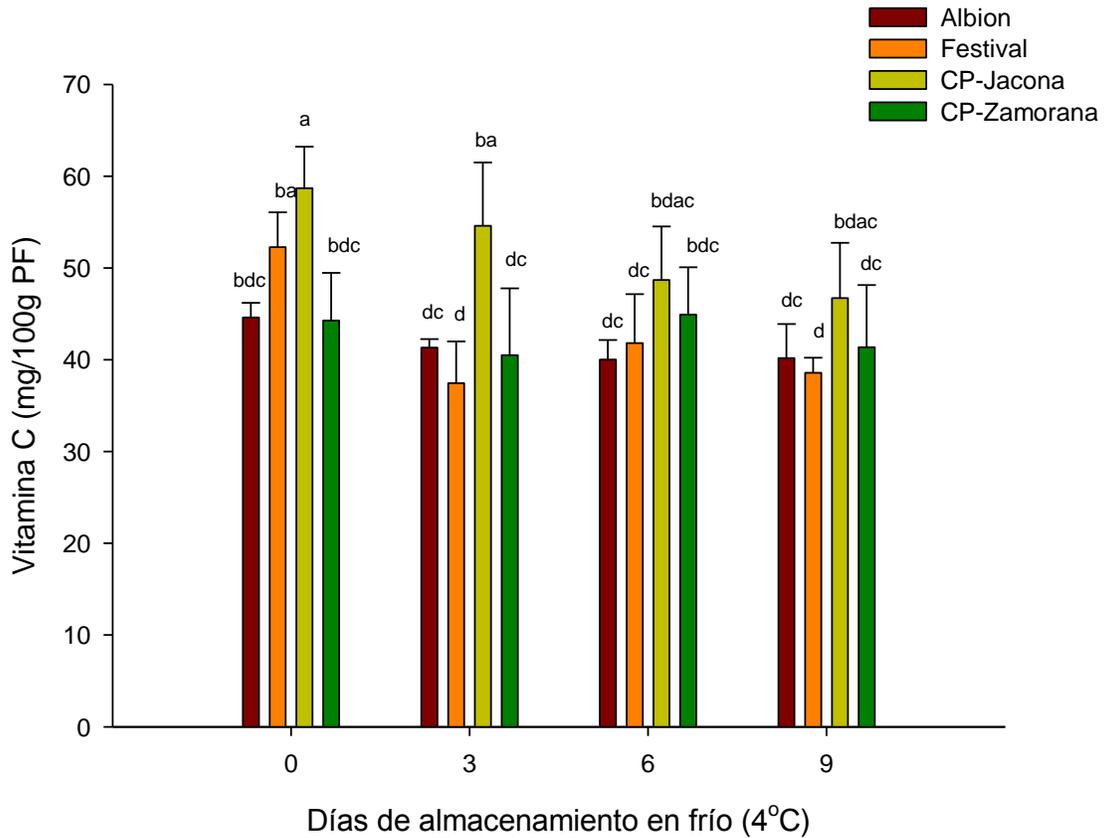


Figura 16. Contenido de vitamina C (mg/100g de PF) en dos variedades mexicanas (CP-Jacona y CP-Zamorana) y dos variedades extranjeras (Albi3n y Festival) a diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C. Los datos son el promedio m3s la desviaci3n est3andar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

6.6 Actividad antioxidante de frutos de fresa en dos etapas de maduración y en almacenamiento por refrigeración.

Los resultados de la Figura 17 evidencian actividad antioxidante en los dos estados de maduración de frutos de fresa evaluados, presentando los mayores porcentajes de DPPH reducido en el estado inmaduro, Festival fue la variedad que presentó mayor reducción (75%), seguida de CP-Jacona, CP-Zamorana y finalmente Albión, y se observaron diferencias estadísticas significativas. Mientras que la actividad antioxidante en estado maduro de los frutos (Figura 18) disminuyeron en un 10%, Festival fue la variedad que mostró un porcentaje de 63% de DPPH reducido, este porcentaje de actividad antioxidante fue muy similar a los porcentajes observados en las otras tres variedades evaluadas, no mostrando diferencias estadísticas significativas entre ellas. Estos resultados pueden indicar que la presencia y los niveles altos de antocianinas totales y las disminuciones en el contenido de vitamina C no son determinantes en la reducción porcentual de DPPH como podría esperarse. Por lo tanto, se puede deducir que no solo estos compuestos son importantes para la determinación de la actividad antioxidante, si no que existen otros compuestos como flavonoides, ácidos fenólicos y otras vitaminas que pueden influir y contribuir al efecto protector contra el daño oxidativo a las células (Huang *et al.*, 2012).

Respecto a los tres diferentes tiempos de almacenamiento a 4°C no se observaron cambios notables en dicha actividad (Figuras 19, 20 y 21), es decir, no hubo diferencias significativas entre los diferentes tiempos de almacenamiento y entre variedades bajo las mismas condiciones de temperatura, esto concuerda con los resultados reportados por

Pineli *et al.* (2012), quienes no observaron cambios significativos en la actividad antioxidante en frutos de fresa almacenados a 5°C por 8 días.

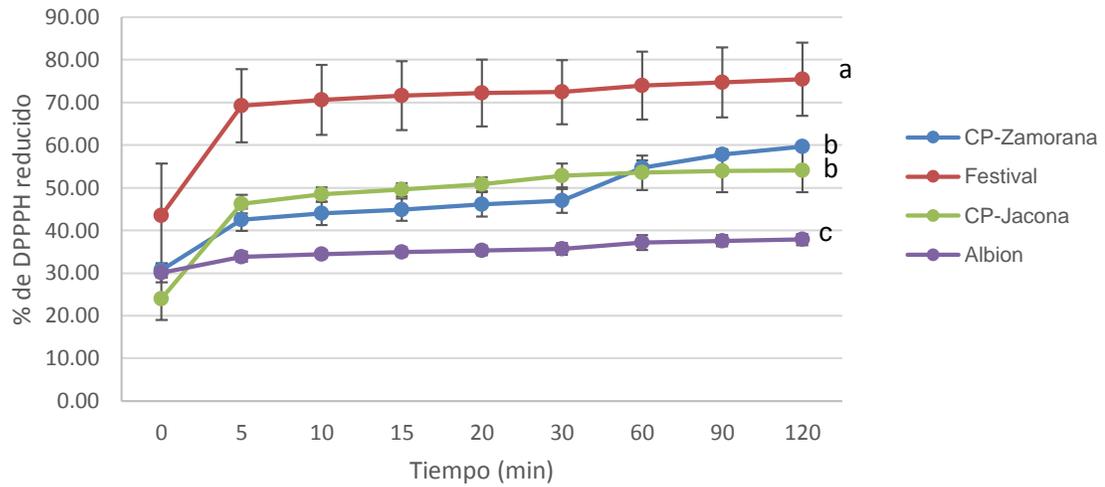


Figura 17. Actividad antioxidante de frutos inmaduros de cuatro variedades de fresa (5µg/ml). Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

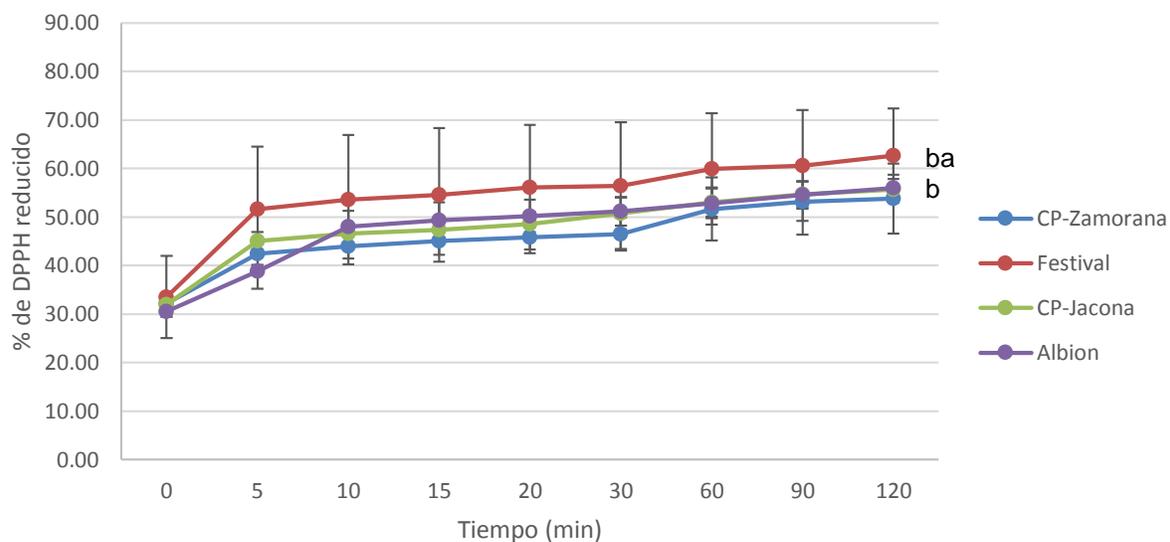


Figura 18. Actividades antioxidantes de frutos maduros de cuatro variedades de fresa (5µg/ml). Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

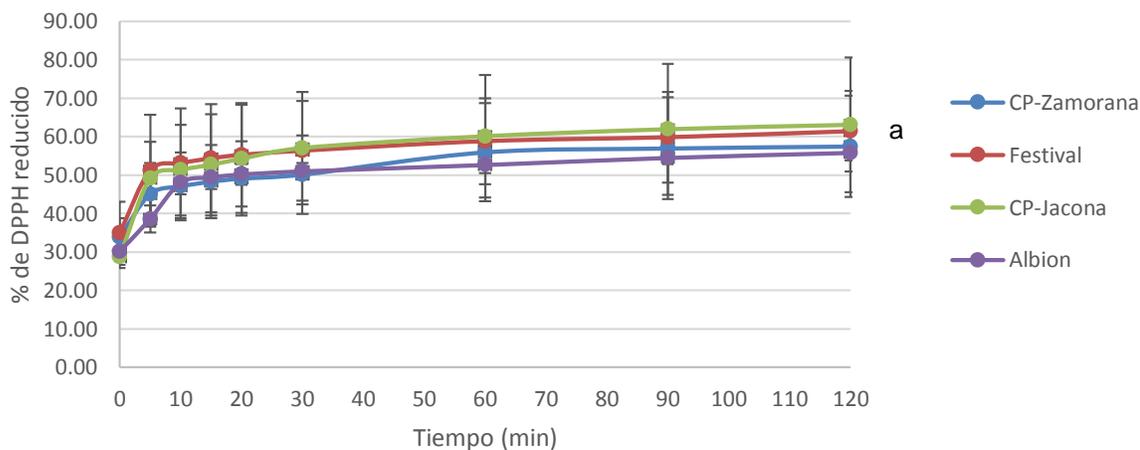


Figura 19. Actividades antioxidantes de frutos maduros de cuatro variedades de fresa, almacenados a 4°C por tres días (5µg/ml). Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey ≤ 0.05).

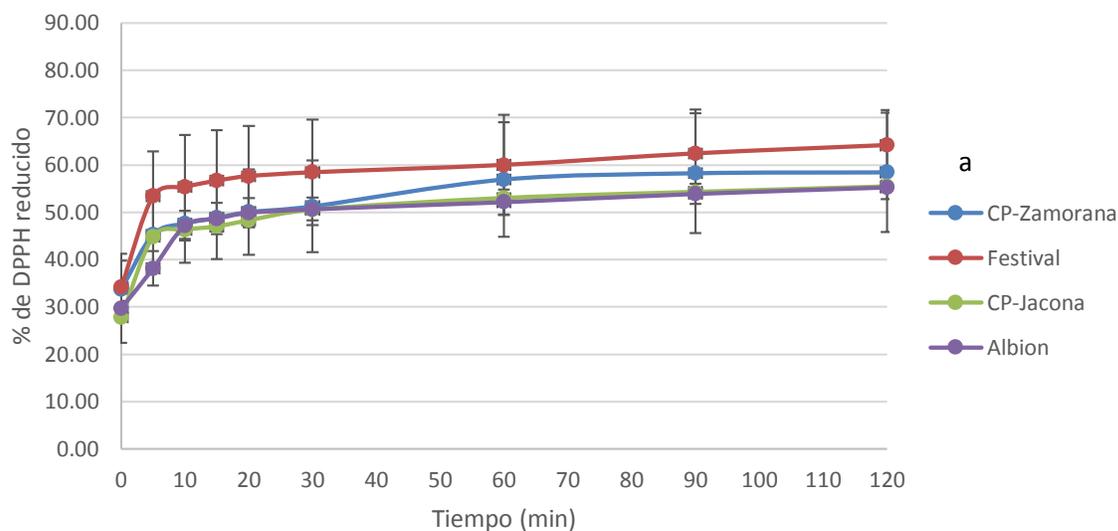


Figura 20. Actividades antioxidantes de frutos maduros de cuatro variedades de fresa, almacenados a 4°C por seis días (5µg/ml). Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey≤ 0.05).

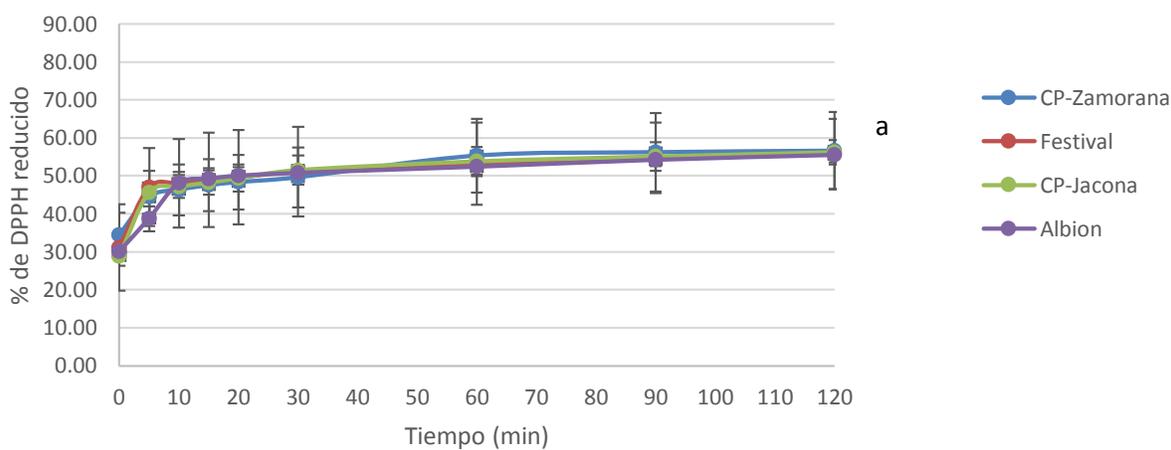


Figura 21. Actividades antioxidantes de frutos maduros de cuatro variedades de fresa, almacenadas a 4°C por nueve días (5µg/ml). Los datos son el promedio más la desviación estándar (barras verticales) (n=4). Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas (Tuckey≤ 0.05).

Durante el almacenamiento no se mostraron diferencias estadísticas significativas (Figura 11, 12, 13). Estos resultados coinciden con los reportados por Cordenunsi *et al.* (2005) quienes indicaron que los cultivares 'Dover', 'Campineiro' y 'Oso Grande' mostraron la misma actividad antioxidante debido a que mostraron la misma cantidad de fenoles totales. Sin embargo, durante el almacenamiento a 6 y 16°C la actividad disminuyó de 9 a 30% atribuyéndolo a un mayor contenido de ácido dehidroascórbico y una disminución del ácido ascórbico.

Ayala *et al.* (2004) realizó evaluaciones de la actividad antioxidante mediante el método de ORAC encontrando que las temperaturas de almacenamiento afectan significativamente el ORAC. Los valores de ORAC durante el almacenamiento a 0° C cambiaron muy poco. Sin embargo, cambios significativos de los valores de ORAC fueron encontrados en frutos almacenados a 5°C y 10°C.

Mishra y Kar (2014) realizaron un ensayo de CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) para la estimación de la capacidad antioxidante encontrando que tanto la variedad como el período de almacenamiento tuvieron un efecto significativo sobre la actividad antioxidante. La actividad antioxidante se incrementa en el periodo de almacenamiento, como fue observado un mayor efecto en la variedad 'Camarosa' que en la variedad 'Chandler'.

Las amplias variaciones encontradas en las determinaciones anteriores pueden deberse a la gran diversidad de métodos empleados para la evaluación de la actividad antioxidante, debido a que los resultados de un único ensayo pueden dar sólo una información limitada de las propiedades antioxidantes, por lo cual deben interpretarse

con cierto cuidado. Entre la abundancia de métodos que se pueden emplear para la evaluación de la actividad antioxidante, muy pocos son adecuados para determinar la actividad de ambos compuestos hidrofílicos y lipofílicos, por lo tanto, es importante asegurar una mejor comparación de los resultados, cubriendo una amplia gama de posibles aplicaciones (Goulas *et al.*, 2011).

A pesar de ello el ensayo de DPPH es uno de los métodos más conocidos, empleados con frecuencia y precisión para la evaluación de la actividad de captación de radicales libres. DPPH es un radical libre estable, el cual tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante.

7 CONCLUSIONES

En todos los parámetros evaluados se mostraron cambios significativos al realizar comparaciones entre frutos inmaduros y maduros de fresa. El contenido de azúcares totales, antocianinas totales y ácido ascórbico mostraron incrementos significativos hasta del 70%, 96% y 30%, respectivamente para las cuatro variedades evaluadas al comparar frutos maduros contra inmaduros. En cuanto al contenido de fenoles totales se mostró una reducción del 70%, lo cual indica en su conjunto que durante el proceso de maduración del fruto ocurren cambios significativos tanto físicos como químicos, en donde se incluye la producción de compuestos bioactivos, los cuales son atributos importantes y determinantes para la calidad del fruto fresa para su consumo en fresco.

La reducción de la temperatura de almacenamiento es una forma efectiva para extender la vida útil de la fresa, sin embargo, también puede afectar algunos procesos aumentando o disminuyendo valores nutricionales y sensoriales. En este trabajo se observó que la reducción de la temperatura mantiene las concentraciones de los compuestos químicos, por lo tanto se conserva la calidad nutricional del fruto.

El contenido de azúcares totales en el fruto disminuyó al incrementar el periodo de almacenamiento, independientemente de la variedad, sin embargo, al evaluar los azúcares de manera individual (glucosa, fructosa y sacarosa) no mostraron cambios significativos después de nueve días de almacenamiento. El contenido de fenoles no se vio afectado por el periodo de almacenamiento en las cuatro variedades evaluadas, en contraste, el contenido de antocianinas mostró un aumento significativo hasta del 27% en el noveno día de almacenamiento. En el caso de ácido ascórbico se observó una disminución del 30% al incrementar el periodo de almacenamiento.

Finalmente los datos mostraron que la variedad de fresa es otro factor importante que influye en los diferentes parámetros evaluados, lo cual permite determinar la calidad postcosecha y la extensión de la vida útil en los frutos de fresa, esto se refuerza debido a que los frutos de las diferentes variedades aquí estudiados fueron cultivados bajo las mismas condiciones. Con base a los datos obtenidos las variedades mexicanas CP-Jacona y CP-Zamorana son dos nuevas variedades altamente competitivas por presentar valores muy similares en los parámetros evaluados, frente a las variedades comerciales extranjeras, por lo que pueden ser candidatas para competir en el mercado nacional y de exportación.

LITERATURA CITADA

- Aaby, K., Skrede, G., & Wrolstad, R. E. (2005). Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10): 4032–4040.
- Aaby K., Sebastian M., Arnfinn N. Grete S. 2012. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*. 132: 86–97.
- Aválos G A y Elena Pérez- Urria C. 2009. *Serie Fisiología Vegetal* 2 (3): 119-145.
- Ayala-Zavala JF, Wang SY., Wang CY., González-Aguilar G.A.2004. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37: 687–695.
- Badui D. S. 2006. *Química de los Alimentos*. Editorial Pearson Educación, México.
- Benavides-Mendoza A., Ramírez H., Robledo-Torres V., Fuentes-Lara L.O. 2009. Antioxidantes en las plantas: algunos factores edáficos y ambientales que los modifican. En: A. Benavides-Mendoza (Compilador). *Temas Modernos de Nutrición Vegetal*, A.C., pp. 13-26. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Texcoco, México. ISBN 978-607-95106-2-6.
- Binsack R., Boersma BJ., Patel RP., Kirk M., White CR., Darley- Usmar V., Barnes S., Zhou F., Parks DA. 2001. Enhanced antioxidant activity after chlorination of quercetin by hypochlorous acid. *Alcoholism Clinical and Experimental Research Journal*. 25: 434-443

- Boland, FE. 1990. Fruit and fruit products. *In: Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Methods (AOAC).* Ed Helrich, K. 15th edition. VA, USA. 910-911.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews.*56: 317-333.
- Brazanti E. C. 1989. La fresa. Mundi prensa, España. 363p
- Brouillard R. 1982. Chemical structure of anthocyanins. *In: Markakis P. (Ed). Anthocyanins as food colors.* New York: Academic Press. 1- 40p.
- Caposcasa F., Scalzo J., Mezzetti B., and M. Battino. 2008. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. *Food Chemistry.* 111:872-878.
- Cantillano RFF, Ávila JMM, Peralba MCR, Pizzolato TM, Toralles RP. 2012. Actividad antioxidante, compuestos fenólicos y ácido ascórbico de frutillas en dos sistemas de producción. *Horticultura brasileira.* 30: 620-626.
- Cook NC. and Samman S. 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutricional Biochemistry.*7:66-76.
- Cordenunsi BR., Nascimento JRO., Lajolo FM. 2003. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chemistry.* 83:167–173.
- Cordenunsi BR., Nascimento MI., Hassimotto JRO., Santos NMA., and Lajolo FM. 2005. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant capacity of three strawberry cultivars. *Food Chemistry.* 91:113-121

- Cotelle N, Bernier JL, Catteau JP, Pommery J, Wallet JC, Gaydou EM. 1996. Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology & Medicine*. 20: 35-43.
- D'Evoli AL, Tarozzi A., Hrelia P., Lucarini M., Cocchiola M., Gabrielli P., Franco F., Marroni F., Cantelli-Forti G and Lombardi- Boccia G. 2009. Influence of Cultivation system on bioactive Molecules synthesis in strawberry: Spin-off on antioxidant and antiproliferative activity. *Journal of Food Science*. 75: 94-99.
- Dixon RA., Steele CL.1999. Flavonoids and isoflavonoids: a gold mine for metabolic engineering. *Trends in plant Science*. 4(10):394-400.
- Elejalde G. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna (Madrid)* Vol. 18. 326-335.
- Eriksson T., Hibbs M.S., Yoder A.D., Delwiche C.F., Donoghue M.J. 2003. The phylogeny of Rosoideae (Rosaceae) based on sequences of the internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA and the trnL/F region of chloroplast DNA. *International Journal of Plant Sciences*, 164: 197–211.
- Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. 1991. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents Actions*. 32:283-8.
- Ferreyra RM., Vina SZ., Mudridge A., and Chávez AR. 2007. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. *Scientia Horticulturae*. 112: 27-32.
- Finkel., T y Holbrook, N. J. 2000. Oxidants, oxidative stress, and the biology ageing. *Nature* 408: 239-247.

- Flórez R. y Mora R. 2010. Fresa (*Fragaria x ananassa Duch*). Producción y manejo postcosecha. Primera edición. Produmedios, producción de medios de comunicación. Bogotá. 114.
- Forney CF., Kalt W., and Jordan MA. 2000. The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. HortScience 35:1022-1026.
- Garzón GA. 2008. Revisión: Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. Acta Biológica Colombiana. Vol. 13 No. 3:27 – 36.
- Giampieri F., Sara T., Jose M. Alvarez-Suarez, Jose L. Quiles, Bruno Mezzetti, Maurizio Battino. 2012. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. Nutricion. 28: 9-19.
- Ghiselli A., Nardini M., Baldi A., Scaccini C. 1998. Antioxidant Activity of Different Phenolic Fractions Separated From an Italian Red Wine. Journal of Agricultural and Food Chem. 46 (2), 361-367.
- Gil MI., Holcroft DM. and Kader AA. 1997. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45:1662–1667
- Gordon MH. 1996. Dietary antioxidants in disease prevention. Natural products reports. 265-273.
- Goulas V., George A. M. 2011. The effect of postharvest ripening on strawberry bioactive composition and antioxidant potential. Journal of the Science of Food and Agriculture. 91:1907-1914
- Groot H. 1998. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. Fundamental & Clinical Pharmacology. 3:249-55.

- Gu L., Kelm, MA., Hammerstone JF., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., et al. 2003. Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC–MS/MS and thiolytic degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(25): 7513–7521.
- Gunness P., Kravchuk O., Nottingham SM., D’Arcy BR., & Gidley M.J. 2009. Sensory analysis of individual strawberry fruit and comparison with instrumental analysis. *Postharvest Biology and Technology*. 52:164–172.
- Hale KL., McGrath SP., Lombi E., Stack SM., Terry N., Pickering IJ. 2001. Molybdenum sequestration in Brassica species. A role for anthocyanins? *Plant Physiology*. 126: 1391–1402.
- Haffner K. and Vestrheim S. 1998. Fruit quality of strawberry cultivars. *Acta Horticulturae*. 439 (I): 325-332
- Hancock JF. 1999. *Strawberries*. CAB International Publishing. New York, NY, USA. 237.
- Hannum SM. 2004. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44 (1): 1–17.
- Hardenburg RE., Watada AE., Wang CY. 1986. The commercial storage of fruits, vegetables and commercial nursery stocks. U.S. Dept. Agric., Agric. Handbook. 66.
- Heinonen IM., Meyer AS., and Frankel EN. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:4107-4112.

- Holcroft, D.M., & Kader, A. A. 1999. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 17: 19–32.
- Hubbard N, Pharr DM., Huber SC. 1991. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolising enzymes in fruits of various species. *Plant Physiology*. 82:191-196.
- Huang W., Zhang H., Liu W., Li C. 2012. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry and strawberry in Nanjing. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed and Biotechnol)*. 13 (2): 94-102.
- Hutchings J H.1999. *Food Color and Appearance*. 2nd ed. Gaithersburg, Md. Aspen Publishers.
- Jang M., Cai L., Udeani GO. 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. 275:218-221.
- Jiménez Y. 2008. Integración de los Mercados Hortofrutícolas entre México y los Estados Unidos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California.
- Kähkönen MP, Hopia AI, Heinonen M. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49:4076–82.
- Kader AA. 2002. Postharvest biology and technology: an overview. In: KADER, A.A. (Ed.). *Postharvest technology of horticultural crops*. Davis: University of California. 39-47.
- Kalt, W., Forney C.F., Martin, A., and Prior, R.L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 4638–4644.

- Knee, and M., Sargent JA., and Osborne DJ. 1997. Cell wall metabolism in developing strawberry fruits. *Journal of Experimental Botany*. 28: 377-396.
- Kitinoja L. y Kader AA. 2003. Técnicas de Manejo Postcosecha a pequeña escala: Manual para los Productos Hortofrutícolas. 4a Ed. Univ. Calif. Series Horticultura No. 8. Universidad de California Davis. California, EUA.
- Kong JM., Lian- Sai C., Ngoh-Khang G., Tet-Fatt C., R. Brouillard. 2003. Review: Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 64: 923-933.
- Korkina LG, Afanas'ev IB. 1997. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Journal of Advanced Clinical Pharmacology*. 38: 151-163.
- Konczak I. and Zhang W. 2004. Anthocyanins-more than nature´s colours (2004). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.5:239–240.
- Kris-Etherton PM, Lefevre M, Beecher GR, Gross MD, Keen CL, Etherton TD. 2004. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: The Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of flavonoids on Atherosclerosis. *Annual Review of Nutrition* 24: 511 – 538.
- Lee, K. S., & Kader, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 207–220.
- Lindahl M, Tagesson C. 1997. Flavonoids as phospholipase A2 inhibitors: importance of their structure for selective inhibition of group II phospholipase A2. *Inflammation*; 21:347-56.
- López- Aranda. 2008. El cultivo de la fresa en Huelva. Ed. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca.

- Määttä-Riihinen KR, Kamal-Eldin A, Törrönen AR. 2004. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52:6178–87.
- Mabberley D.J. 2002. *Potentilla* and *Fragaria* (Rosaceae) reunited. *Telopea*, 9(4):793–80
- Manning K. 1993. Soft Fruit. In: Seymour, G. B., Taylor, J. E., Tucker, G. A. (Eds.), *Biochemistry of Fruit Ripening*. Chapman and Hall, London. 347-377.
- Manning, K. 1996. Soft fruits. In G. B. Seymour, J. E. Taylor, & G. A. Tucker (Eds.), *Biochemistry of fruit ripening*. London: Chapman & Hall. 347–373.
- Maroto JV. y López G. 1988. *Producción de fresas y fresones*. Ed. Mundi-prensa. España. 119p.
- Mass JL. 1998. *Compendium of strawberries*. 2nd. Ed. Amer. Phytopathol. Soc. St. Paul, Minnesota. USA. 98p.
- Määttä-Riihinen KR., Kamal-Eldin A. and Törrönen AR. 2004. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(20), 6178–6187.
- Mazza G. 2007. Anthocyanins and heart health. *Ann Ist Super Sanità*. Vol. 43, No. 4: 369-374
- Mazza G, Miniati E. 1993. *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. Boca Raton: CRC Press Inc.
- Mazza G, Cacace JE, Kay CD. 2004. Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids. *J AOAC Internat*. 87:129-45.

- Medina-Escobar N., Cárdenas J., Moyano E., Caballero JL., Muñoz- Blanco J. 1997. Cloning, molecular characterization and expression pattern of a strawberry ripening-specific cDNA with sequence homology to pectate lyase from higher plants. *Plant Molecular Biology*. 34, 867–877.
- Meiers S., Kemeny M., Weyand U., Gastpar R., Von Angerer E., Marko D. 2001. The anthocyanidins cyanidin and delphinidin are potent inhibitors of the epidermal growth-factor receptor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 (2), 958–962.
- Mishra R and Kar A. 2014. Effect of storage on the physicochemical and flavour attributes of two cultivars of strawberry cultivated in Northern India. *The Scientific World Journal*.1-7.
- Montreuil J, Vliegenthart J. *Glycoproteins*. Ed. Elsevier Science. 572 p.
- Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. 2007. *Tablas de Composición de Alimentos*. 11ª edición. Madrid, Ediciones Pirámide. Madrid,:1-227.
- Navarro C. Muñoz- Garmendia. 2005. *Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Vol.6. Real Jardín Botánico. Consejo superior de Investigaciones Científicas, CISC. Madrid, Spain. 88-93.
- Nunes MCN., Brecht JK., Morais AM. and Sargent SA. 1995. Physical and chemical-quality characteristics of strawberry after storage are reduced by a short delay to cooling. *Postharvest Biology and Technology*.6: 17–28.
- Odriozola S., Soliva FR., and Belloso M. 2009. Influence of Storage Temperature on the Kinetics of the Changes in Anthocyanins, Vitamin C, and Antioxidant

Capacity in Fresh-Cut Strawberries Stored under High-Oxygen Atmospheres. Journal of Food Science. Vol. 74 (2): C184- C191.

- Ohgami K., Ilieva I., Shiratori K., Koyama Y., Jin XH. y Yoshida K. 2005. Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 46: 275-281.
- Olsson ME, Gustavsson KE, Andersson S, Nilsson A, Duan RD. 2004 Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. Journal Agricultural and Food Chemistry. Dec 1; 52 (24): 7264–7271.
- Ornelas-Paz J, Elhadi M., Nidia R., Jaime P M., María del Pilar E M., Vrani Ibarra- J., Carlos A M., Víctor G., Emilio O R. 2013. Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa Duch*, Cv. Albion) at six stages of ripening. Food Chemistry (138): 372–381
- Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G y Goldberg DM. 1995. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. Clinica Chimica Acta. 235:207-219.
- Pelayo C., Ebeler SE. and Kader AA. 2003. Postharvest life and flavor quality of three strawberry cultivars kept at 5 °C in air or air + 20 kPa CO₂. Postharvest Biology and Technology. 27: 171–183.
- Pérez AG., Olías R., Espada J., Olías JM., and Sanz C. 1997. Rapid determination of sugars, nonvolatile acids, and ascorbic acid in strawberry and other fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45:3545-3549.

- Pérez AG., Olías R., Olías JM. and Sanz C. 1998. Strawberry quality as a function of the high pressure fast cooling design. *Food Chemistry*. 62: 161-168.
- Perez-Vizcaino F., Duarte J., Jimenez R., Santos-Buelga C., Osuna A. 2009. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacological Reports*. 61: 67-75.
- Pineli L, Moretti C. L and M D. Chiarello. 2012. Quality, bioactive compounds and antioxidant activity of strawberries grown in the Brazilian savannah and stored at different temperatures. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.10 (2): 165-171.
- Quiñones M., Miguel M. y Aleixandre A. 2012. Polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 27(1):76-89.
- Ramos S. 2007. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *Journal Nutricion Biochemistry* 18:427-42.
- Rice-Evans CA, Miller NJ. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Society Transaction*. 24: 790-795.
- Rivas GJC y Alonso MG. 2002. Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y actividad antioxidante. *Alimentacion. Nutricion y. Salud*. Vol. 9, No. 2. 31-38.
- Robards K., Paul DP., Greg T., Prasan S., William G. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*. 66: 401-436
- Roche E, Romero-Alvira D. 1997. Introducción a la bioquímica y citotoxicidad del desequilibrio oxidativo. Ed. ENE. 91-104

- Russell W., Labat A., Scobbie L., Duncan G., Duthie G. 2009. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. *Food Chemistry*. Jul 1; 115 (1): 100–104.
- Salinas M.; Soto H.; Martínez B.; González A.; Ortega P. R. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de 4 zonas. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 22:161-174.
- Sánchez RG. 2008. La red del valor fresa: Sistema de inteligencia de mercados. Fundación produce Michoacán.
- Silva LF., Escribano-Bailon MT., Perez JJ., Rivas-Gonzalo JC. and Santos-Buelga C. 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT – Food Science and Technology*. 40: 374–832.
- Sistrunk WA. and Morris JR. 1985. Strawberry quality: influence of cultural and environmental factors. In: H. E. Patlee (Ed.). *Evaluation of Quality of Fruit and Vegetables*. AVI, Westport, Conn. 217-256.
- Scholes J., Bundock N., Wilde R., Rolfe S. 2000. The impact of reduced vacuolar invertase activity on the photosynthetic and carbohydrate metabolism of tomato. *Planta*. 265-272.
- Schroeter H., Heiss C., Balzer J., Kleinbongard P., Keen CL., Hollenberg NK., Sies H., Kwik-Urbe C., Schmitz HH., Kelm M. 2006. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 103: 1024-1029.
- Scott DH. and Lawrence FJ. 1975. Strawberries. In Janick, J. and Moore, N. M. (eds). *Advances in Fruit Breeding*. Purdue University Press, Indiana, pp. 71-92.

- Spayd SE and Morris JR, Changes in strawberry quality during maturation. 1981. Ark Farm Res 30:6–6.
- Shin, Y.; Liu, R.; Jacqueline F. N., Darryl H., Christopher B. W. 2007. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. Postharvest Biology and Technology 45: 349–357.
- Soler-Rivas, C.; Espin, J. C.; Wichers, H. J. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. Phytochemical Analysis. 11: 330-338.
- Stadtman E. and Levine R. 2003. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. Amino Acids. 25: 207-218.
- Staudt G. 2008. Strawberry biogeography, genetics and systematics. Acta Horticulturae.842(1):71:83.
- Stapleton, S. C., C. K. Chandler, D. E. Legard, J. E. Price, and J. C. Sumler. 2001. Transplant source affects fruiting performance and pests of "Sweet Charlie" strawberry in Florida. Horticultural Technology. 11:61-65
- Stintzing FC., Stintzing AS., Carle R., Frei B., Wrolstad RE.2002. Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-based Anthocyanin Pigments. Journal Agricultural and Food Chem. 50: 6172-81.
- Strack D. and Wray V. 1994. The Anthocyanins. In: Harbone JB, editor. The Flavonoides. Advances in Research Since 1986. Boca Raton FL: CRC Press.
- Strand LL. 1994. Integrated pest management for strawberries. University of California. Publication 3351. Oakland, CA. USA. 142p.

- Sturm K., Koron D. and Stampar F. 2003. The composition of fruit of different strawberry varieties depending on maturity stage. *Food Chemistry*. 83:417-422.
- Sudheesh S., Sandhya C., Sarah KA., Vijayalakshmi NR. 1999. Antioxidant activity of flavonoids from *Solanum melongena*. *Phytother Res*.13:393-6.
- Teel R., Dixit R., Stoner GD.1985. The effect of ellagic acid on the uptake, persistence, metabolism and DNA-binding of benzo[α] pyrene in cultured explants of strain A/J mouse lung. *Carcinogenesis*. 6 (3): 391–395.
- Terada M., Watanabe Y., Kunitomo M., Hayashi E. 1978. Differential rapid analysis of ascorbic-acid and ascorbic-acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. *Analytical Biochemistry*. 84, 604–608.
- Tristan F., Kraft B., Schmidt BM., Yousef GG., Knigh CTG. and Cuendet M. 2005. Chemopreventive potential of wild lowbush blueberry fruits in multiple stages of carcinogenesis. *Journal of Food Science*. 70(3):159-166.
- Tsao R. and Yang R. 2003. Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a total phenolic index using performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*.1018: 29-40.
- Turnbull J J., Nakajima J., Welford RWD., Yamazaki M., Saito K., Schofield C. J. 2004. Mechanistic studies on three 2-oxoglutarate dependent oxygenases of flavonoid biosynthesis. *The Journal of Biological Chemistry*. 279(2): 1206-1216.
- Valko M. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39(1): 44-84.

- Van Acquire SA., Van den Berg DJ., Tromp MN., Griffioen DH., Van Bennekom WP., Van der Vijgh WJ. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Journal Free Radical Biology and Medicine*. 20:331-42
- Van der Sluis AA., Dekker M, de Jager A, Jongen WM. 2001. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 49: 3606-3613.
- Vega del Rio R. 2002. Historia de la introducción del cultivo e fresa del valle de Zamora Michoacán. 1938-2000. Fundación Produce Michoacán, A. C.
- Vinson JA., Dabbagh YA., Serry MM. and Jang j. 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using and *in vitro* oxidation model for heart disease. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 43:2800-2802.
- Wagner GJ. 1982. Cellular and Subcellular Location in Plant Metabolism. In: CREASY L, HRAZDINA G. editors. *Recent advances in Phytochemistry*. New York: Plenum Press. 1-45 p.
- Wang, S. Y., & Camp, M. J. 2000. Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. *Scientia Horticulturae*, 85. 183–199.
- Wills RBH., Mcglasson WB., Graham D., and Joyce D. 2004. *Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals*. (4ed). Wallingford: CABI. 262 p.
- Zabetakis I., Leclerc D. and Kajda P. 2001. The effect of high hydrostatic pressure on the strawberry anthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48:2749-2754.