



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FRUTICULTURA

MANEJO INTEGRADO DE TÉCNICAS POSCOSECHA Y EMERGENTES PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS CON VALOR AGREGADO DE AGUACATE 'HASS' Y 'CARMEN HASS'

NALLELY ROSAS FLORES

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE :

DOCTORA EN CIENCIAS

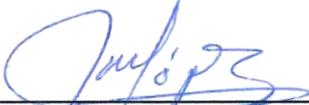
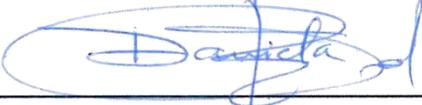
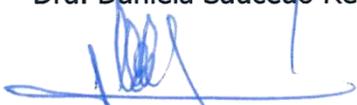
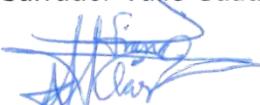
MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2019

La presente tesis titulada: Manejo integrado de técnicas poscosecha y emergentes para la obtención de productos con valor agregado de aguacate 'Hass' y 'Carmen Hass' realizada por la alumna: Nallely Rosas Flores bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR

| | |
|---------------|---|
| CONSEJERO (A) |  _____ |
| | Dr. Crescenciano Saucedo Veloz |
| ASESOR (A) |  _____ |
| | Dr. Alfredo López Jiménez |
| ASESOR (A) |  _____ |
| | Dra. Martha Elva Ramírez Guzmán |
| ASESOR (A) |  _____ |
| | Dra. Daniela Saucedo Reyes |
| ASESOR (A) |  _____ |
| | Dr. Salvador Valle Guadarrama |
| ASESOR (A) |  _____ |
| | Dr. Sergio Humberto Chávez Franco |

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre de 2019

MANEJO INTEGRADO DE TÉCNICAS POSCOSECHA Y EMERGENTES PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS CON VALOR AGREGADO DE AGUACATE ‘HASS’ Y ‘CARMEN HASS’

Nallely Rosas Flores, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2019

RESUMEN

El cultivo de aguacate ha tomado importancia a través del tiempo, ya que se han venido resaltando las características del valor organoléptico, nutricional y nutracéutico de la pulpa, esto último debido a la presencia de diversos compuestos bioactivos, lo que ha dado pauta a la generación de otras tecnologías de procesamiento como la liofilización. Por tal motivo, el objetivo de la investigación fue determinar una cadena de proceso bajo un sistema integral para la obtención de rebanadas de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’ tratadas por liofilización, a fin de obtener un producto con aceptable calidad organoléptica, vida de anaquel prolongada y contenido de compuestos bioactivos con valor nutracéutico similar al producto *in natura*. En una primera etapa, se cosecharon aguacates ‘Hass’ y ‘Carmen Hass’, este último también denominado ‘Méndez’¹, con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de dos concentraciones (500 y 1000 mg L⁻¹) de ácido 2-cloroetil fosfónico en el adelanto y homogeneización de la maduración de los cultivares de estudio. Los tratamientos con el liberador de etileno favorecieron el proceso de maduración al adelantar el climaterio respiratorio y producción autocatalítica de etileno; esta respuesta se manifiesta principalmente al aplicar una solución con 1000 mg L⁻¹ en ‘Hass’ y 500 mg L⁻¹ en ‘Méndez’. Para determinar cambios en la calidad de pulpa de aguacate en estado de madurez de consumo, luego de un secado por liofilización, en una segunda etapa, se cosecharon aguacates ‘Hass’ y ‘Méndez’, los cuales se sumergieron en una solución de ácido 2-cloroetil fosfónico (500 mg L⁻¹) con el fin de homogeneizar la maduración, una vez alcanzada la madurez de consumo se obtuvieron rebanadas, las cuales se sumergieron en una solución con antioxidantes (500 mg L⁻¹

¹ A partir de ahora toda referencia al cultivar ‘Carmen Hass’ se hará como ‘Méndez’.

ácido ascórbico, 500 mg L⁻¹ ácido cítrico y 500 mg L⁻¹ ácido ascórbico + 500 mg L⁻¹ ácido cítrico), luego se congelaron y posteriormente se liofilizaron. La pulpa liofilizada mantuvo un color similar a la pulpa fresca, menor índice de oscurecimiento, mayor contenido de aceite, carotenoides y fenoles totales; en lo que respecta a la microestructura, se observaron idioblastos, las células del parénquima que contiene depósitos de aceite, así como cambios en la estructura de la pared celular. En una tercera etapa, se evaluó el efecto del tiempo de refrigeración a 2±1°C en los cambios asociados a la maduración y calidad de frutos de aguacate de dos cultivares (Colín V-33 y Hass) y un genotipo (Oaxaca-7). Luego de la cosecha, un conjunto se almacenó a temperatura de maduración, 20±1°C y otro se refrigeró durante 21 días a 2±1°C, transcurrido este tiempo, se almacenaron a 20°C para su maduración. Durante el almacenamiento en frío, no se afectó la calidad del fruto de los cultivares y genotipo de estudio; sin embargo, una vez que se trasladaron a temperatura de maduración (20 °C) su vida de anaquel se acortó a dos días, deteriorándose rápidamente la calidad, ya que el contenido de fenoles, clorofilas y carotenoides disminuyó significativamente afectando la actividad antioxidante del producto y el color impartido por clorofilas y luteína, principalmente.

Palabras clave: etileno, ácido 2-cloroetil fosfónico, liofilización, carotenoides.

**INTEGRATED MANAGEMENT OF POST-HARVEST AND EMERGING
TECHNIQUES FOR OBTAINING PRODUCTS WITH ADDED VALUE OF AVOCADO
'HASS' AND 'CARMEN HASS'**

Nallely Rosas Flores, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2019

ABSTRACT

The avocado cultivation has taken importance over time, since the characteristics organoleptic, nutritional and nutraceutical value of the pulp have been highlighted, the latter due to the presence of various bioactive compounds, which has given rise to the generation of other processing technologies such as lyophilization. For this reason, the objective of the investigation was to determine a process chain under an integral system for obtaining 'Hass' and 'Méndez' avocado slices treated by lyophilization, in order to obtain a product with acceptable organoleptic quality, life of prolonged shelf and content of bioactive compounds with nutraceutical value similar to the product *in nature*. In a first stage, 'Hass' and 'Carmen Hass' avocados were harvested, the latter also called 'Méndez', with the objective of evaluating the effect of the application of two concentrations (500 and 1000 mg L⁻¹) of 2-chloroethyl phosphonic acid in the advancement and homogenization of the maturation of the study cultivars. The treatments with the ethylene liberator favored the maturation process by advancing the respiratory climacteric and autocatalytic production of ethylene; this response is mainly manifested by applying a solution with 1000 mg L⁻¹ in 'Hass' and 500 mg L⁻¹ in 'Méndez'. To determine changes in the quality of avocado pulp in a state of consumption maturity, after drying by lyophilization, in a second stage, 'Hass' and 'Méndez' avocados were harvested, which were immersed in a solution of 2-chloroethyl phosphonic acid (500 mg L⁻¹) to homogenize ripening. Once the consumption maturity was reached, slices were obtained, which were immersed in a solution with antioxidants (500 mg L⁻¹ ascorbic acid, 500 mg L⁻¹ citric acid and 500 mg L⁻¹ ascorbic acid + 500 mg L⁻¹ citric acid), then frozen and subsequently lyophilized. The lyophilized pulp maintained a color similar to fresh pulp, lower darkening index, higher oil content, carotenoids and total phenols; regarding the microstructure, idioblasts, parenchyma cells containing oil deposits were observed as well as changes in cell wall structure. In a third stage, the effect of cooling time at 2 ± 1°C on the changes

associated with ripening and quality of avocado fruits from two cultivars (Colín V-33 and Hass) and a genotype (Oaxaca-7) were evaluated. After harvest, one set was stored at maturation temperature, 20 ± 1 °C and another was refrigerated for 21 days at 2 ± 1 °C, after this time, they were stored at 20 °C for maturation. During cold storage, the fruit quality of the study cultivars and a genotype were not affected; however, once they were moved to maturation temperature (20 °C), their shelf life was shortened to two days. The quality deteriorated rapidly since the content of phenols, chlorophylls and carotenoids decreased significantly affecting the antioxidant activity of the product and the color, imparted by chlorophylls and lutein, mainly.

Keywords: ethylene, 2-chloroethyl phosphonic acid, lyophilization, carotenoids.

DEDICATORIA

A mi madre María Eva Flores, por estar presente en todo momento, por su apoyo y amor incondicional.

A mi padre Crispín Rosas, por su amor y apoyo infinito, y por todos esos chistes agradables que nos hacen sonreír.

A mi hijo Santiago, porque eres el motor que mueve mi vida y quien me motiva día a día, siempre estás presente en mi mente y corazón.

A Marco Antonio Cervantes, quien ocupa un lugar especial en mi corazón, quien me apoya en todo momento y circunstancia.

A mis hermanas Yessell, Graciela y Eva María, a quienes adoro y agradezco su amor y apoyo.

A Luna y Daniel, mis sobrinos siempre presentes en mi corazón.

A mis abuelos Lucio, Angelina, Chabelita y a mi mamá Mary quienes siempre me motivaron y confiaron en mí.

A mis amigos, con los cuales he compartido excelentes momentos, no los olvido jamás.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento de mis estudios de postgrado.

Al Colegio de Postgraduados por permitirme continuar con mis estudios y poder adquirir un mayor conocimiento en mi área.

Agradezco al M.C. Juan Manuel Palacios por la aportación de la materia prima para la realización de esta investigación; reconozco la excelente atención brindada durante nuestra estancia en Michoacán.

A la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S.C. por brindarme material vegetal para la realización de la presente investigación.

Agradezco al Dr. Crescenciano Saucedo Veloz por la motivación y enseñanzas durante mi estancia en el postgrado.

Agradezco a mi consejo particular por sus comentarios y críticas constructivas durante mi estancia en el Colegio: Dra. Daniela Saucedo Reyes, Dr. Alfredo López Jiménez, Dra. Martha Elva Ramírez Guzmán, Dr. Salvador Valle Guadarrama y Dr. Sergio Humberto Chávez Franco.

Al Dr. Gregorio Arellano Ostoia por su disposición como sinodal en mi examen de candidatura y de grado.

Al M.C. David Jaen Contreras por su apoyo y buena vibra durante mi estancia en el Colegio.

A la M.C. Cecilia García Osorio por su disposición y enseñanzas durante mis estudios.

A mis compañeros Gaby, Bernardo, Mavet, Donaji y a los laboratoristas, la señora Isi, Erick y Gonzalo, a quienes estimo y agradezco la ayuda brindada durante la realización de esta investigación.

A Almadalia con quien compartí momentos muy agradables durante mi estancia en el COLPOS y la estancia doctoral; también agradezco el apoyo brindado para la realización de esta investigación.

Agradezco al equipo de Fisiología, Patología y Biotecnología Postcosecha del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, España (Lorenzo, María Jesús, Marcelo, Flor, Jaime, MariCarmen e Inma) por sus enseñanzas y excelentes momentos vividos durante mi estancia.

CONTENIDO

| | |
|--|-----|
| RESUMEN | iii |
| ABSTRACT..... | v |
| LISTA DE FIGURAS..... | xi |
| LISTA DE CUADROS..... | xv |
| INTRODUCCIÓN GENERAL | 1 |
| OBJETIVOS..... | 3 |
| Objetivo General. | 3 |
| Objetivos específicos..... | 3 |
| REVISIÓN DE LITERATURA | 4 |
| Generalidades del cultivo de aguacate..... | 4 |
| Importancia económica del cultivo de aguacate. | 5 |
| Cambios bioquímicos y fisiológicos durante el proceso de maduración..... | 7 |
| Etileno en la maduración. | 8 |
| Respuesta a etileno exógeno..... | 8 |
| Sensibilidad a daños por frío. | 9 |
| Composición del aguacate y beneficios por su consumo. | 11 |
| Ácidos grasos presentes en la pulpa de aguacate. | 11 |
| Carotenoides en la pulpa de aguacate..... | 13 |
| Liofilización, tecnología emergente para la conservación de alimentos. | 16 |
| Etapas del proceso de liofilización. | 17 |
| Reacciones de deterioro..... | 17 |
| Actividad enzimática..... | 17 |
| Antioxidantes. | 18 |
| LITERATURA CITADA | 19 |
| CAPITULO I. MADURACIÓN DE FRUTOS DE AGUACATE CULTIVARES ‘HASS’ Y ‘MÉNDEZ’ TRATADOS CON ETHEPHON | 24 |
| 1.1 RESUMEN | 24 |
| 1.2 ABSTRACT | 25 |
| 1.3 INTRODUCCIÓN..... | 26 |
| 1.4 MATERIALES Y MÉTODOS..... | 28 |

| | |
|--|----|
| 1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 31 |
| 1.6 CONCLUSIONES | 38 |
| 1.7 LITERATURA CITADA | 39 |
| CAPITULO II. CAMBIOS EN LA CALIDAD DE PULPA DE AGUACATE ‘HASS’ Y | |
| ‘MÉNDEZ’ POR EFECTO DEL SECADO POR LIOFILIZACIÓN..... | |
| 2.1 RESUMEN | 41 |
| 2.2 ABSTRACT | 42 |
| 2.3 INTRODUCCIÓN..... | 43 |
| 2.4 MATERIALES Y MÉTODOS..... | 45 |
| 2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 49 |
| 2.6 CONCLUSIONES | 59 |
| 2.7 LITERATURA CITADA | 60 |
| CAPITULO III. MADURACIÓN, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y METABOLISMO | |
| DE FENOLES Y CAROTENOIDES EN EL FRUTO DE DOS CULTIVARES Y UN | |
| GENOTIPO DE AGUACATE EXPUESTOS A UNA TEMPERATURA CRÍTICA DE | |
| REFRIGERACIÓN..... | |
| 3.1 RESUMEN | 62 |
| 3.2 ABSTRACT | 63 |
| 3.3 INTRODUCCIÓN..... | 64 |
| 3.4 MATERIALES Y MÉTODOS..... | 66 |
| 3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 71 |
| 3.6 CONCLUSIONES | 83 |
| 3.7 LITERATURA CITADA | 84 |
| CONCLUSIONES GENERALES..... | 87 |
| ANEXOS | 88 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| <i>Figura 1.</i> Producción de aguacate a través del tiempo en México (1980-2018). Elaboración propia. FAOSTAT 2019. | 6 |
| <i>Figura 2.</i> Producción (%) de aguacate en México por estado para el año 2018. Elaboración propia. SIAP, 2019. | 6 |
| <i>Figura 3.</i> Exportaciones de aguacate a través del tiempo, en México. Elaboración propia. SIAP, 2019. | 7 |
| <i>Figura 4.</i> Principales síntomas externos de daños por frío en frutos de aguacate. (A) Picaduras en la cáscara (skin pitting); (B) escaldado y (C) ennegrecimiento. Elaboración propia. | 10 |
| <i>Figura 5.</i> Principales síntomas internos de daños por frío en frutos de aguacate. (A) Decoloración marrón grisácea de la pulpa, particularmente alrededor de la semilla; (B) tejido fibroso; (C) lixiviación vascular; (D) pulpa exterior ennegrecida. Woolf et al., 2005; Yahia y Woolf, 2011. | 10 |
| <i>Figura 6.</i> Representación de la ruta de carotenoides en frutos. Cada fruto es posicionado en la ruta en el carotenoide predominante responsable de su coloración. 1. Limón; 2. Naranja mutante Pinalate; 3. Tomate tangerina; 4. Uva; 5. Pimiento; 6. Kiwi; 7. Cáscara de mandarina inmadura; 8. Aguacate; 9. Tomate; 10. Sandía; 11. Uva roja; 12. Papaya roja; 13. Gac; 14a. Melón pulpa blanca; 14b. Meón de pulpa naranja; 15. Chabacano. 16. Calabaza; 17. Papaya amarilla; 18. Níspero; 19. Pulpa de mandarina; 20a. Durazno pulpa blanca; 20b. Durazno pulpa amarilla; 21a. Pimiento naranja; 21b. Pimiento rojo; 22. Piel de mandarina madura; 23. Mango; 24. Naranja dulce. Lado et al., 2016. | 14 |
| <i>Figura 7.</i> Estructura de los carotenoides presentes en la pulpa de aguacate. Lu et al. (2009) y Rodríguez-Amaya (2016). | 16 |
| <i>Figura 8.</i> Etapas del secado por liofilización. Barbosa-Cánovas et al., 2000. | 17 |

| | |
|---|----|
| <i>Figura 1.1.</i> Intensidad respiratoria y producción de etileno en frutos de aguacate ‘Hass’ (A, C) y ‘Méndez’ (B, D) tratados con 0 (●), 500 (◇) y 1000 (△) mg L ⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 4..... | 32 |
| <i>Figura 1.2.</i> Comportamiento de firmeza y pérdida de peso en frutos de aguacate ‘Hass’ (A, C) y ‘Méndez’ (B, D) tratados con 0 (□), 500 (▨) y 1000 (▩) mg L ⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 5..... | 34 |
| <i>Figura 1.3.</i> Cambio de color en frutos de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) tratados con 0 (□), 500 (▨) y 1000 (▩) mg L ⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 5..... | 35 |
| <i>Figura 1.4.</i> Índice de saturación en frutos de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) tratados con 0 (□), 500 (▨) y 1000 (▩) mg L ⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 5..... | 36 |
| <i>Figura 1.5.</i> Concentración de fenoles en frutos de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) tratados con 0 (□), 500 (▨) y 1000 (▩) mg L ⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 5. | 37 |
| | |
| <i>Figura 2.1.</i> Curva de secado por liofilización de rebanadas de pulpa de aguacate ‘Hass’ (●) y ‘Méndez’ (■). Medias ± DE, n = 5..... | 50 |
| <i>Figura 2.2.</i> Contenido de aceite en rebanadas de aguacate cultivares ‘Hass’ y ‘Méndez’ sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de α=0.05. | 50 |
| <i>Figura 2.3.</i> Componentes del color, luminosidad, índice de saturación y ángulo de tono en rebanadas de aguacate cultivares ‘Hass’ (A; C, E) y ‘Méndez’ (B, D, F) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante (control), 500 mg L ⁻¹ de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L ⁻¹ de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L ⁻¹ de ácido ascórbico + 500 mg L ⁻¹ de ácido cítrico (T3). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de α=0.05. | 52 |
| <i>Figura 2.4.</i> Índice de oscurecimiento (BI) en rebanadas de aguacate cultivares ‘Hass’ (A; C, E) y ‘Méndez’ (B, D, F) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante | |

(control), 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico + 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T3). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ 53

Figura 2.5. Concentración de carotenoides totales en rebanadas de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méendez’ (B) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante (control), 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico + 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T3). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ 54

Figura 2.6. Concentración de fenoles totales en rebanadas de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méendez’ (B) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante (control), 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico + 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T3). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ 55

Figura 2.7. Micrografías electrónicas de barrido que muestran los cambios micro estructurales en pulpa de aguacate ‘Hass’. Pulpa en estado de madurez fisiológica (A); Pulpa en estado de madurez de consumo (B); Pulpa en estado de madurez de consumo congelada a -64 °C (C); Pulpa en estado de madurez de consumo liofilizada (D). I: célula idioblástica de aceite, las flechas indican la pared celular, O: gotas de aceite. Barra=10 µm (A, B); Barra=50 µm (C, D)..... 57

Figura 2.8. Micrografías electrónicas de barrido que muestran los cambios micro estructurales en pulpa de aguacate ‘Méendez’. Pulpa en estado de madurez fisiológica (A); Pulpa en estado de madurez de consumo (B); Pulpa en estado de madurez de consumo congelada a -64 °C (C); Pulpa en estado de madurez de consumo liofilizada (D). I: célula idioblástica de aceite, las flechas indican la pared celular, O: gotas de aceite. Barra=10 µm (A, B, C); Barra=100 µm (D)..... 58

Figura 3.1. Comportamiento de los carotenoides en pulpa de aguacate Colín V-33 (A, D), Oaxaca (B, E) y Hass (C, F) almacenados a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ y almacenados a $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 21 días seguidos de 2 días a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$. Los datos de carotenoides son medias \pm DE de tres replicas..... 82

LISTA DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Composición de ácidos grasos en aceite de aguacate. | 12 |
| Cuadro 3.1. Cambios en firmeza, fenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) en pulpa de frutos de aguacate almacenados a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ para su maduración. | 72 |
| Cuadro 3.2. Cambios en el contenido de clorofila (total, a y b) y carotenoides totales en pulpa de frutos de aguacate almacenados a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ para su maduración..... | 74 |
| Cuadro 3.3. Cambios en firmeza, fenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) en pulpa de frutos de aguacate almacenados a $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 21 días, seguido de dos días a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ para su maduración..... | 75 |
| Cuadro 3.4. Cambios en el contenido de clorofila (total, a y b) y carotenoides totales en pulpa de frutos de aguacate almacenados a $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 21 días, seguido de dos días a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ para su maduración..... | 79 |

INTRODUCCIÓN GENERAL

El cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill.) ha tomado importancia a través del tiempo, debido a que en los últimos 10 años su producción, a nivel mundial, se ha incrementado desde 3,591,501 hasta 5,924,398 toneladas (FAOSTAT, 2019), lo que representó un aumento del 39.4 % y ha permitido que su consumo per cápita se ubique actualmente en 2.5 kg a nivel mundial como fruta *in natura*; para México y Estados Unidos dicho consumo se ubica en 11.6 y 3.5 kg, respectivamente (Arias *et al.*, 2018). A nivel de procesamiento, recientemente se han venido incrementando las exportaciones de aguacate en forma de guacamole hasta alcanzar un total de 38 545 toneladas con valor de 106 millones de dólares, además de un total 23, 000 toneladas de pulpa natural con valor de 93.7 millones de dólares (Opportimes, 2019).

En estudios recientes se han venido resaltando las características del valor organoléptico, nutricional y nutracéutico de la pulpa, esto último debido a la presencia de diversos compuestos bioactivos como: grasos ácidos insaturados (ácido oleico), vitamina E (tocoferol), compuestos fenólicos, carotenoides y clorofila (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2014; Krumreich *et al.*, 2018; Xuan, 2019). Lo que ha dado pauta a la generación de otras tecnologías de procesamiento como extracción de aceite o pulpa mínimamente procesada en forma de mitades, cubos y remanadas, además de pulpa deshidratada, todas ellas con ciertas limitantes en la retención de varios compuestos bioactivos. Recientemente se ha venido estudiando el uso de tecnologías emergentes para procesar pulpa de aguacate, como es el caso de altas presiones hidrostáticas (APH) con el fin de lograr un producto con calidad similar al producto fresco, alta retención de compuestos bioactivos, mayor vida de anaquel y alta seguridad microbiológica; sin embargo, requiere de equipo altamente especializado y altos costos de procesamiento. En este sentido, una alternativa

viable lo constituye la liofilización asociada a otras tecnologías coadyuvantes para obtener un producto con los mismos objetivos de las APH.

OBJETIVOS

Objetivo General.

- Determinar una cadena de proceso bajo un sistema integral para la obtención de rebanadas de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’ tratadas por liofilización, a fin de obtener un producto con aceptable calidad organoléptica, vida de anaquel prolongada y contenido de compuestos bioactivos con valor nutracéutico similar al producto *in natura*.

Objetivos específicos.

- Determinar el grado de madurez adecuado para el procesamiento por liofilización de cortes de pulpa de aguacate, mediante la evaluación de dos concentraciones del liberador de etileno Ethephon (500 y 1000 mg L⁻¹) para obtener frutos con maduración homogénea en color y firmeza, y en corto tiempo.
- Evaluar el efecto de los compuestos antioxidantes ácido ascórbico, ácido cítrico y su combinación, en el control del oscurecimiento enzimático de la pulpa de aguacate previo y durante el proceso de liofilización.
- Evaluar el efecto del tiempo de refrigeración a 2±1°C en los cambios asociados a la maduración, sensibilidad a daños por frío y calidad de frutos de aguacate de dos cultivares (Colín V-33 y Hass) y un genotipo (Oaxaca-7).

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del cultivo de aguacate.

De acuerdo con Yahia y Woolf (2011), el aguacate es una planta dicotiledónea del orden *Ranales* y de la familia *Lauraceae*, fue clasificada por Miller como *Persea americana* y a partir de la cual se han desarrollado subespecies. Botánicamente, el aguacate es clasificado en tres razas, la mexicana, guatemalteca y raza antillana; y muchos de los cultivares e híbridos comerciales son resultado de la mezcla de las tres razas mostrando así gran variabilidad, principalmente en el color obtenido una vez que el fruto se encuentra maduro ya que durante el proceso de maduración algunos cultivares pasan de un color verde a uno negro o morado; además es un fruto que se cultiva en climas cálidos y semicálidos (Samaniego-Russo y Sánchez-Sánchez, 1999; Yahia y Woolf, 2011).

El aguacate ‘Hass’ es un híbrido de la raza guatemalteca y mexicana y es el más comercial debido a su calidad y composición fitoquímica nutricional, dadas por las condiciones ambientales de crecimiento, parte de su potencial está dado por el exocarpio grueso y rugoso que constituye una barrera contra la pérdida de agua y otorga resistencia contra enfermedades e insectos (Yahia y Woolf, 2011; Pedreschi et al., 2015). Existen otros cultivares los cuales han sido generados a partir de semillas de ‘Hass’, empleando técnicas de mejoramiento genético, tal es el caso ‘Fundación II’ y ‘Encino’ desarrolladas por la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S.C., con el fin de generar variedades que compitan con el aguacate ‘Hass’ este objetivo no se ha logrado ya que ‘Hass’ sigue presentando características más sobresalientes (Rogel-Castellanos, 1999). Existe otro cultivar, denominado como Méndez, que han penetrado al mercado siendo aceptado por el

consumidor ya que posee características organolépticas y nutracéuticas muy similares al ‘Hass’ (Herrera-González et al., 2017).

Importancia económica del cultivo de aguacate.

De acuerdo con Dorantes et al. (2004), en 57 países se produce aguacate; sin embargo, México es el principal productor y exportador de aguacate. Algunos países compiten con la producción mexicana en cuanto a la calidad del fruto sin embargo no en cantidad; en el 2017, el 33.56 % de la producción mundial fue mexicana, seguido de la producción de República Dominicana (10.54 %), Perú (7.72 %), Indonesia (6.00 %) y Colombia (5.20 %) (FAOSTAT, 2019).

La producción mexicana de aguacate se ha incrementado a través del tiempo tal como lo muestra la Figura 1. De acuerdo con el reporte del SIAP (2019), en el año 2018 se sembraron 231,524.02 ha de las cuales se cosecharon 206,388.91 ha obteniendo una producción de 2,184,663.13 Ton de aguacate, en ese mismo informe se reportó un rendimiento medio de 10.59 Ton/ha. En la Figura 2, se observa que el estado de Michoacán es el principal estado productor cuya producción, en el 2018 fue de 1,674,855.04 Ton lo que representa el 77 % de la producción total nacional, seguido del estado de Jalisco (201,804.37 Ton), México (97,805.81 Ton) y Nayarit (57,563.05 Ton).

Al igual que la producción mexicana de aguacate, las exportaciones han ido en aumento (Figura 3), en el año 1980 se exportaron 944.00 Ton mientras que para el año 2016 se exportaron 926,597.00 Ton. El 48.12 % de las exportaciones mundiales son mexicanas seguido de Países Bajos (10.17 %), Perú (10.08%), Chile (7.64 %) y España (4.86 %) (FAOSTAT, 2019).

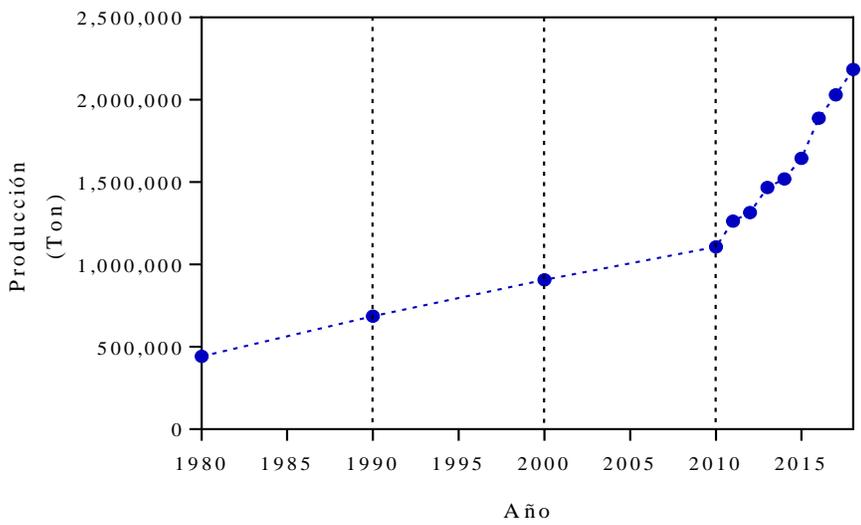


Figura 1. Producción de aguacate a través del tiempo en México (1980-2018). Elaboración propia. FAOSTAT 2019.

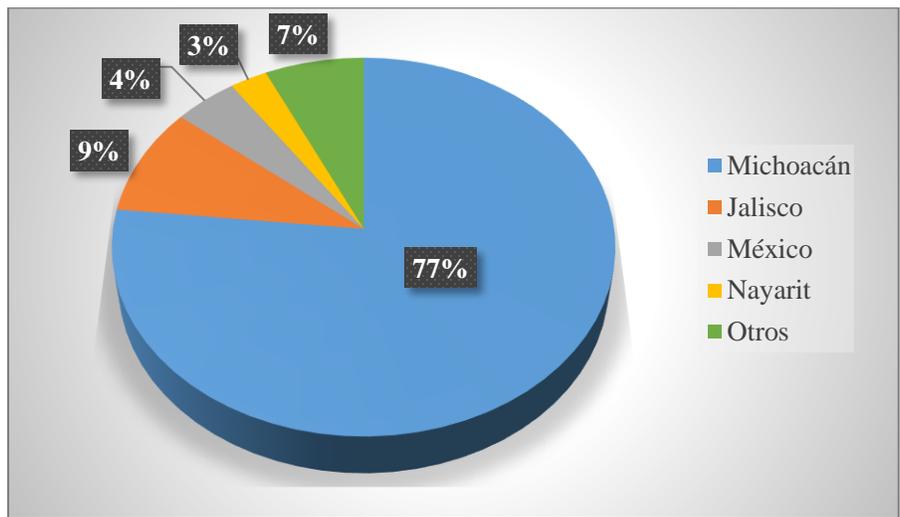


Figura 2. Producción (%) de aguacate en México por estado para el año 2018. Elaboración propia. SIAP, 2019.

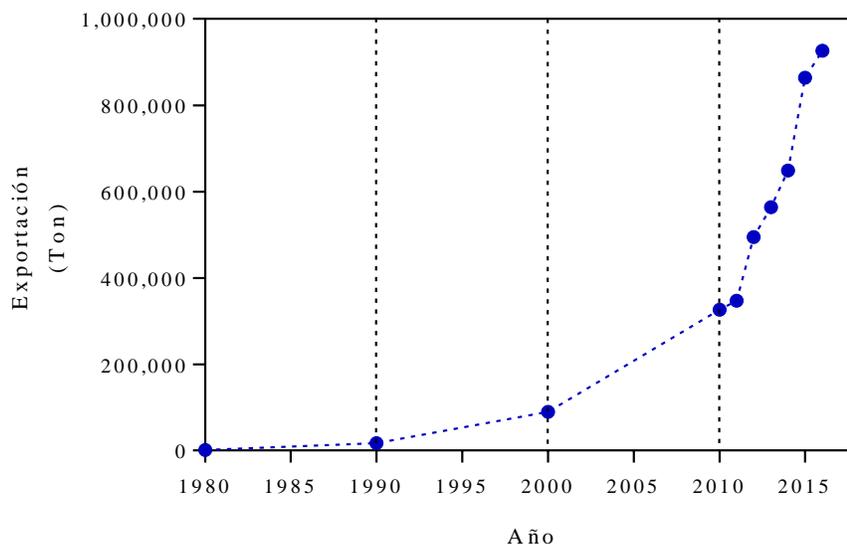


Figura 3. Exportaciones de aguacate a través del tiempo, en México. Elaboración propia. SIAP, 2019.

Cambios bioquímicos y fisiológicos durante el proceso de maduración.

Dado que la mayoría de los cambios durante la maduración en frutos están relacionados con el climaterio respiratorio, el periodo de maduración de las frutas es subdividido en tres etapas: pre climaterio, climaterio y post climaterio; asimismo, una vez que la producción de etileno se inicia, el proceso es irreversible e incontrolable (Khan, 2006). La maduración del aguacate involucra una variedad de cambios bioquímicos y fisicoquímicos que incluyen incrementos en la producción de etileno y en la respiración, así como el ablandamiento de la pulpa, desarrollo de los componentes de sabor y color, lo cual hace que su vida de anaquel sea relativamente corta ya que alcanza la maduración de consumo luego de 5 a 7 días almacenado a 25°C (Gray et al., 1992; Seymour y Tucker, 1993; Ozdemir y Topuz, 2004).

De acuerdo con Arpaia (2005) durante el proceso de maduración, el fruto de aguacate puede producir elevadas cantidades de dióxido de carbono desde 80 hasta 300 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 20 °C así como la producción de etileno durante la maduración del fruto es alta (<100 µL kg⁻¹ h⁻¹ a 20°C).

Etileno en la maduración.

El etileno es un gas formado por una molécula simple y pequeña, C_2H_4 , lo cual le permite movilidad y difusión, y por tanto ser un potente modulador del crecimiento y desarrollo de la planta, además es soluble en agua y en sistemas lipofílicos (Ecker, 1995; Díaz, 2002). Diversos aspectos del ciclo de vida de las plantas, incluida la germinación de las semillas, iniciación de las raíces, el desarrollo de las flores, así como el crecimiento, maduración y senescencia del fruto, y las respuestas a estrés biótico (ataque de patógenos) y abiótico (heridas, hipoxia o daños por frío), son reguladas por el etileno (Abeles et al., 1992; Bleeker y Kende, 2000; Zhifeng et al., 2009). Los frutos responden tanto al etileno endógeno como exógeno; en los frutos climatéricos, el comienzo de la maduración está marcado por una producción autocatalítica de etileno (endógeno) con la cual comienzan cambios como conversión de almidón a azúcares libres, cambios en el pH, desarrollo de aromas, degradación de clorofilas, síntesis de carotenoides, así como ablandamiento de cáscara y pulpa (Gray et al., 1992; Seymour y Tucker, 1993). Además del etileno endógeno, durante el manejo poscosecha de productos hortofrutícolas estos pueden ser afectados por etileno exógeno, el cual estimula la producción autógena de etileno en los frutos climatéricos y en los no climatéricos acelera el proceso de maduración, afectando aspectos parciales del mismo (desverdización) y exigen la presencia continua de la hormona (Calvo et al., 2018).

Respuesta a etileno exógeno.

El etileno acelera la degradación de clorofila e induce la síntesis de carotenoides, motivo por el cual, este efecto se ha aprovechado en el uso del etileno exógeno para acelerar la maduración en frutos (Salveit, 1999). La aplicación de etileno exógeno puede dar respuestas diferentes, ya que depende de la dosis, de la variedad y del estado de madurez del fruto (Molinari et al., 1999).

Zauberman et al. (1988) indican que la exposición de los frutos de aguacate ‘Fuerte’ a una concentración de $100 \mu\text{L L}^{-1}$ de etileno no incrementa su velocidad de respiración durante las primeras 18 horas y mantienen su firmeza de manera similar a aquellos sin exposición a etileno, sin embargo la exposición por 24 h acelera el proceso de maduración.

Sensibilidad a daños por frío.

Una de las principales limitantes para almacenar el fruto de aguacate a baja temperatura por más de cuatro semanas, es la aparición de daños por frío, esencialmente decoloración de la pulpa, engrosamiento de los haces vasculares, lixiviación vascular y ennegrecimiento exterior de la pulpa. Algunos autores sugieren que dichos daños son causados por cambios irreversibles en la membrana como respuesta primaria a la baja temperatura causando cambios en la actividad enzimática asociada a la membrana, por lo tanto, se afecta la permeabilidad causando salida de iones, descompartmentalización y el contacto enzima-sustrato (polifenoloxidasas-fenoles) que promueve reacciones de oscurecimiento (Figura 4 y 5) (Pesis et al., 2002; Hershkovitz et al., 2009).

Por lo anterior Barrientos-Priego et al. (2016) emplearon nitrato de calcio $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$ asperjado en precosecha para conocer su efecto en frutos de aguacate ‘Hass’ almacenados a 5°C , encontrando que las aplicaciones de $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$ a 0.3 y 0.5% disminuyeron el patrón respiratorio y la producción de etileno a temperatura ambiente y a 5°C ; los tratamientos además aumentaron la concentración de calcio en el exocarpio y mesocarpio y disminuyeron la pérdida de peso, la actividad de la polifenoloxidasa y la presencia de daños por frío.

Woolf et al. (2005) examinaron el efecto del 1-MCP $[50-1000 \eta\text{L L}^{-1}]$ por 24 h a 6°C en aguacate ‘Hass’ almacenado a 5.5°C por 4 y 7 semanas; reportando que los frutos tratados con 1-MCP mantuvieron su firmeza y disminuyeron la decoloración de la pulpa luego del almacenamiento en

frío, además luego de ser trasladados a temperatura de maduración, mantuvieron la firmeza por más tiempo y disminuyeron los trastornos fisiológicos en la pulpa asociados al largo periodo de almacenamiento; por lo tanto el uso de 1-MCP contribuye a la reducción de desórdenes fisiológicos internos asociados a la temperatura pero no disminuye los daños externo.

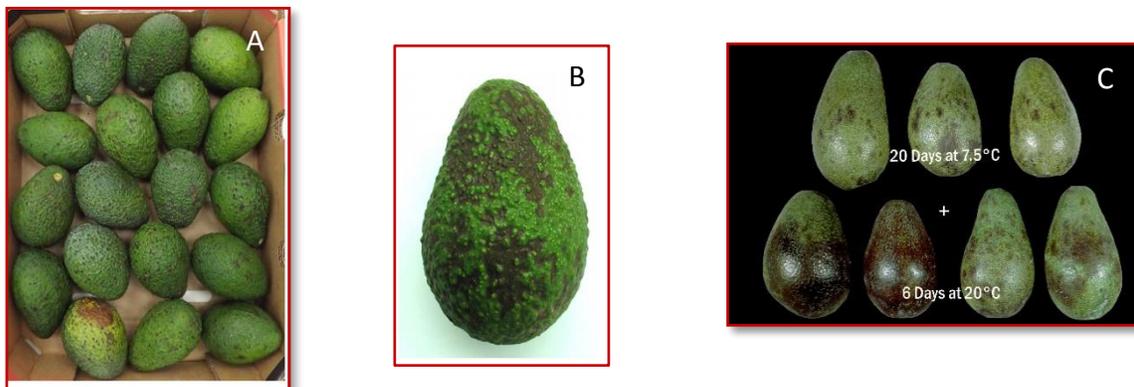


Figura 4. Principales síntomas externos de daños por frío en frutos de aguacate. (A) Picaduras en la cáscara (skin pitting); (B) escaldado y (C) ennegrecimiento. Elaboración propia. Crédito fotografía C: Yilmaz Ilker, Postharvest Consultant, New Jersey

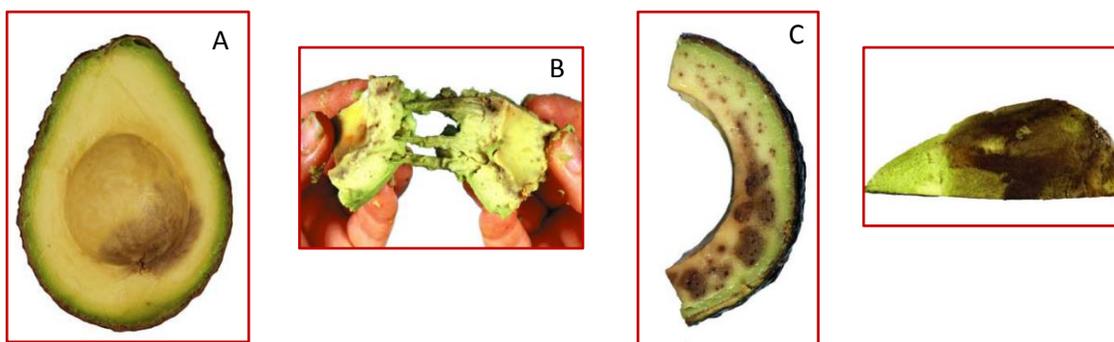


Figura 5. Principales síntomas internos de daños por frío en frutos de aguacate. (A) Decoloración marrón grisácea de la pulpa, particularmente alrededor de la semilla; (B) tejido fibroso; (C) lixiviación vascular; (D) pulpa exterior ennegrecida. Woolf et al., 2005; Yahia y Woolf, 2011.

El uso de jasmonatos y silicatos en postcosecha ha sido efectivo para reducir daños por frío en frutos como chabacano, mango, durazno y papaya; igualmente se ha reportado su uso en aguacate ‘Hass’ en la cual se empleó una solución de $2.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de metil jasmonato por 30 segundos

observando una reducción del desarrollo de daños por frío después de un almacenamiento por 2 semanas a 1°C y 4 semanas a 2°C. Por su parte Glowacz et al. (2017) investigaron el efecto del vapor de metil jasmonato (MeJA) y salicilato de metilo (MeSA) con el fin de disminuir los daños por frío en frutos de aguacate ‘Hass’ almacenados a 2°C por 21 días, seguido de 6-7 días a 20°C; encontrando que la incidencia de daños por frío y la gravedad de estas lesiones se redujeron significativamente en las frutas expuestas a MeJA y MeSA, particularmente a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Lo que condujo a concluir que estos compuestos mejoran la integridad de la membrana celular por lo que se disminuyen los daños por frío.

Composición del aguacate y beneficios por su consumo.

Los frutos de aguacate son una fuente de ácidos grasos insaturados, fibras, potasio, vitamina B3 y compuestos bioactivos tales como la vitamina E, carotenoides y esteroides; beneficiando la salud del consumidor debido a que dichos compuestos poseen capacidad antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral y actividad antimicrobiana, motivo por el cual el aguacate ha sido clasificado como un alimento funcional por el alto valor nutricional que posee y por los efectos benéficos que otorga sobre la salud humana (Krumreich et al., 2018).

Ácidos grasos presentes en la pulpa de aguacate.

El aguacate contiene 71% de ácidos grasos monoinsaturados, 13% de ácidos grasos poliinsaturados y 16% de saturados. Durante el proceso de maduración de frutos de aguacate, disminuyen las grasas saturadas y se incrementan las insaturadas, principalmente el ácido oleico (Dreher y Davenport, 2013).

De acuerdo al método de extracción de aceite de aguacate, se ha reportado la presencia de diversos ácidos grasos (Xuan, 2019); no obstante, el ácido oleico (C18:1) es el que reporta mayor contenido, seguido del palmítico (C16:0) y linoleico (C18:2) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición de ácidos grasos en aceite de aguacate.

| Ácido Graso | Contenido (%) | | |
|------------------------|------------------|-----------------------|----------------------|
| | Salas (2000) | Prescha et al. (2014) | Cicero et al. (2018) |
| C14:0 mirístico | NR | 0.10 | 0.01 |
| C16:0 palmítico | 9.0-13.0 | 17.50 | 14.21 |
| C16:1palmítoleico | 2.8-4.0 | 8.10 | 7.06 |
| C17:0 | NR | 0.60 | 0.01 |
| C17:1 | NR | NR | 0.08 |
| C18:0 esteárico | 0.4-1.0 | 0.70 | 2.15 |
| C18:1 oleico | 69.0-74.0 | 61.00 | 59.46 |
| C18:2 linoleico | 10.0-14.0 | 10.50 | 14.66 |
| C18:3 linolénico | 1.0-2.0 | 0.80 | 1.30 |
| C20:0 araquídico | <0.1 | 0.10 | 0.41 |
| C20:1 gadoleico | NR | 0.30 | 0.51 |
| C22:0 behénico | NR | NR | 0.08 |
| C24:0 lignocérico | NR | NR | 0.06 |
| AGS | 16.00 | 19.00 | 16.93 |
| AGMI | 71.00 | 69.40 | 67.11 |
| AGPI | 13.00 | 11.30 | 15.96 |

NR: no reportado; AGS: ácidos grasos insaturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

Uno de los beneficios principales del consumo de aguacate o aceite de aguacate, es el combate a la hipercolesterolemia [niveles elevados de colesterol y lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la sangre], esto gracias al ácido oleico presente que reduce el colesterol total, incrementa los niveles de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y evita la acción trombotica arterial (Rodríguez-Sánchez et al., 2014; Krumreich et al., 2018). Otro beneficio suscitado del elevado contenido de ácido oleico, es el efecto protector sobre las alteraciones inducidas por la diabetes, modificando la composición de los ácidos grasos de las membranas mitocondriales

(incrementando los ácidos grasos insaturados) haciendo así, a las células menos propensas al daño peroxidativo (Cortés-Rojo et al., 2019).

Carotenoides en la pulpa de aguacate.

Los carotenoides pertenecen a la familia de los isoprenoides plastídicos que se encuentran dispersos en la naturaleza y son pigmentos naturales de color rojo, naranja y amarillo sintetizados por plantas y algunos microorganismos con diversas funciones fisiológicas por ejemplo, en organismos fotosintéticos los carotenoides son esenciales en la fotoprotección mientras que en organismos no fotosintéticos participan en la prevención del daño fotooxidativo (Alcaño, Baeza y Cifuentes, 2016; Da Silva et al. 2015) .

Los carotenoides son derivados del geranil geranil difosfato (GGPP) y el primer paso en la biosíntesis es la producción de la molécula de fitoeno (40C) a partir de la condensación de dos moléculas de GGPP reacción catalizada por la enzima fitoeno sintasa (PSY), en plantas la fitoeno desaturasa (PDS) reduce el fitoeno a ζ -caroteno pasando por el intermediario fitoflueno y la enzima ζ -caroteno desaturasa (ZDS) que produce *cis*-licopeno vía neurosporeno (Figura 6). El primer punto de ramificación de la ruta de biosíntesis de carotenoides consiste en la ciclación de uno o ambos extremos de la cadena de *All-trans*-licopeno, una rama da lugar a carotenoides con dos anillos β (β -caroteno y sus xantofilas derivadas zeaxantina, violaxantina y neoxantina) mientras que en la otra se producen carotenoides con un anillo β y otro ϵ (α -caroteno y la xantofila luteína) (Ruíz-Sola y Rodríguez-Concepción, 2017)

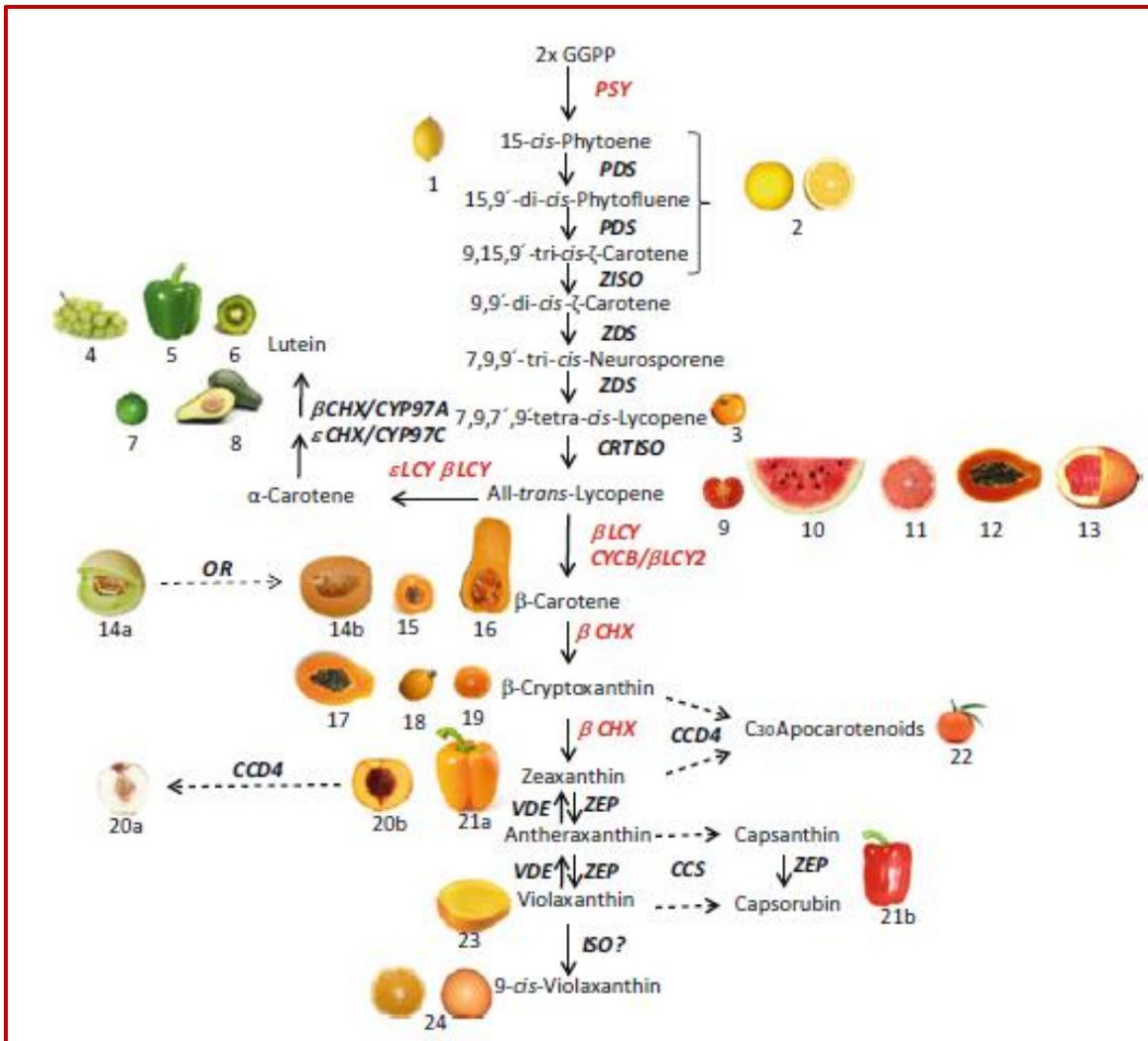


Figura 6. Representación de la ruta de carotenoides en frutos. Cada fruto es posicionado en el carotenoide predominante responsable de su coloración. 1. Limón; 2. Naranja mutante Pinalate; 3. Tomate tangerina; 4. Uva; 5. Pimiento; 6. Kiwi; 7. Cáscara de mandarina inmadura; 8. Aguacate; 9. Tomate; 10. Sandía; 11. Uva roja; 12. Papaya roja; 13. Gac; 14a. Melón pulpa blanca; 14b. Meón de pulpa naranja; 15. Chabacano. 16. Calabaza; 17. Papaya amarilla; 18. Níspero; 19. Pulpa de mandarina; 20a. Durazno pulpa blanca; 20b. Durazno pulpa amarilla; 21a. Pimiento naranja; 21b. Pimiento rojo; 22. Piel de mandarina madura; 23. Mango; 24. Naranja dulce. Lado et al., 2016.

Los carotenoides juegan un papel importante en la salud y nutrición humana, por lo que su consumo a través de la dieta es esencial para la obtención, principalmente de retinoides (relacionados con vitamina A) cuyo precursor es el β-caroteno, también llamado provitamina A,

quien junto a los carotenoides no provitamina A (incluyendo licopeno, luteína y zeaxantina) tienen relevancia para la salud humana, como antioxidantes y filtros protectores para la luz azul (Rosas-Saavedra y Stange, 2016; Bonet et al., 2017).

Los carotenoides más comunes en la dieta humana son el α -caroteno, β -criptoxantina y zeaxantina que producen coloración amarilla; β -caroteno y luteína producen color naranja, mientras que el licopeno una coloración rojiza, de los cuales cinco presentan los frutos de aguacate (Chen, 2015; Alcaíno, Baeza y Cifuentes, 2016). Lu et al. (2009) reportaron en pulpa de aguacate ‘Hass’ cosechado en California, Estados Unidos de América una correlación positiva entre la concentración de carotenoides y de ácidos grasos, durante el proceso de maduración; además mediante la técnica HPLC realizaron la identificación de los carotenoides presentes en la pulpa encontrando luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno, β -caroteno, neoxantina, violaxantina, neocromo y crisantemaxantina cuyas concentraciones dependen de la fecha y lugar de cosecha (Figura 7).

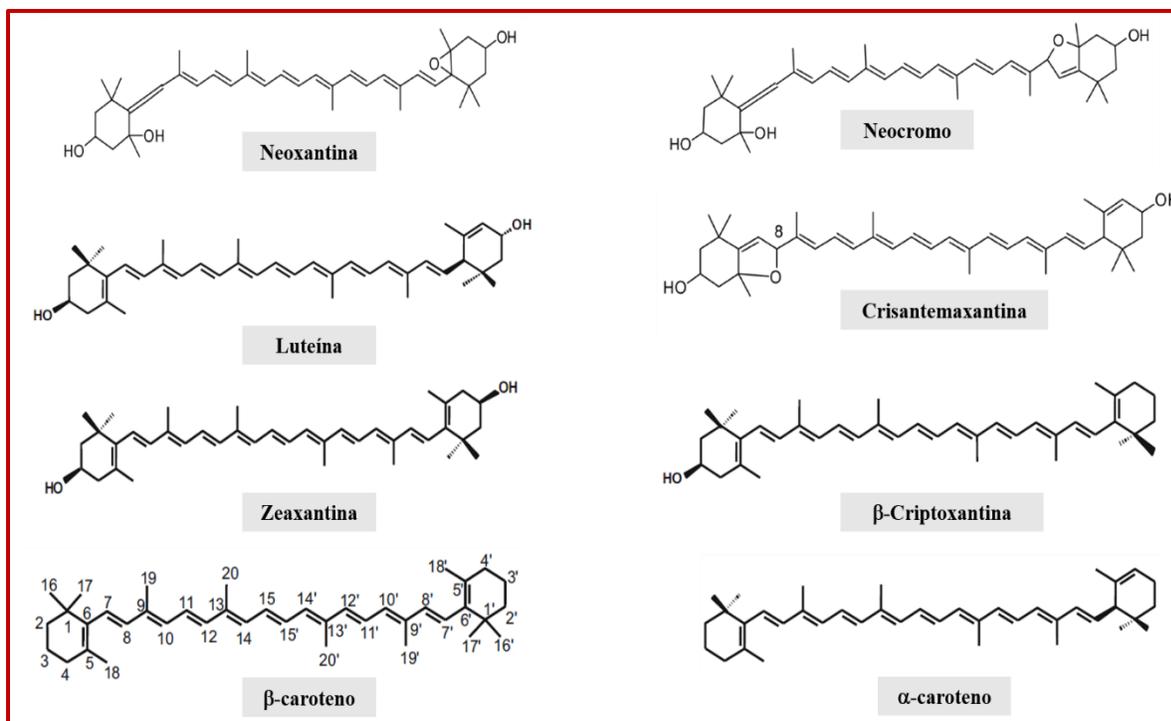


Figura 7. Estructura de los carotenoides presentes en la pulpa de aguacate. Lu et al. (2009) y Rodriguez-Amaya (2016).

Liofilización, tecnología emergente para la conservación de alimentos.

La liofilización es un proceso en el que se congela el alimento y una vez congelado se introduce en una cámara de vacío para que se evapore el agua por sublimación. El principio fundamental implicado en la liofilización es un fenómeno llamado sublimación, donde el agua pasa directamente del estado sólido (hielo) al estado de vapor sin pasar por el estado líquido; este proceso se lleva a cabo a temperatura y condiciones de presión por debajo del punto triple. Se emplean temperaturas de congelación entre -10 a -50°C y presiones desde 13.5 a 270.0 Pa. La tecnología de liofilización es un proceso de deshidratación que permite preservar, en su mayoría, las características sensoriales y nutricionales del aguacate (Castañeda-Saucedo *et al.* 2014).

Etapas del proceso de liofilización.

El proceso de liofilización consta principalmente de tres pasos (Figura 8); el primero consiste en congelar el producto (enfriamiento), en el segundo el producto es secado por sublimación directa del hielo bajo presión reducida (sublimación de hielo) y el secado secundario (remoción de agua). El congelamiento interfiere directamente en la apariencia y calidad del producto final, por lo que se debe conocer la temperatura máxima de solidificación, velocidad óptima de enfriamiento y temperatura mínima de fusión incipiente (Ramírez-Navas, 2006).

La etapa de secado consiste en la sublimación del hielo del producto, en la cual la energía, en condiciones de vacío, atraviesa las capas congeladas del producto y el vapor de agua producido es eliminado a través de los poros de la matriz sólida del producto (Nireesha, et al, 2013).

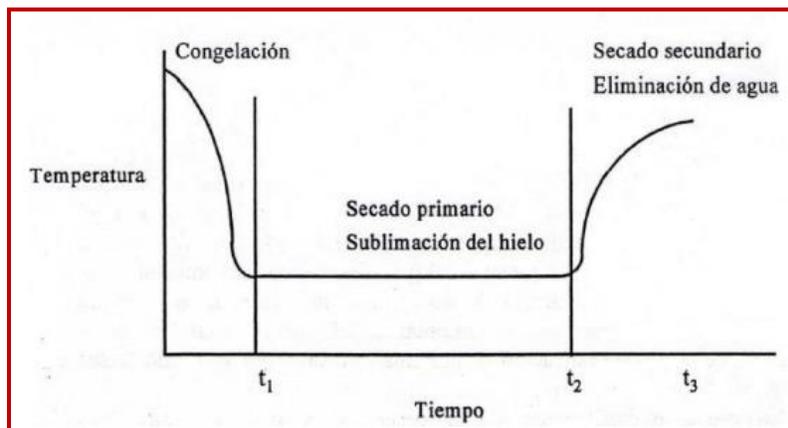


Figura 8. Etapas del secado por liofilización. Barbosa-Cánovas et al., 2000.

Reacciones de deterioro.

Actividad enzimática.

En la industrialización del aguacate, un problema fundamental es el rápido oscurecimiento de la pulpa, durante el procesamiento y almacenamiento, oxidación causada por enzimas específicas (polifenoloxidasas). Las polifenoloxidasas (PPO) son enzimas endógenas que transforman a los o-

difenoles en o.quinonas, las cuales son reactivas y polimerizan con otros compuestos, conduciendo a la formación de polímeros de coloración café/oscuró. Por tal motivo e contenido de fenoles y la actividad de la enzima PPO son determinantes en la calidad de productos hortofrutícolas (Lee *et al.* 1990). Amaya-Paredes *et al.* (2008) reportaron que la PPO extraída de frutos de aguacate ‘Hass’ presenta una actividad específica en dos valores de pH, 5.5 y 7 a una temperatura de 20°C empleando catecol como sustrato. Algunos autores (López-Malo *et al.*, 1998; Palou *et al.*, 2000) han demostrado que el uso de altas presiones en el procesamiento del aguacate reduce hasta en un 85% la actividad de la polifenoloxidasas, sin causar daño en las características sensoriales del producto.

Antioxidantes.

En la pulpa de aguacate procesada, el control del pardeamiento enzimático, debe realizarse utilizando antioxidantes ya que el uso de temperaturas elevadas afecta la calidad de la pulpa (Ortiz *et al.*, 2004). Los antioxidantes más utilizados para mantener las condiciones de color son principalmente: el bisulfito de sodio, el ácido ascórbico, ácido isoascórbico y ácido cítrico; sin embargo, actualmente se comercializan pulpas que presentan aditivos estabilizantes como son: gomas, alginatos, polifosfatos, así como aquellos que reducen el desarrollo microbiano, el sorbato y benzoato de sodio o potasio (Gómez- López, 2002).

LITERATURA CITADA

- Abeles F.B., Morgan, P.W. & Saltveit M.E. (1992). *Ethylene in plant biology*. United States of America: Academic Press Limited.
- Alcaño J., Baeza, M. & Cifuentes V. (2016). Carotenoid Distribution in Nature. In C. Stange, (Ed.), *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function* (pp. 3-34). Switzerland: Springer International Publishing.
- Amaya-Paredes, E., Tarkus-Patiño, R. & Domínguez-Magaña, M. (2008). Extracción y caracterización cinética de la enzima polifenoloxidasas del aguacate (*Persea americana* Mill.) var. Hass. *Revista de la Facultad de Ingeniería Química*, 47, 10-16.
- Arias, F., Montoya, C. & Velásquez, O. (2018). Dinámica del mercado mundial de aguacate. *Revista Virtual Universidad Católica del Norte*, (55), 22 -35.
- Arpaia, M. L. (2005). Avocado postharvest quality – an overview. New Zealand and Australia Avocado Grower’s Conference ’05. Tauranga, New Zealand.
- Barbosa-Cánovas, G., Vega-Mercado, H., & Ibarz, A. (2000). *Deshidratación de alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Barrientos-Priego, A. F., Martínez-Damián, M.T., Vargas-Madríz, H. & Lázaro-Dzul, M.O. (2016). Effect of preharvest calcium spraying on ripening and chilling injury in ‘Hass’ (*Persea americana* Mill.) avocado. *Revista Chapingo, Serie horticultura*, 22 (3), 145-159.
- Bleecker A.B. & H. Kende. (2000). Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16, 1–40.
- Bonet, M.L., Ribot, J., Canas, J. A. & Palou, A. (2017). Carotenoides y Salud Humana: Potencial Efecto Anti-obesidad. In A.J Méndez-Martínez. (Ed.), *Carotenoides en agroalimentación y salud* (pp. 628-669). México: Editorial Terracota, S.A. de CV.
- Calvo, G., Candan, A.P., Colodner, A. & Goila, T. (2018). Tecnología de poscosecha de fruta de pepita. Argentina: Ediciones INTA.
- Castañeda-Saucedo, M. C., Valdés-Miramontes, E. H., Tapia-Campos, E., Delgado-Alvarado, A., Bernardino-García, A. C., Rodríguez-Ramírez, M. R., & Ramírez-Anaya, J. P. (2014). Effect of freeze-drying and production process on the chemical composition and fatty acids profile of avocado pulp. *Revista Chilena de Nutrición*, 41(4), 404-411.
- Chen, J., Liu, X., Li, F., Li, Y., & Yuan, D. (2015). Cold shock treatment extends shelf life of naturally ripened or ethylene-ripened avocado fruits. *PLoS ONE*, 12(12), 1-13.
- Cicero, N., Albergamo, A., Salvo, A., Bua, G. D., Bartolomeo, G., Mangano, V., Dugo, G. (2018). Chemical characterization of a variety of cold-pressed gourmet oils available on the Brazilian market. *Food Research International*, 109, 517–525.

- Cortés-Rojo, C., Montoya-Pérez, R., Rodríguez-Orozco, A.R., Saavedra-Molina, A. & Calderón-Cortés, E. (2019). Avocado Oil and Diabetic Complications Related to Mitochondrial Dysfunction. In W.R. Ross & R.V. Preedy (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes* (pp. 89-101). London, United Kingdom: Elsevier Inc.
- Da Silva, M.A.F., Fontes V.L.S. & Cardoso, C.M.G. (2015). Carotenoid Biosynthesis Genomics. In C. Chen, (Ed.), *Pigments in Fruits and Vegetables, Genomics and Dietetics* (pp. 9-30). United States of America: Springer.
- Díaz, M.D.H. (2002). *Fisiología de árboles frutales*. México: AGT Editor, S. A.
- Dorantes, L., Parada, L. & Ortiz, A. (2004). *Avocado: Post-harvest Operations*. Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO.
- Dreher, M.L. & Davenport, A.J. (2013). Hass Avocado Composition and Potential Health Effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 738-750.
- Ecker, J.R. (1995). The ethylene signal transduction pathway in plants. *Science*, 268, 667-675.
- Głowacz, M., Bill, M., Tinyane, P.P. & Sivakumar, D. (2017). Maintaining postharvest quality of cold stored 'Hass' avocados by altering the fatty acids content and composition with the use of natural volatile compounds – methyl jasmonate and methyl salicylate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5186-5193.
- Gómez-López, V.M. (2002). Inhibition of surface browning, cut avocado. *Journal of Food Quality*, 25, 369-379.
- Gray, J., Picton, E.S., Shabbeer, J., Schuch, W., & Grierson, D. (1992). Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes. *Plant Molecular Biology*, 19, 69-87.
- Herrera-González, J.A., Salazar-García, S., Martínez-Flores, H. E & Ruiz-García, J. E. (2017). Indicadores Preliminares de Madurez Fisiológica y Comportamiento Postcosecha del Fruto de Aguacate Méndez. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40 (1), 55-63.
- HersHKovitz, V., Friedman, H., Goldschmidt, E.E. & Pesis, E. (2009). The role of the embryo and ethylene in avocado fruit mesocarp discoloration. *Journal of Experimental Botany*, 60, 791–799.
- Khan, N.A. (2006). *Ethylene action in plants*. Berlin :Springer.
- Krumreich, F.D., Borges, C.D., Mendonça, C.R.B., Jansen-Alves, C. & Zambiazzi, R.C. (2018). Bioactive compounds and quality parameters of avocado oil obtained by different processes. *Food Chemistry*, 257, 376-381.
- Lado, J., Zacarías, L. & Rodrigo, M.J. (2016). Regulation of Carotenoid Biosynthesis During Fruit Development. In C. Stange, (Ed.), *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function* (pp. 161-198). Switzerland: Springer International Publishing.

- López-Malo, A., Palou, E., Barbosa-Canovas, G.V. & Welti-Chanes, J. (1998). Polyphenoloxidase activity and color changes during storage of high hydrostatic pressure treated avocado puree. *Food Research International*, 31(8), 549–556.
- Lu Q.Y., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, D., Lee, R.P., Gao, K., Byrns, R., & Heber, D. (2009). California Hass Avocado: Profiling of Carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing áreas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10408–10413.
- Lyons, J.M., Raison, J. K. & Graham, D. (1979). *Low temperature stress in crop plants – The role of the membrane*. New York, USA: Academic Press.
- Molinari, A.F., Castro, L.R., Antoniali, S., Pornchaloempong, P., Fox, A.J. & Sargent, S.A. (1999). The potential for bell pepper harvest prior to full color development. *Horticultural Society*, 112, 143-146.
- Morris, L.L. (1982). Chilling injury of horticultural crops: An overview. *Horticultural Science*, 17, 161-162.
- Nireesha, G.R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjan B.M. & Lavakumar V. (2013). Lyophilization/Freeze Drying - An Review. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3(4), 87-98.
- Opportimes. 2019. Se disparan exportaciones mexicanas de guacamole en 2018. <https://www.opportimes.com/se-disparan-exportaciones-mexicanas-de-guacamole-en-2018/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Estadísticas en línea (FAOSTAT). (2019). Consultado 26-07-2019 en <http://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Ortiz, M., Dorantes, A., Galndez, M. & Cárdenas, S. (2004). Effect of a novel oil extraction method on avocado (*Persea americana* Mill.) pulp microstructure. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59, 11-14.
- Ozdemir, F. & Topuz, A. 2(004). Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry*, 86, 79–83.
- Palou, E., Hernandez, C., Lopez, A., Barbosa-Canovas, G.V., Swansonc, B.G. & Welti-Chanes, J. (2000). High pressure-processed guacamole. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 69-75.
- Pedreschi, R., Hollak, S., Harkema, H., Otma, E., Robledo, P., Westra, E., Somhorst, D., Ferreyra, R. & Defilippi, B.G. (2016). Impact of postharvest ripening strategies on ‘Hass’ avocado fatty acid profiles. *South African Journal of Botany*, 103:32-35.

- Pesis, E., Ackerman, M., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Feng, X., Apelbaun, A., Goren, R. & Prusky, D. (2002). Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 171-181.
- Prescha, A., Grajzer, M., Dedyk, M., & Grajeta, H. (2014). The antioxidant activity and oxidative stability of cold-pressed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(8), 1291–1301.
- Ramírez-Navas, J. S. (2006). *Liofilización de alimentos*. Colombia:ReCiTeIA.
- Rodriguez-Amaya, D.B. (2016). Structures and Analysis of Carotenoid Molecules. In C. Stange, (Ed.), *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function* (pp. 71-110). Switzerland: Springer International Publishing.
- Rodriguez-Sánchez D.G., Flores-García, M., Silva-Platas, C., Rizzo, S, Torre-Amione, G, De la Peña-Díaz, A, Hernández-Brenes, C, & García-Rivas G. (2014). Isolation and chemical identification of lipid derivatives from avocado (*Persea americana*) pulp with antiplatelet and antithrombotic activities. *Food & Function*, 6, 193–203.
- Rogel-Castellanos, I. (1999). Mejoramiento genético del aguacate en la fundación Salvador Sánchez Colín – CICTAMEX S.C. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5,43-48.
- Rosas-Saavedra, C., & Stange, C. (2016). Biosynthesis of Carotenoids in Plants: Enzymes and Color. In C. Stange, (Ed.), *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function* (pp. 35-70). Switzerland: Springer International Publishing.
- Ruíz-Sola, M.A. (2017). Biosíntesis de carotenoides: consideraciones generales. In A.J. Méndez-Martínez (Ed.), *Carotenoides en agroalimentación y salud* (pp.167-186). México: Editorial Terracota, S.A. de C.V.
- Salas, J.J., Sanchez, J., Ramli, U.S., Manaf, A.M., Williams, M., & Harwood, J.L. (2000). Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progress in Lipid Research*, 39, 151–180.
- Salveit, M.E. (1999). Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15, 279- 292.
- Samaniego-Russo, J.A. & Sánchez-Sánchez, E. (1999). Crecimiento y Producción de cuatro cultivos de aguacate (*Persea americana* Mill.), en el sur de Sonora, México. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 5,61-66.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). Consultado 26-07-2019 en <https://www.gob.mx/siap>
- Seymour, G. B. & Tucker, G.A. (1993). Avocado. In G.B. Seymour, J. Tayler & G.A. Trucker (Eds), *Biochemistry of fruit ripening* (pp. 53-81). London: Chapman and Hall.

- Takenaka, S. (2002). New Method for Ethephon ((2-Chloroethyl) phosphonic Acid) Residue Analysis, and Detection of Residual Levels in the Fruit and Vegetables of Western Japan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5, 7515–7519.
- Thompson, K. (2014). *Fruit and Vegetables: Harvesting, Handle and Storage*, Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Watada, A. E. 1986. Effects of ethylene on the quality of fruits and vegetables. *Food Technology*, 40, 82–85.
- Whiley, A.W., Schaffer, B. & Wolstenholme B.N. (2002). *The Avocado: Botany, Production and Uses*. Wallingford ,U.K.:CABI Publishing.
- Woolf, B.A., Cox, K.A., White, A. & Ferguson, I. B. (2002). Low temperature conditioning treatments reduce external chilling injury of 'Hass' avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 28,113-122.
- Woolf, B.A., Requejo-Tapia, C., Cox, K.A., Jackman, R.C., Gunson,A., Arpaia, M.L. & White, A. (2005) 1-MCP reduces physiological storage disorders of 'Hass' avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 35,43–60.
- Xuan, C.T. (2019). Virgin avocado oil: An emerging source of functional fruit oil. *Journal of Functional Foods*, 54, 381–392.
- Yahia, E.M. & Woolf, A.B. (2011) Avocado (*Persea americana* Mill.). In E. Yahia, (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (pp. 125-186). México: Woodhead Publishing.
- Zauberman, G., Fuchs, Y., Yanko, U. & Akerman, M. (1988). Response of Mature Avocado Fruit to Postharvest Ethylene Treatment Applied Immediately after Harvest. *HortScience*, 23(3), 588-589.
- Zhefeng, L., Silin, Z. & Don, G. (2009). Recent advances in ethylene research. *Journal of Experimental Botany*, 60, 3311–3336.

CAPITULO I. MADURACIÓN DE FRUTOS DE AGUACATE CULTIVARES

‘HASS’ Y ‘MÉNDEZ’ TRATADOS CON ETHEPHON

1.1 RESUMEN

Uno de los problemas postcosecha en aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’, es la heterogeneidad en la maduración de los frutos, debido a diferencias en el momento de amarre y la incapacidad para madurar en el árbol, situación que provoca inconsistencias en la calidad y diferencias en la respuesta a tecnologías de conservación y procesamiento. En postcosecha, la aplicación gas etileno en cámaras herméticas se ha utilizado para adelantar la maduración; sin embargo, se ha propuesto como alternativa el uso de liberadores de etileno en forma líquida (Ethephon), principalmente para el tratamiento de bajos volúmenes. El objetivo fue evaluar el efecto de la aplicación de dos concentraciones de Ethephon en el adelanto y homogeneización de la maduración de los cultivares de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’. Se cosecharon frutos con $23.4 \pm 0.5\%$ (‘Hass’) y $24.00 \pm 0.3\%$ (‘Méndez’) de materia seca; un grupo se sumergió en una solución de Ethephon 500 mg L^{-1} y otro con 1000 mg L^{-1} , ambos durante cinco minutos; los frutos tratados, más un control se almacenaron a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y $60 \pm 5\%$ de humedad relativa por 11 días. Se evaluaron cambios en las variables: velocidad de respiración, producción de etileno, pérdidas de peso, firmeza, cambio en color e índice de saturación en el epicarpio y concentración de fenoles totales en la pulpa. Los resultados revelaron que frutos de ‘Hass’ tratados con Ethephon 1000 mg L^{-1} y en ‘Méndez’ 500 mg L^{-1} , adelantaron el climaterio respiratorio y la producción autocatalítica de etileno, con relación al control. Asimismo, los frutos del cultivar ‘Méndez’ mostraron una mayor retención de la concentración de fenoles totales indicando una menor actividad de la enzima polifenol oxidasa. De acuerdo a criterios similares de calidad: los frutos tratados con Ethephon maduran en siete días, en tanto que los no tratados en nueve.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., maduración, etileno.

1.2 ABSTRACT

One of the problems in avocado 'Hass' and 'Méndez' postharvest, is the heterogeneous maturation of fruits, due to different times of fruit set and poor maturation capacity of the tree, this causes inconsistencies in quality and differences response to conservation and processing technologies. At postharvest, the application of ethylene gas in hermetic chambers has been used to advance ripening; however, the use of ethylene liberators in liquid form (Ethepon) has been proposed as an alternative, mainly as a treatment of low volumes of fruits. The objective was to evaluate the effect of two concentrations of Ethepon in the advancement and homogenization of 'Hass' and 'Méndez' avocado cultivars ripening. Fruits were harvested with $23.4\pm 0.5\%$ ('Hass') and $24.00\pm 0.3\%$ ('Méndez') of dry matter; one group was immersed in a solution of Ethepon 500 mg L^{-1} and the other in 1000 mg L^{-1} , both for five minutes; the treated fruits plus one control were stored at $20\pm 2^\circ\text{C}$ and $60\pm 5\%$ relative humidity for 11 days. Changes in the variables were evaluated: respiratory rate, ethylene production, weight loss, firmness, the color difference and epicarp saturation index and, total phenols in the pulp. The results revealed that fruits of 'Hass' treated with Ethepon 1000 mg L^{-1} and 'Méndez' 500 mg L^{-1} , advanced the climacteric respiratory and the autocatalytic ethylene production, in relation to the control. In addition, the fruits of the cultivar 'Mendez' showed greater retention of phenolics concentration indicating less polyphenol oxidase activity enzyme. In accordance with similar quality criteria: fruits treated with Ethepon will mature in seven days while those not treated will do it in nine.

Keywords: *Persea americana* Mill., ripening, ethylene.

1.3 INTRODUCCIÓN

En postcosecha, los frutos de aguacate ‘Hass’ presentan un comportamiento climatérico en el que, de acuerdo con Lallum *et al.* (2004), se identifican cuatro estados fisiológicos respecto a la respuesta de los frutos al etileno: (1) Inhibición, que constituye un periodo donde el fruto es relativamente insensible a la fitohormona; (2) Preclimatérico, en la que es sensible a etileno pero no ocurre producción autocatalítica; (3) Climatérico, con producción autocatalítica de etileno asociada al estímulo de los cambios inherentes a la maduración; y (4) Postclimatérico, con descenso en la producción de esta fitohormona. Este comportamiento permite asumir la factibilidad fisiológica de adelanto del proceso de maduración mediante el estímulo de la síntesis de etileno en frutos en estado preclimatérico. Uno de los problemas postcosecha en aguacate ‘Hass’ y en su caso ‘Méndez’, es la heterogeneidad en la maduración de los frutos debido a diferencias en el momento de amarre y la incapacidad de los frutos a madurar en el árbol, todo lo cual se traduce en inconsistencias en la calidad de los frutos, así como diferencias en la respuesta a la aplicación de tecnologías de conservación y procesamiento.

De acuerdo con diversos estudios (Watada, 1986; Takenaka, 2002; Thompson, 2014) la aplicación de etileno exógeno promueve la maduración y, con ello, se favorecen ciertas características tales como homogeneidad en el proceso de maduración, desarrollo de color tanto en cáscara como en pulpa y desarrollo del sabor y aroma característico. El ácido 2-cloroetil fosfónico (Ethepon) es un ácido orgánico líquido soluble en agua que, a un pH fisiológico (≥ 5), se hidroliza para formar etileno ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$), fosfato (H_2PO_4^-) y iones cloro (Cl^-), por lo que en postcosecha constituye una alternativa al uso de gas etileno para adelantar y homogenizar la maduración, lo que permite contar con frutos listos para su consumo en fresco o con fines de procesamiento. La cantidad de etileno liberado depende del pH de la solución y de la humedad relativa del ambiente; además la

efectividad de respuesta varía de acuerdo con la especie, cultivar, dosis, forma de aplicación y temperatura (Bondad 1976; Pokhrel, 2013). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de dos concentraciones de ácido 2-cloroetil fosfónico (Ethephon) en el adelanto y homogeneización de la maduración de los cultivares de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’.

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Se cosecharon frutos de aguacate cultivares ‘Hass’ y ‘Méndez’ con $23.4 \pm 0.1\%$ y $24.0 \pm 0.1\%$ de materia seca (MS), respectivamente, desarrollados en la zona productora de Salvador Escalante (Michoacán, México) localizado en una latitud de $19^{\circ} 27'$, longitud de $101^{\circ} 50'$, altitud de 2090 msnm, cuyo clima es templado subhúmedo con lluvias en verano y el suelo predominante es del tipo andosol. Previo al establecimiento del experimento se eliminaron aquellos frutos que presentaron daños externos y posteriormente se dividieron en 3 lotes de 38 frutos cada uno: un lote se dejó intacto (Control), otro se trató con una solución de 500 mg L^{-1} de ácido 2-cloroetil fosfónico y otro 1000 mg L^{-1} , ambos por inmersión durante cinco minutos. Las dos soluciones de ácido 2-cloroetil fosfónico se prepararon con el compuesto Ethrel 240® de BAYER al 21.70 % en peso de ethephon, ajustando cada una con una solución de NaOH (10 N) hasta pH 5. Los frutos tratados se almacenaron a $20 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $60 \pm 5 \%$ durante 11 días para evaluar su maduración en base a variables fisiológicas y biofísicas. Las variables fisiológicas incluyeron: velocidad de respiración, producción de etileno y pérdidas de peso; las dos primeras se determinaron diariamente por cromatografía de gases de acuerdo al método del espacio de cabeza descrito por Saltveit y Sharaf (1992); para esto, de cada tratamiento se tomó una muestra al azar de ocho frutos, con los cuales se establecieron cuatro unidades experimentales (repeticiones) de dos frutos cada una; estos se colocaron en recipientes con cerrado hermético de 2.12 L durante una hora, tras de lo cual se tomó una muestra de un mL del gas del espacio de cabeza y se inyectó a un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard, modelo 5890 serie II), con columna tipo abierta, empaque de capa porosa de silica de gel y conectado simultáneamente a un detector de ionización de flama (FID) y a un detector de conductividad térmica (TCD). Las condiciones de operación fueron: temperatura de la columna $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$, FID $180 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y TCD $180 \text{ }^{\circ}\text{C}$; se utilizó un estándar de

CO₂ con 500 μL L⁻¹ y de etileno con 20 μL L⁻¹, ambos de INFRA®. Los datos de respiración se reportaron en mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ y para etileno μL C₂H₄ kg⁻¹ h⁻¹. Las pérdidas de peso se determinaron midiendo, cada dos días, el peso de cinco frutos por tratamiento de manera individual con una balanza digital ALSEP EY-2200; para la obtención de datos se aplicó la ecuación [% Pérdida de peso = (Peso inicial – Peso final) / Peso inicial x 100].

Como variables biofísicas se evaluaron los cambios en la firmeza de la pulpa y en el color del epicarpio. La firmeza se determinó con un texturómetro (Wagner Force Five modelo FDV-30) con puntal cónico de 7 mm de diámetro; las medidas se realizaron cada dos días en una muestra de cinco frutos por tratamiento, para lo cual se retiró la cáscara de la zona ecuatorial del fruto y se midió la fuerza necesaria para penetrar la pulpa. Los valores se reportaron en Newtons (N). El color del epicarpio se determinó, de manera individual, en una muestra de cinco frutos por tratamiento, utilizando un colorímetro de reflexión Hunter Lab (Reston Virginia modelo D25) para determinar los valores triestímulos en el espacio L*, a* y b*. Dichos valores se usaron para calcular el índice de saturación o croma [$C=(a^2+b^2)^{1/2}$] y el índice de cambio de color [$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$].

Como variable bioquímica se evaluó el contenido de fenoles totales, se realizó la extracción a partir de 1.0 g de pulpa del fruto y se le agregó 10 mL de metanol-agua (8:2 v/v) para después ser mezclado hasta lograr un macerado homogéneo, la cuantificación del contenido de fenoles totales se llevó a cabo según el método propuesto por Pío-León et al. (2012) con algunas modificaciones, donde a una alícuota de 200 μL de cada muestra se le agregó, en el siguiente orden, 2.5 mL de agua destilada, 100 μL del reactivo Folin Ciocalteu-agua (1:1 v/v) y 200 μL de Na₂CO₃-agua (2:8 p/v); luego, se dejaron reposar bajo condiciones de oscuridad por 30 min y, posteriormente, se realizaron las lecturas a 765 nm en un espectrofotómetro digital (GENESYS 10V Thermo Electron

Corporation). Con el uso de una curva de calibración (Apéndice 1), se obtuvieron los resultados, los cuales, se reportaron como mg de ácido gálico 100 g^{-1} de pulpa fresca (mg AG 100 g^{-1} pf).

Los datos se analizaron estadísticamente calculando en todas las variables la media y desviación estándar empleando el paquete estadístico Statistical Analysis System for Windows Version 9.0. (SAS, 2002); asimismo se realizó una comparación múltiple de muestras, para cada cultivar ('Hass' y 'Méndez'), aplicando la prueba de Kruskal-Wallis y, una comparación de rangos medios, con apoyo del paquete estadístico INFOSTAT/L Versión 2018/ (Balzarini et al., 2008).

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los frutos de todos los tratamientos presentaron el patrón climatérico de respiración durante la maduración (Figura 1.1). En el cultivar Hass el tratamiento con 1000 mg L⁻¹ de Ethephon, el climaterio respiratorio resultó más elevado con un máximo de 120.71 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ tras ocho días de almacenamiento a 20 ± 2° C, respecto a los tratamientos con 500 mg L⁻¹ (81.85 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) y el control (91.97 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹), este último tras nueve días a las mismas condiciones (Figura 1.1-A); por su parte, en los frutos del cultivar Méndez el tratamiento con 500 mg L⁻¹ de Ethephon fueron los que mostraron la mayor velocidad de respiración con un máximo de 157.50 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a los 10 días de almacenamiento, seguido del control (131.69 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) y tratamiento con 1000 μL L⁻¹ (98.01 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹), después de 11 días a 20 ± 2 °C (Figura 1.1-B).

Con relación a etileno, en ‘Hass’ la producción autocatalítica se presentó a los cinco días de almacenamiento en los frutos tratados con 1000 mg L⁻¹ y a los siete días en los otros dos tratamientos (Figura 1.1-C); en ‘Méndez’, los tratamientos con 500 y 1000 mg L⁻¹ presentaron la producción autocatalítica a los siete días, en tanto que en el control ocurrió a los ocho días a 20 ± 2° C (Figura 1.1-D). En frutos de aguacate, el inicio del proceso de maduración está relacionado con los cambios en la sensibilidad a etileno en la fase preclimatérica, lo que se traduce en el momento en que ocurre la producción autocatalítica que eleva la producción de esta fitohormona hasta una concentración de estímulo fisiológico que favorece los cambios relacionados con la maduración (Lallum *et al.*, 2004; Saltveit, 2019); además se ha reportado (Biale y Young, 1981; Saltveit, 2019) que los tratamientos con etileno exógeno aceleran la respiración y adelantan el climaterio respiratorio. Los resultados obtenidos permiten asumir que el tratamiento con Ethephon en dosis de 1000 mg L⁻¹ en el cultivar Hass y 500 mg L⁻¹ en el cultivar Méndez, aumentaron la

sensibilidad al etileno liberado y adelantaron el inicio de la producción autocatalítica, respuesta que además fue asociada con el aumento en la velocidad de respiración en los dos cultivares (Apéndice 2 y 3).

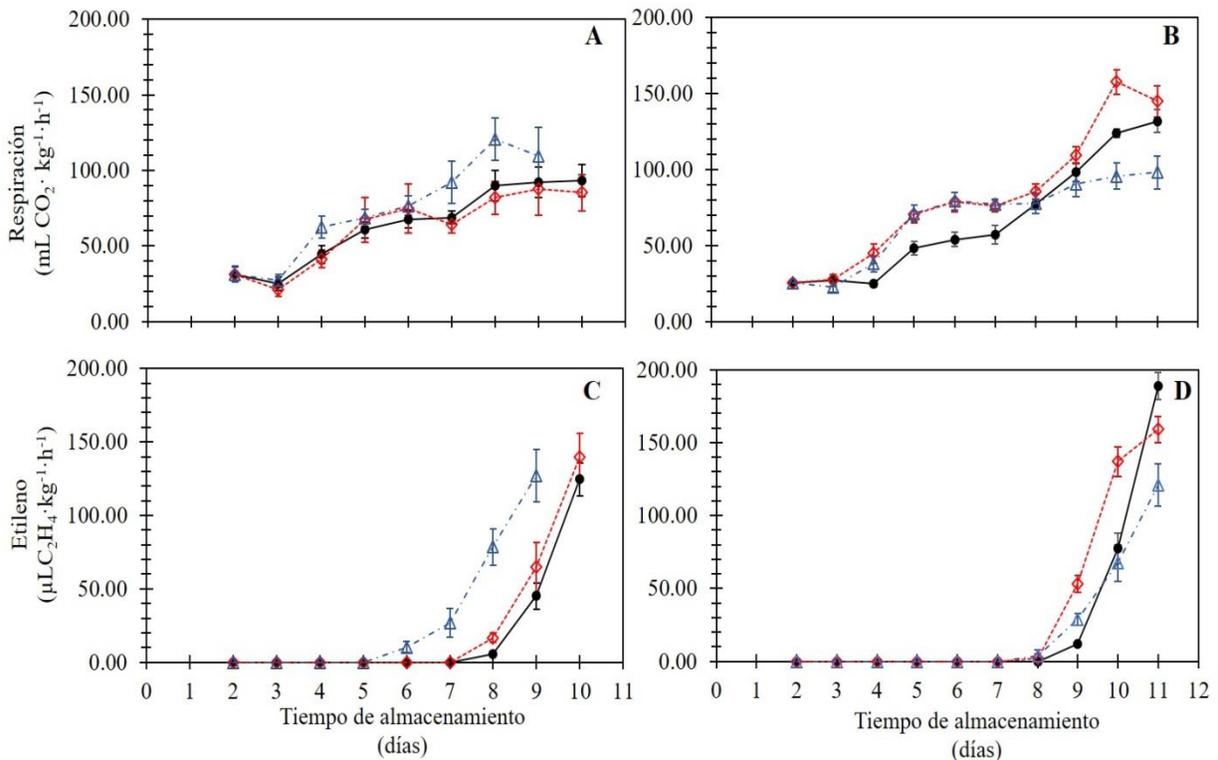


Figura 1.1. Intensidad respiratoria y producción de etileno en frutos de aguacate ‘Hass’ (A, C) y ‘Méndez’ (B, D) tratados con 0 (●), 500 (◇) y 1000 (△) mg L⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 4.

Durante la maduración las pérdidas de peso se incrementaron conforme avanzó el tiempo de almacenamiento (Figura 1.2). En los frutos del cultivar Hass éstas alcanzaron 5.72, 6.09 y 6.06 % para el control, Ethephon 500 mg L⁻¹ y Ethephon 1000 mg L⁻¹, respectivamente, después nueve días de exposición a 20 ± 2° C (Figura 1.2-A); los frutos tratados con Ethephon mostraron severo deterioro tras 11 días de almacenamiento (datos no mostrados). En el cultivar Méndez después del mismo periodo de almacenamiento, las pérdidas de peso resultaron menores en el tratamiento

Ethephon 500 mg L⁻¹ (4.28 %), respecto al control (5.32 %) y Ethephon 1000 mg L⁻¹ (5.69 %), no se observaron diferencias significativas. (Figura 1.2-B). Las pérdidas de peso durante el almacenamiento, constituye uno de los principales factores que afectan de manera importante la maduración y calidad de los frutos de aguacate; de acuerdo con algunos investigadores (Bower y Jackson, 2003; Bower y Papl, 2006) pérdidas por arriba del 6 % resultan críticas, lo que permite asumir que, en ambos cultivares, un almacenamiento menor a nueve días resulta aceptable en términos de esta variable. Se ha reportado (Martín y Rose, 2014) que la cantidad de ceras cuticulares acumuladas durante el desarrollo de los frutos, influye de manera importante en la sensibilidad a pérdidas de agua durante el manejo postcosecha; las menores pérdidas de peso mostradas por el cultivar Méndez permite asumir diferencias en la deposición de ceras cuticulares entre los frutos de los dos cultivares.

Derivado de los procesos fisiológicos característicos de la maduración, la firmeza de los frutos disminuye por modificaciones en la estructura de las paredes celulares, especialmente por la degradación enzimática de los polímeros presentes en ella (Salisbury y Ross, 1994; Wakabayashi, 2000; Prasanna *et al.*, 2007). En los dos cultivares la firmeza de la pulpa disminuyó conforme avanzó el proceso de maduración (Figura 1.2). Tras nueve días de almacenamiento en los frutos del cultivar Hass la firmeza disminuyó desde un promedio de 24.22 ± 0.4 N hasta 9.24 ± 0.45 N (Control), 7.20 ± 0.29 N (500 mg L⁻¹) y 5.49 ± 0.14 N (1000 mg L⁻¹), con 11 días ocurrió deterioro por senescencia avanzada (Figura 1.2-C); en el cultivar Méndez la disminución después de nueve días fue desde un promedio de 26.37 ± 2.4 N hasta 11.02 ± 0.50 N (Control), 8.94 ± 0.94 (500 mg L⁻¹) y 8.72 ± 0.76 N (1000 mg L⁻¹) (Figura 1.2-D); si bien no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, los frutos del control mostraron una firmeza mayor respecto a los frutos tratados con Ethephon, lo que sugiere un mayor avance en la maduración de los frutos.

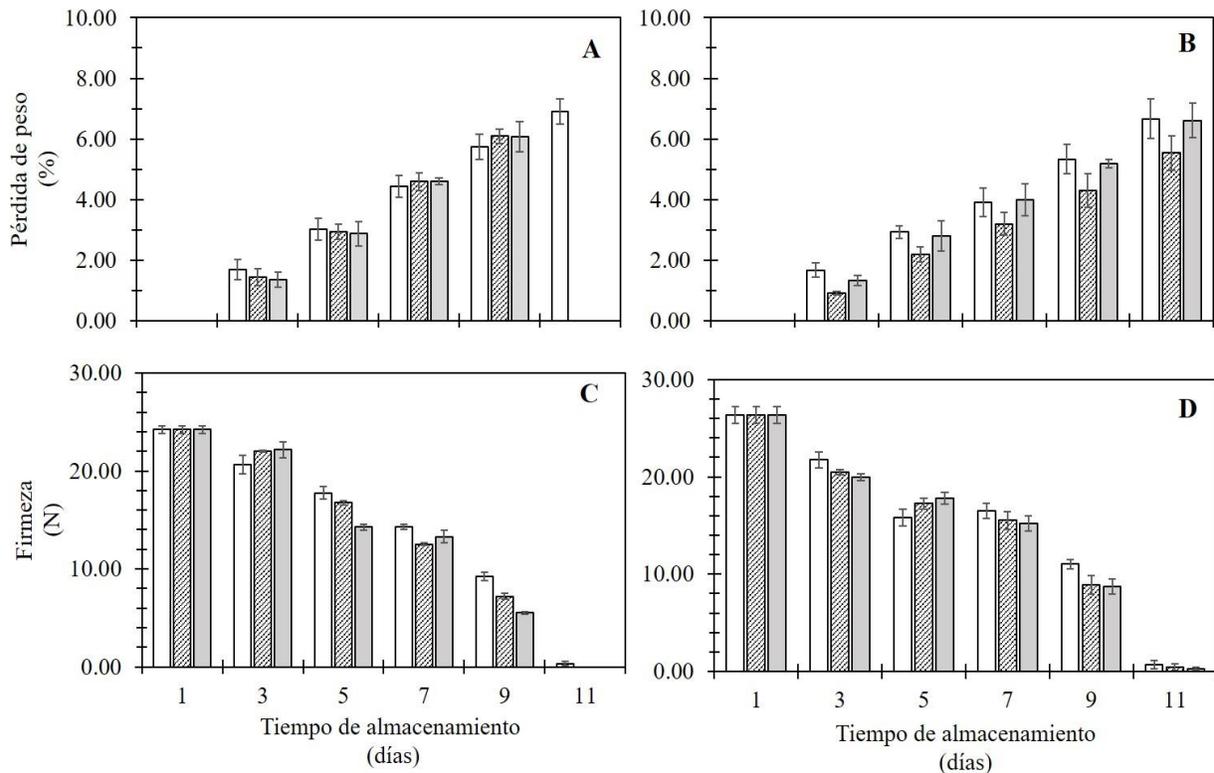


Figura 1.2. Comportamiento de firmeza y pérdida de peso en frutos de aguacate ‘Hass’ (A, C) y ‘Méndez’ (B, D) tratados con 0 (□), 500 (▨) y 1000 (■) mg L⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 5.

Durante la maduración a 20 ± 2°C, el cambio en color (ΔE) se incrementó de manera importante, a partir del séptimo día y fue significativamente diferente, respecto al valor inicial, a los 11 días de almacenamiento (Figura 1.3). Al onceavo día de almacenamiento, se detectaron diferencias significativas mínimas entre tratamientos para el cultivar Hass; sin embargo, en el cultivar Méndez se observó un incremento significativo en el ΔE en los frutos tratados con Ethephon (500 y 1000 mg L⁻¹) con respecto al control (Figura 1.3-D). Por su parte, el índice de saturación tendió a disminuir durante la maduración, con diferencia significativa, respecto al valor inicial, tras 11 días de almacenamiento (Figura 1.4), lo que resultó indicativo de colores opacos característicos de

frutos en fase de senescencia; es de señalar que de acuerdo a esta variable los frutos con 7-9 días de maduración presentan un color con tonalidad brillante, sin diferencias significativas, asimismo los frutos tratados con Ethephon presentaron tonalidad más oscura. En este experimento no se observaron cambios importantes en otros parámetros de color (ángulo de tono y luminosidad). Se ha señalado (Cox *et al.*, 2004) que el cambio en color del epicarpio durante la maduración de frutos de aguacate ‘Hass’, se caracteriza por la disminución del contenido de clorofila, del índice de saturación (C) y del ángulo de tono ($^{\circ}$ Hue); además por el aumento del compuesto Cyanidin 3-O-glucoside responsable del color negro.

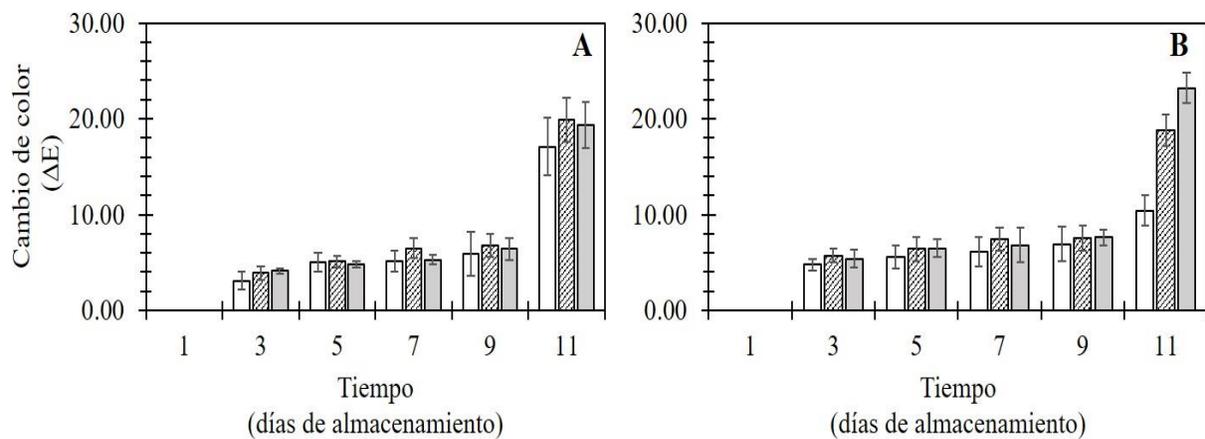


Figura 1.3. Cambio de color en frutos de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) tratados con 0 (\square), 500 (▨) y 1000 (■) mg L^{-1} de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 $^{\circ}\text{C}$. Medias \pm DE, n = 5.

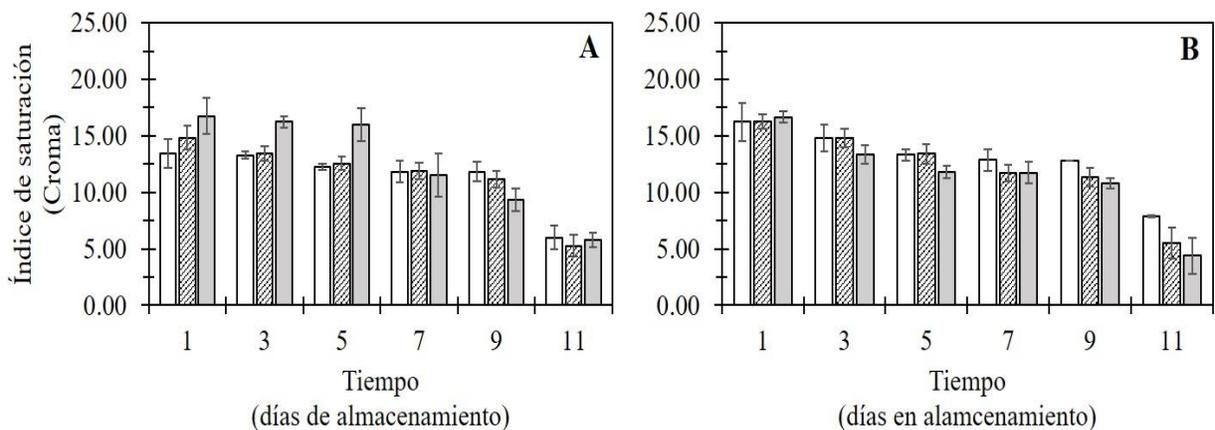


Figura 1.4. Índice de saturación en frutos de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) tratados con 0 (□), 500 (▨) y 1000 (■) mg L⁻¹ de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias ± DE, n = 5.

La concentración de fenoles totales disminuyó durante el proceso de maduración a 20 ± 2°C , observándose un menor contenido en los frutos de ambos cultivares tratados con 1000 mg L⁻¹ de Ethephon, una vez alcanzada la madurez de consumo; sin embargo la mínima concentración en ‘Hass’ se alcanzó al noveno día mientras que en los frutos ‘Méndez’ se detectó hasta el onceavo día (Figura 1.5). Asimismo, se observa una mayor retención de los compuestos fenolicos en los frutos de aguacate ‘Méndez’ durante el proceso de maduración comparado con los tratamientos del cultivar ‘Hass’, tal como lo mencionan Villa-Rodríguez et al. (2020) y Sousa et al. (2014) el contenido de compuestos fenolicos se ve influenciado en gran medida por el cultivar, el proceso de maduración, los tratamientos aplicados durante pre- y postcosecha, así como condiciones agronomicas, por lo que el contenido de fenoles reportado en este estudio puede ser parcialmente explicado por estos factores. Villa-Rodriguez et al. (2011) reportaron para pulpa de aguacate ‘Hass’ una concentración de 10 mg de AG 100g⁻¹ pf en estado de madurez fisiologica y de 35 mg de AG 100g⁻¹ pf en madurez de consumo , lo cual difiere con lo encontrado en el presente trabajo,

en donde se encontró poco mas de 60 mg de AG 100g^{-1} pf inicial y en estado de madurez de consumo alrededor de 40 mg de AG 100g^{-1} pf.

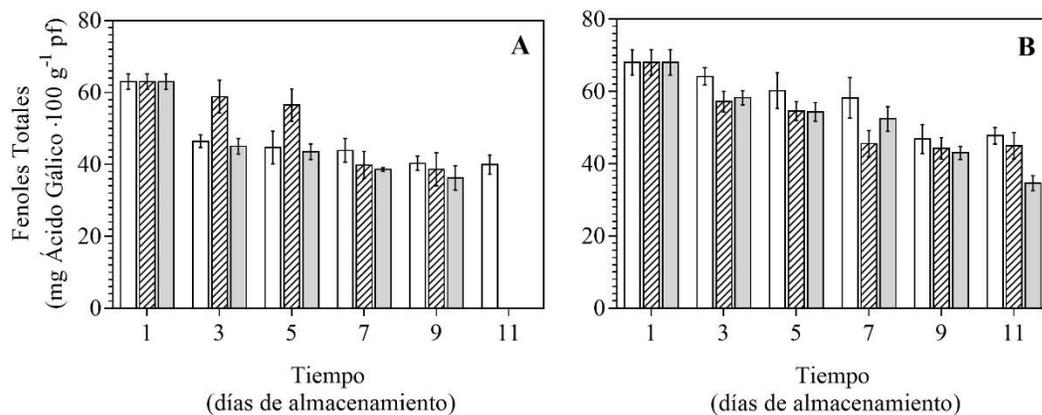


Figura 1.5. Concentración de fenoles en frutos de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) tratados con 0 (\square), 500 (▨) y 1000 (▩) mg L^{-1} de Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C. Medias \pm DE, $n = 5$.

1.6 CONCLUSIONES

El tratamiento de frutos de aguacate cultivares Hass y Méndez con el liberador de etileno Ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C, favorece el proceso de maduración al adelantar el climaterio respiratorio y producción autocatalítica de etileno; esta respuesta se manifiesta principalmente al aplicar una solución con 1000 mg L^{-1} en ‘Hass’ y 500 mg L^{-1} en ‘Méndez’.

Con firmeza de la pulpa (10-11 N), color del epicarpio (ΔE 6-7), índice de saturación (12-13), pérdidas de peso (< 6 %) y fenoles totales (40-45 mg AG 100g^{-1} pf), el periodo de maduración se obtiene después nueve días en frutos sin ningún tratamiento; en los frutos tratados con Ethephon estas características de calidad se obtienen tras siete días con: firmeza 14-16 N, pérdidas de peso 4-5 %, ΔE 6-8, índice de saturación 12-14 y 40-50 mg AG 100g^{-1} pf; además, se obtiene una mejor respuesta en frutos tratados con 1000 mg L^{-1} en ‘Hass’ y 500 mg L^{-1} en ‘Méndez’.

1.7 LITERATURA CITADA

- Balzarini, M.G., Gonzale, L., Tablada M., Casanoves, F., Di Rienzo, J.A., Robledo C.W. (2008). *Infostat. Manual del Usuario*. Córdoba, Argentina:Editorial Brujas.
- Biale, J.B. and Young, R.E. (1981). Respiration and ripening in fruits – retrospect and prospect. In Friend, J. and Rhodes, M.J.C (Eds). *Recent Advances in the Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp 1-39) London, UK:Academic Press,.
- Bondad, N. D. (1976). Response of some tropical and subtropical fruits to pre- and post-harvest applications of ethephon. *Econ. Bot.* 30:67-80.
- Bower, J. P. and Papli, G. (2006). Effect of fruit coatings and packaging on chilling injury of ‘Hass’ avocados. *South African Avocado Growers’ Association Yearbook*, 29:69-72.
- Bower, J.P. and Jackson, J. (2003). Effect of fruit coating and packaging on external and internal quality. *South African Grower’s Association Yearbook.*, 26:15-19.
- Cox, A.K.; McGhie, T.K.; White, A. and Woolf A.B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of ‘Hass’ avocado fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 31:287-294.
- Lallum, N.; Punter, M.; Haynes, G.; Pidakala, P. and Burdon, J. (2004). Role of water loss in ripening of ‘Hass’ avocados. *New Zealand Avocado Growers Association Annual Research Report*, 4: 70–79.
- Martin, L.B. and Rose J.K. (2014). There’s more than one way to skin a fruit: Formation and functions of fruit cuticles. *J. Exp. Bot.* 65 (16): 4639-4651.
- Pío-León, J.F., Díaz-Camacho, S.P., Montes-Avila, J., López-Angulo, G. & Delgado-Vargas, F. (2012). Nutritional and nutraceutical characteristics of white and red *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth fruits. *Fruits*, 68(5), 397-408.
- Pokhrel, P. (2013). Use of Higher Ethylene Generating Fruits for Ripening as an Alternative to Ethylene. *J. Food Sci. Technol. Nepal*, 8: 84-86.
- Prasanna, V.; Prabha, T.N.; and Tharanthan, R.N. (2007). Fruit Ripening Phenomena-An Overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 47:1-19.
- Salisbury, F. and Ross, C. (1994). *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericana (Ed.). México. 759 p.
- Saltveit, M. E. (2019). Respiratory Metabolism. In: Yahia, E. M. and Carrillo-López, A. (Eds.), *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp 73-91). United Kingdom:Woodhead Publishing
- Saltveit, M.E., and Sharaf, A.R. (1992). Ethanol inhibits ripening of tomato fruit harvested at various degrees of ripeness without affecting subsequent quality. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 117: 793–798.

- Sousa, A., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A. and Pereira, J.A. (2014). Antioxidant activity and phenolic composition of *Cv. Cobrançosa* olives affected through the maturation process. *Journal of Functional Foods*, 11:20-29.
- Statistical Analysis System (SAS). 2002. Version 9.0. SAS Institute N. C. USA.
- Takenaka, S. (2002). New Method for Ethephon ((2-Chloroethyl) phosphonic Acid) Residue Analysis, and Detection of Residual Levels in the Fruit and Vegetables of Western Japan. *J. Agric. Food Chem.* 5: 7515–7519.
- Thompson, K. (2014). *Fruit and Vegetables: Harvesting, Handle and Storage*, 3rd edition. UK, Oxford:Wiley-Blackwell, 1008 p.
- Villa-Rodríguez, J.A, Molina-Corral, F.J., Ayala-Zavala, J.F., Olivas G.I. and González-Aguilar, G.A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of ‘Hass’ avocado. *Food Research International*, 44:1231-1237.
- Villa-Rodríguez, J.A., Yahia, E.M., González-León, A., Ifie, I., Robles-Zepeda, R.E., Domínguez-Avila, J.A. and González-Aguilar, G.A. (2020). Ripening of ‘Hass’ avocado mesocarp alters its phytochemical profile and the *in vitro* cytotoxic activity of its methanolic extracts. *South African Journal of Botany*, 128:1-8.
- Wakabayashi, K. (2000). Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. *J. Agric. Food Chem.* 113: 231–237.
- Watada, A. E. (1986). Effects of ethylene on the quality of fruits and vegetables. *Food Technol.* 40: 82–85.

CAPITULO II. CAMBIOS EN LA CALIDAD DE PULPA DE AGUACATE 'HASS' Y 'MÉNDEZ' POR EFECTO DEL SECADO POR LIOFILIZACIÓN

2.1 RESUMEN

La elevada perecibilidad del aguacate, así como su susceptibilidad a daños por frío durante el manejo postcosecha y la oxidación de la pulpa que afecta la calidad del mismo, ha obligado a emplear nuevas técnicas de conservación del fruto que inhiban el oscurecimiento enzimático y que incrementen su vida de anaquel sin afectar su calidad. La deshidratación es una de las técnicas que se han empleado para resolver los problemas durante el manejo postcosecha; por lo que se ha optado por tecnologías como la liofilización con la finalidad de evitar la degradación de la pulpa. Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue determinar cambios en la calidad de pulpa de aguacate 'Hass' y 'Méndez' en estado de madurez de consumo, luego de un secado por liofilización. Para lo cual se cosecharon frutos de aguacate 'Hass' y 'Méndez' los cuales se colocaron en una solución de 500 mg L⁻¹ de ácido 2-cloroetil fosfónico durante 5 minutos para favorecer una maduración homogénea. Se evaluó el contenido de aceite, el color de pulpa, se realizó la extracción y cuantificación de carotenoides y fenoles totales; además se realizó microscopia electrónica de barrido en pulpa en estado de madurez fisiológica de consumo, pulpa congelada y liofilizada. La liofilización permitió incrementar la extracción de compuestos bioactivos, carotenoides y fenoles, así como aceite en ambos cultivares; además permitió mantener un bajo índice de oscurecimiento con respecto a los no liofilizados. Los antioxidantes en las rebanadas de pulpa de aguacate tuvieron un efecto positivo sobre la pulpa de aguacate, ya que los tres tratamientos mostraron mayores valores en las concentraciones de carotenoides y fenoles totales, así como menor índice de oscurecimiento. Se observaron cambios en la estructura de la pared celular, cambios mayormente significativos en el cultivar Hass.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., Microscopia Electrónica de Barrido, índice de oscurecimiento.

2.2 ABSTRACT

The high perishability of avocado, as well as its susceptibility to cold damage during post-harvest handling and the oxidation of the pulp that affects its quality, has forced the use of new fruit preservation techniques that inhibit enzymatic darkening and increase its shelf life without affecting its quality. Dehydration is one of the techniques has been used to solve problems during postharvest handling; therefore, technologies such as lyophilization have been chosen in order to avoid the degradation of the pulp. Therefore, the objective of the investigation was to determine changes in the quality of avocado pulp 'Hass' and 'Méndez' in a state of consumption maturity, after drying by lyophilization. For which Hass 'and' Méndez 'avocado fruits were harvested, which were placed in a solution of 500 mg L⁻¹ of 2-chloroethyl phosphonic acid for 5 minutes to promote homogeneous ripening. The oil content, the pulp colour was evaluated, the extraction and quantification of carotenoids and total phenols was performed; In addition, scanning electron microscopy was performed in pulp in the state of physiological maturity of consumption, frozen and lyophilized pulp. Freeze-drying allowed increasing the extraction of bioactive compounds, carotenoids and phenols, as well as oil in both cultivars; it also allowed maintaining a low rate of darkening with respect to non-lyophilized ones. The antioxidants in avocado pulp slices had a positive effect on avocado pulp, since all three treatments showed higher values in carotenoid and total phenolic concentrations, as well as lower darkening index. Changes in the structure cell wall was observed mostly significant changes in the Hass cultivar.

Keywords: *Persea americana* Mill., Scanning Electron Microscopy, browning index.

2.3 INTRODUCCIÓN

La importancia del aguacate (*Persea americana* Mill.) en México radica en los beneficios que otorga a todos los participantes de la cadena productiva, ya que es el principal productor y exportador, siendo el estado de Michoacán el que produce cerca del 80% de la producción nacional; no obstante del total de la producción solo se exporta alrededor del 27% (FAOSTAT, 2019; SIAP, 2019).

La elevada perecibilidad del aguacate, dada por su comportamiento del tipo climatérico y su elevada producción de etileno, así como por su susceptibilidad a daños por frío durante el manejo poscosecha y la oxidación de la pulpa que afecta la calidad del mismo, ha obligado a emplear nuevas técnicas de conservación del fruto que inhiban el oscurecimiento enzimático y que incrementen su vida de anaquel sin afectar su calidad. La deshidratación es una de las técnicas que se han empleado para resolver los problemas durante el manejo poscosecha; sin embargo los métodos convencionales de secado son inadecuados por la degradación que le causa a la pulpa (Arriola-Guevara *et al.* 2006).

La liofilización es una de las alternativas que ofrece calidad, porque mantiene las propiedades mecánicas y sensoriales asociadas a los componentes volátiles de los alimentos; sin embargo este proceso es dependiente del grado de madurez del fruto y tipo de congelación empleada antes del proceso, ya que influye en la textura del producto liofilizado (Esteller *et al.*, 2005; Marques *et al.*, 2006; Castro, 2011). La disminución de la actividad de agua de un producto liofilizado es una de las principales ventajas que ofrece esta técnica, ya que se disminuyen los problemas microbiológicos y se inhiben las reacciones bioquímicas, excepto las de oxidación. A pesar de lo anterior, es de importancia asegurar la calidad, es decir se deben garantizar buenas prácticas de elaboración del producto.

Las tendencias actuales indican que el consumo de productos de conveniencia (fácil de adquirir, preparar, consumir), saludables y que otorguen un sabor agradable, se incrementa (Clementz y Delmoro, 2011), por lo que los productos liofilizados pueden ser una opción, en este caso, a partir de aguacate 'Hass' y 'Méndez ya que este fruto posee, además de capacidad antioxidante y ácidos grasos insaturados, compuestos nutracéuticos tales como, vitamina E, luteína y β -sitosterol, los cuales tienen una influencia positiva sobre los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares. Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue determinar cambios en la calidad de pulpa de aguacate 'Hass' y 'Méndez' en estado de madurez de consumo, luego de un secado por liofilización.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y tratamientos

Se cosecharon frutos de aguacate ‘Hass’ (251.76 ± 15.07 g peso y 23.67 ± 0.69 % materia seca) y ‘Méndez’ (244.13 ± 14.57 g peso y 22.52 ± 0.70 % materia seca) en noviembre de 2017, en un huerto comercial Meza de Huizto, ubicado en el municipio de Salvador Escalante, estado de Michoacán, México. Previo al establecimiento del experimento se eliminaron aquellos frutos que presentaron daños externos y posteriormente se colocaron en una solución de 500 mg L^{-1} de ácido 2-cloroetil fosfónico durante 5 minutos. La solución de ácido 2-cloroetil fosfónico se preparó con el compuesto Ethrel 240® de BAYER al 21.70 % en peso de ethephon, ajustando el pH con una solución de NaOH (10 N) hasta alcanzar pH 5. Los frutos tratados se almacenaron a 20 ± 2 °C y humedad relativa de 60 ± 5 % durante 7 días para su maduración. Una vez alcanzada la madurez de consumo ‘Hass’ (8.34 ± 1.05 N) y ‘Méndez’ (9.14 ± 1.58 N) se procedió a obtener rebanadas de 5 mm de grosor, posteriormente se dividieron en cuatro lotes de 60 rebanadas cada uno: un lote se dejó intacto, (Control), otro se trató con una solución de 500 mg L^{-1} de ácido ascórbico (T1), el siguiente se empleó una solución de 500 mg L^{-1} de ácido cítrico (T2) y finalmente, se usó una solución conformada por 500 mg L^{-1} de ácido ascórbico y 500 mg L^{-1} de ácido cítrico (T3), las rebanadas se sumergieron por un minuto en las soluciones. Inmediatamente, se colocaron en nitrógeno líquido (-195°C), luego de 15 minutos se trasladaron a congelación de -64°C , hasta su secado por liofilización (LABCONCO Corp. Kansas, MO, USA) a 16 Pa y -47.0°C por 72 horas. Las variables se evaluaron en rebanadas en estado fresco y deshidratadas.

Curva de Secado. Las rebanadas de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’ se colocaron en el liofilizador (LABCONCO Corp. Kansas, MO, USA) a 16 Pa y -47.0°C , se tomaron muestras a diferentes tiempos de secado (0, 24, 48, 72, 96 h). Las muestras obtenidas se colocaron en crisoles (5 crisoles

de cada variedad) los cuales se introdujeron a una mufla a 250-300°C hasta alcanzar peso constantes (3 horas aproximadamente). Se calculó el % de humedad por diferencia de pesos.

Contenido de aceite. El contenido de aceite se determinó a partir de muestras secas empleando el método descrito por Carvalho *et al.* (2014). Una muestra de 10 g de pulpa seca de aguacate fue usada para extraer los lípidos por el método Soxhlet por 4-6 horas usando éter de petróleo como solvente. El porcentaje de aceite en la pulpa se calculó con la siguiente ecuación y se expresó como % (p/p).

$$\text{Contenido de aceite (\% p/p)} = \frac{\text{Materia Seca (\%)} * \text{Peso del aceite (g)}}{\text{Peso de pulpa seca (g)}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Color de pulpa. Se usó un colorímetro de reflexión Hunter Lab (Reston Virginia modelo D25) con el sistema CIELab para determinar los valores triestímulo en el espacio L*, a* y b*. Dichos valores se usaron para determinar la luminosidad (*L Hunter*), índice de saturación [Chroma = $(a^2+b^2)^{1/2}$], ángulo de tono [$\text{hue}^\circ = \tan^{-1} (b/a)$] e índice de oscurecimiento (BI) reportado por Souza *et al.* (2015) (Ecuación 2 y 3).

$$BI = \frac{100 (A-0.31)}{0.172} \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$A = \frac{a+(1.75 \cdot L)}{(5.645 \cdot L)+a-(3.021 \cdot b)} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Extracción y cuantificación de pigmentos carotenoides totales. De acuerdo con el método descrito por Gross (1987) y la AOAC (1990) para la extracción y cuantificación de carotenoides, se pesaron 20 g de pulpa fresca y 2.0 g de pulpa seca, se le adicionaron 10 mL de acetona y se dejó reposar por 48 h a 4° C y en oscuridad. Posteriormente, se trituró en mortero y se lavó con acetona (2 veces) para obtener una solución acetona-carotenoides la cual, se transfirió en un en un embudo de separación. Después, se agregó 20 mL de éter de petróleo y 100 mL de agua, se dejó reposar por 10 min. De las 2 fases formadas, se desechó la capa inferior y se repitió la operación por dos

veces más, para obtener la mezcla éter de petróleo-carotenos. A esta última, se le adicionó 10 mL de NaOH al 40%, lavando posteriormente con agua destilada hasta eliminar el hidróxido de sodio. Enseguida, se lavó con 10 mL de sulfato de sodio (Na₂SO₄). El contenido se aforó con éter de petróleo hasta un volumen conocido y se hizo la lectura en espectrofotómetro (GNESYS 10V Thermo Electron Corporation) a 454 nm. Los datos se expresaron como concentración de carotenos totales (mg 100g⁻¹ de ps).

$$\mu\text{g de } \beta\text{-caroteno g}^{-1} \text{ tejido} = \frac{A*V*10^6}{E_{1\text{ cm}}^{1\%}*100*p} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde,

A: Absorbancia a 454 nm

V: Volumen final del extracto (mL)

$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$: Coeficiente de extinción de β -caroteno (2500)

p: peso de la muestra (g)

Fenoles Totales. Se realizó la extracción a partir de 1.0 g de pulpa fresca y, en el caso de la pulpa liofilizada, se emplearon 250 mg de pulpa seca, se le agregó 10 mL de metanol-agua (8:2 v/v) para después ser mezclado hasta lograr un macerado homogéneo, la cuantificación del contenido de fenoles totales se llevó a cabo según el método propuesto por Pío-León et al. (2012) con algunas modificaciones, donde a una alícuota de 200 μ L de cada muestra se le agregó, en el siguiente orden, 2.5 mL de agua destilada, 100 μ L del reactivo Folin Ciocalteu-agua (1:1 v/v) y 200 μ L de Na₂CO₃-agua (2:8 p/v); luego, se dejaron reposar bajo condiciones de oscuridad por 30 min y, posteriormente, se realizaron las lecturas a 765 nm en un espectrofotómetro digital (GENESYS 10V Thermo Electron Corporation). Con el uso de una curva de calibración (Apéndice 1), se obtuvieron los resultados, los cuales, se reportaron como mg de ácido gálico 100 g⁻¹ de pulpa fresca o pulpa seca, según sea el caso (mg AG 100 g⁻¹ ps).

Microscopia Electrónica de Barrido. Para la observación microscópica se empleó pulpa de aguacate en estado de madurez fisiológica, de consumo, congelada a -64°C y liofilizada en estado de madurez de consumo. Las muestras se fijaron en soluciones de glutaraldehído al 3.0 %, y se lavaron con buffer de fostato sorensen (pH 7.1 0.1 M) tres veces cada 10 min. Posteriormente, las muestras se agregaron a una solución de tetra óxido de osmio al 0.25% por dos horas, transcurrido el tiempo se colocaron en agua desinozada por 30 minutos. Se realizaron lavados con etanol a concentraciones graduales (30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 %) por 40 minutos cada uno y al 100 % dos veces por 20 min. Las muestras se secaron en presencia de CO_2 por 40 minutos (Sandri-780A), se montaron en portamuestras de platón y se recubrieron con oro en una ionizadora de metales (Ion Sputter JFC-1100, Jeol, Fine Coat) por 15 min. Se observaron en un microscopio electrónico de barrido (JEOL- JSM 6390) operando a 10 Kv.

Análisis experimental. Se realizó una comparación múltiple de muestras, para cada cultivar ('Hass' y 'Méendez'), aplicando la prueba de Kruskal-Wallis y, una comparación de rangos medios, con apoyo del paquete estadístico INFOSTAT/L Versión 2018/ (Balzarini et al., 2008).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La liofilización reduce la humedad y la actividad de agua, disminuyendo así la probabilidad de contaminación microbiológica; esto lo convierte en una alternativa de comercialización de frutos con fines de incremento de vida de anaquel; sin embargo, el tiempo de liofilización de un producto depende en gran medida del espesor de la materia (Márquez-Aquino y Vergara-Balderas, 2009; Marques et al., 2009; Muñoz-López et al., 2018). En la Figura 1, se observa como disminuye el contenido de humedad a través del tiempo, nótese que las rebanadas de pulpa de aguacate ‘Hass’ a las 24 horas redujeron el contenido de humedad hasta 38% mientras que las de ‘Méendez’ aún mantenían un 60% de humedad; asimismo, ambos cultivares alcanzan un mínimo de humedad luego de 72 h. Con la finalidad de optimizar el proceso de liofilización, es necesario tomar en cuenta ciertos factores, tales como congelación, que a su vez influirá en el secado primario y secundario, y finalmente en la textura del producto final; la sublimación, secado primario y etapa más larga del proceso de liofilización, se ve afectada por dichos factores por lo que conocer el tiempo de secado es de suma importancia (Abdelwahed, et al., 2006; Assegehegn et al., 2019).

En la Figura 2 se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de aceite en pulpa de aguacate ‘Hass’ y ‘Méendez’, se distingue un mayor contenido significativo ($p < 0.05$) en los frutos del cultivar ‘Méendez’ (18-20 %); también se observa un mayor contenido en donde la extracción se realizó a partir de pulpa liofilizada, quizás por menores cambios estructurales en la pulpa durante el secado, ya que el secado en estufa puede causar una transformación en la estructura celular debido a una desnaturalización de proteínas que impiden la liberación del aceite, mermando así el rendimiento (Mostert et al., 2007). Diversos autores han reportado para aguacate ‘Hass’ valores entre 11 y 19 % de contenido de aceite; sin embargo se han obtenido valores mayores de 20% una vez que el fruto ha alcanzado la madurez de consumo, tal como se observa

en el contenido de aceite de pulpa de aguacate ‘Méndez’; esto debido a la acción de enzimas hidrolíticas como las celulasas y la poligalacturonasa que degradan las paredes celulares del parénquima durante la maduración de la fruta, lo que hace que el aceite esté mayormente disponible para la extracción (Ozdemir y Topuz, 2004; Mostert et al., 2007; Villa-Rodríguez et al.2011).

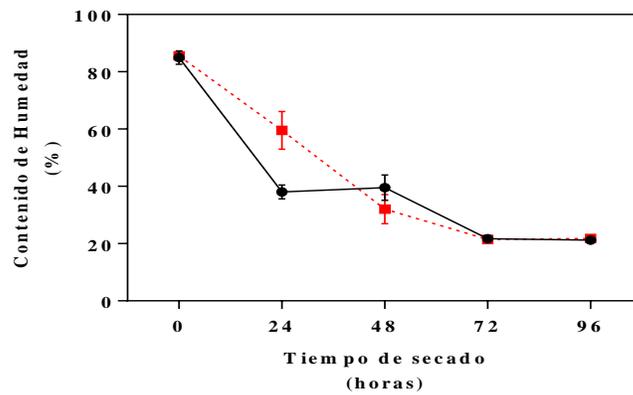


Figura 2.1. Curva de secado por liofilización de rebanadas de pulpa de aguacate ‘Hass’ (—●—) y ‘Méndez’ (---■---). Medias ± DE, n = 5.

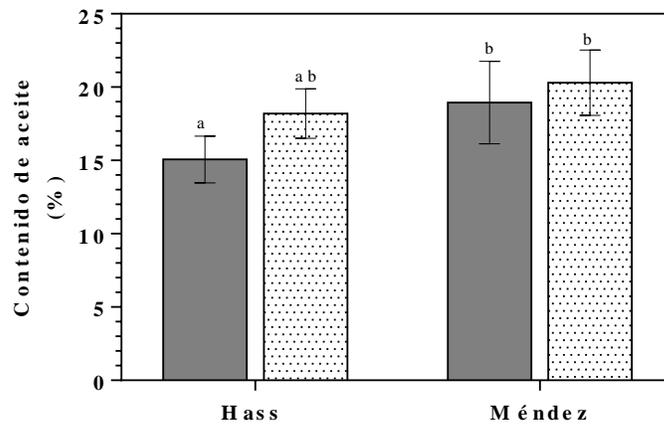


Figura 2.2. Contenido de aceite en rebanadas de aguacate cultivares ‘Hass’ y ‘Méndez’ sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

El color es un atributo importante en la calidad de un alimento pues influye en la aceptación del consumidor; además indica cambios naturales en frutos frescos o transformados; sin embargo, un fruto deshidratado puede mostrar reacciones de oscurecimiento durante el secado (Tsami y Katsioti, 2000). En la Figura 3, se observan diferencias significativas entre la luminosidad de las rebanadas frescas y liofilizadas del cultivar ‘Méndez’, siendo menor en las liofilizadas lo que indica mayor oscurecimiento. En la misma figura, el índice de saturación disminuye en las rebanadas liofilizadas de ambos cultivares; las rebanadas frescas de pulpa de aguacate ‘Hass’ mostraron un Croma=30 significativamente mayor a las rebanadas liofilizadas, Croma=24-26 indicando una mayor intensidad del color; además el uso de antioxidantes (ácido ascórbico y ácido cítrico) permiten incrementar este componente del color (Croma) en las rebanadas liofilizadas. El ángulo de tono ($^{\circ}$ Hue), de la pulpa de ‘Hass’ mostró diferencias significativas entre las liofilizadas y sin secar, observándose un incremento significativo ($p < 0.05$) del $^{\circ}$ Hue con el uso de antioxidantes; las rebanadas liofilizadas sin antioxidante (control) tienden a una tonalidad más amarilla ($^{\circ}$ Hue=105) mientras que las rebanadas tratadas con la solución de ambos antioxidantes (con 500 mg L^{-1} de ácido ascórbico + 500 mg L^{-1} de ácido cítrico) tiende a una coloración más alejada del amarillo ($^{\circ}$ Hue=120) (Apéndice 2).

Referente al índice de oscurecimiento (BI), en la Figura 4 se muestra que el secado por liofilización reduce de manera significativa ($p < 0.05$) el oscurecimiento en ambos cultivares. En el caso del cultivar ‘Hass’, las rebanadas sin liofilizar presentaron un BI=34%, mientras que en las liofilizadas mostraron un BI=26-30%. Para el cultivar ‘Méndez’, las rebanadas frescas reportaron un valor de BI=30% y las liofilizadas un BI=24-26%; asimismo las liofilizadas sin antioxidante mostraron un oscurecimiento significativamente menor con respecto a las liofilizadas + antioxidantes. Souza et al. (2015) reportó valores del índice de oscurecimiento de 60-70% en pulpa de aguacate de la

variedad Collinson antes de liofilizar, los valores reportados en la presente investigación son menores.

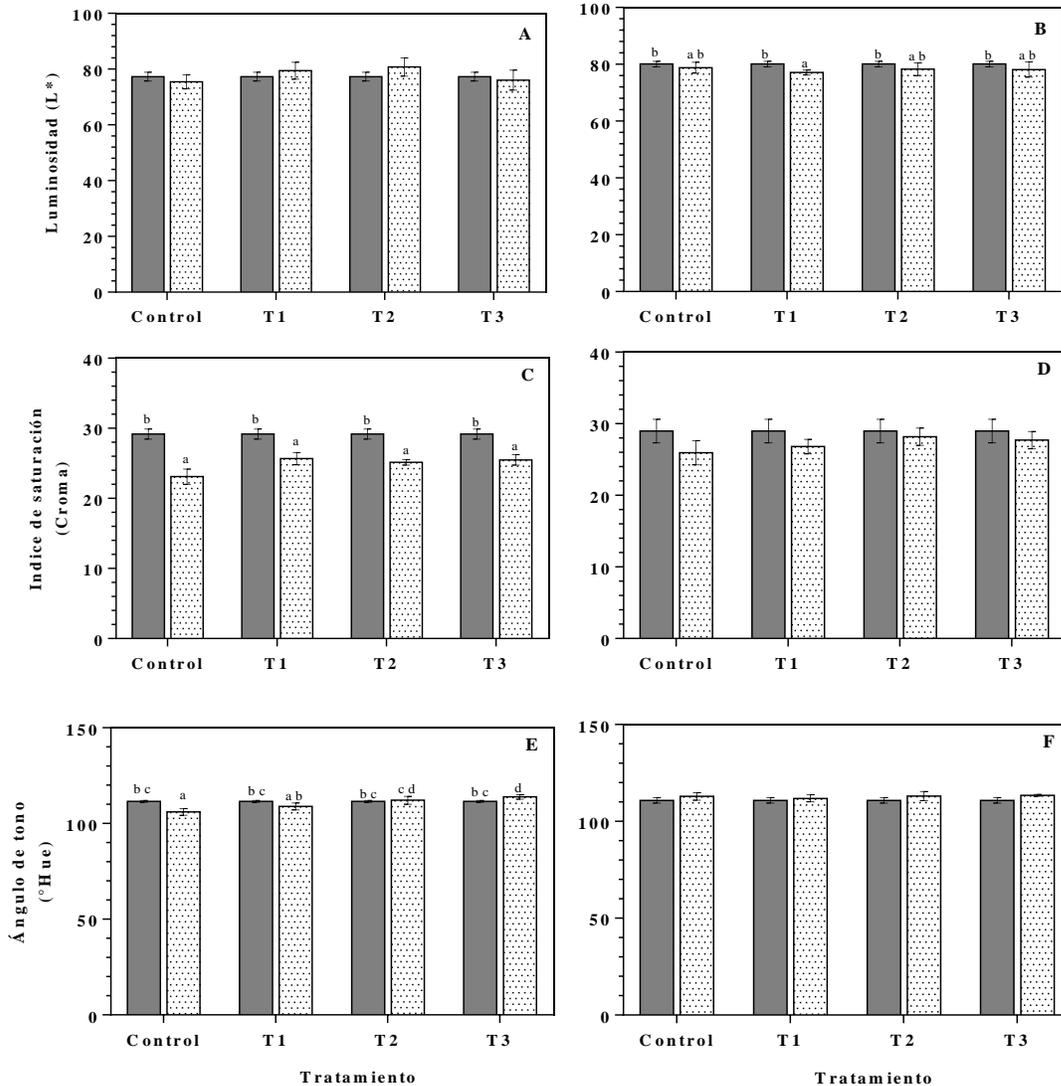


Figura 2.3. Componentes del color, luminosidad, índice de saturación y ángulo de tono en rebanadas de aguacate cultivares ‘Hass’ (A; C, E) y ‘Méndez’ (B, D, F) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante (control), 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico + 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T3). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

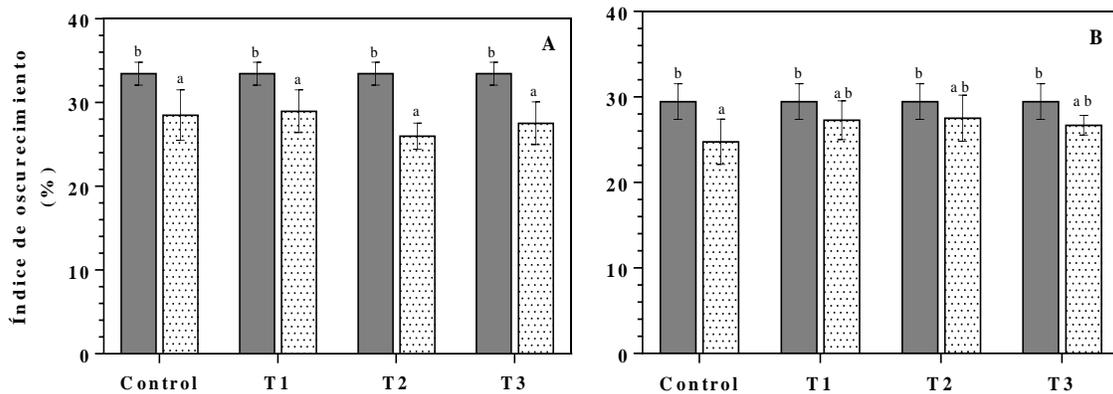


Figura 2.4. Índice de oscurecimiento (BI) en rebanadas de aguacate cultivares ‘Hass’ (A; C, E) y ‘Méndez’ (B, D, F) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante (control), 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico + 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T3). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

En la Figura 5 se observa claramente que el secado por liofilización permite una mejor extracción de los pigmentos carotenoides. En la pulpa de aguacate ‘Hass’, la concentración de carotenoides totales en el mesocarpio sin liofilizar osciló entre 2 y 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ pf, mientras que en aquella liofilizada se encontró una concentración entre 9 y 16 $\mu\text{g g}^{-1}$ pf de carotenoides totales; asimismo se aprecia que los tratamientos con antioxidantes beneficiaron el contenido de este pigmento siendo el tratamiento con 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico (T1) el que mostró mayor concentración significativa ($p<0.05$), 16 $\mu\text{g g}^{-1}$ pf. Por otro lado, la pulpa de aguacate ‘Méndez’ liofilizada mostró mayor contenido significativo ($p<0.05$) de carotenoides con respecto a la pulpa no deshidratada, siendo el tratamiento 3 el que mostró mayor contenido de este pigmento, 6 $\mu\text{g g}^{-1}$ pf. En frutos de aguacate, Gross et al. (1972), reportaron concentraciones de carotenoides totales en un intervalo de 10-14 $\mu\text{g g}^{-1}$ pf en la variedad Nabal; mientras que Ashton et al. (2006) mostraron que los carotenoides durante el proceso de maduración en pulpa de aguacate ‘Hass’ tiende a disminuir,

pasando de $4 \mu\text{g g}^{-1}$ pf a $1 \mu\text{g g}^{-1}$ pf, siendo la luteína con mayor presencia (hasta un 50%), estos datos son similares a los reportados en la presente investigación.

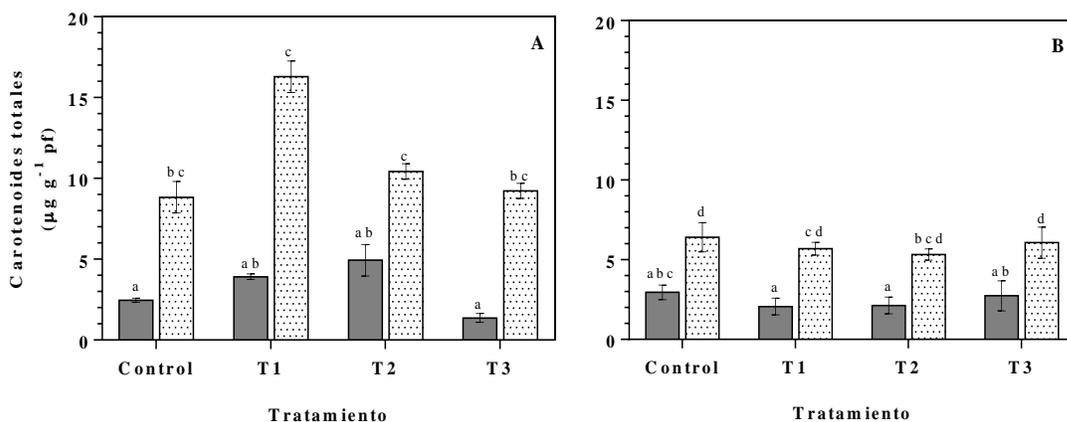


Figura 2.5. Concentración de carotenoides totales en rebanadas de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante (control), 500 mg L^{-1} de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L^{-1} de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L^{-1} de ácido ascórbico + 500 mg L^{-1} de ácido cítrico (T3). Medias \pm DE, $n = 5$. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

En pulpa de aguacate ‘Hass’ sin liofilizar se encontró una menor concentración de fenoles totales ($33 \text{ mg AG } 100 \text{ g}^{-1}$ pf); mientras que en pulpa liofilizada y tratada con antioxidante la concentración de fenoles se incrementó significativamente ($p < 0.05$), siendo la pulpa en la que se empleó ácido cítrico la que presentó mayor contenido de fenoles totales, $44 \text{ mg AG } 100 \text{ g}^{-1}$ pf (Figura 6-A). En la Figura 6-B se observa que, de igual forma, el contenido de fenoles totales es mayor en la pulpa liofilizada y el tratamiento 3 es el que mostró mayor concentración de estos metabolitos, $44 \text{ mg AG } 100 \text{ g}^{-1}$ pf. Lo anterior indica que el secado por liofilización y el uso de antioxidantes (ácido ascórbico o ácido cítrico) evita la pérdida de los fenoles, los cuales son compuestos bioactivos que se han relacionado con una disminución de los diferentes procesos de deterioro en el cuerpo humano debido a su capacidad para reducir la formación de radicales libres

y eliminarlos (Villa-Rodríguez et al., 2011). Diversos autores reportan valores entre 30 y 40 mg AG 100 g^{-1} en pulpa de aguacate en estado de madurez de consumo, valores que son similares a los encontrados en el presente trabajo (Daiuto et al., 2011; Villa-Rodríguez et al., 2011)

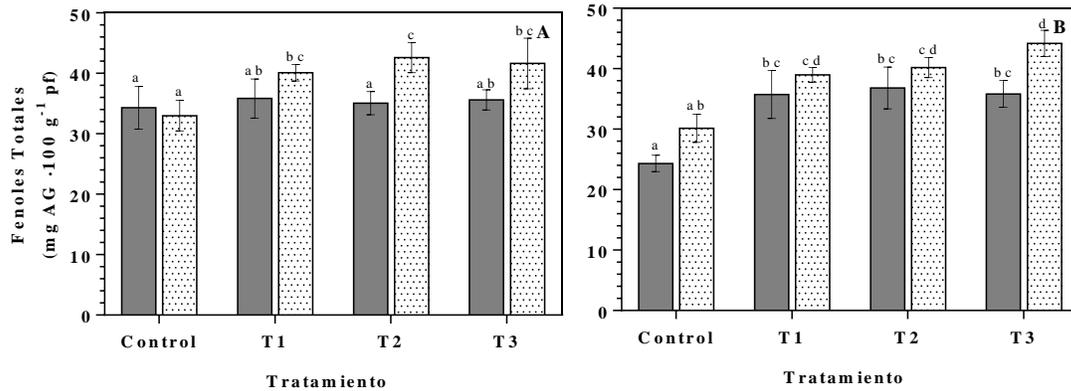


Figura 2.6. Concentración de fenoles totales en rebanadas de aguacate ‘Hass’ (A) y ‘Méndez’ (B) sin liofilizar (■) y liofilizadas (▨), sin antioxidante (control), 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico (T1), con 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T2) y con 500 mg L⁻¹ de ácido ascórbico + 500 mg L⁻¹ de ácido cítrico (T3). Medias ± DE, n = 5. Valores con diferente letra dentro de la misma figura son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

La firmeza del aguacate en estado de madurez fisiológica es elevada comparada con la que alcanza una vez listo para consumirse, estos cambios típicos de la maduración involucran modificaciones en la microestructura celular; además la aplicación de tratamientos pre y postcosecha también influyen en dichos cambios. En las Figuras 7 y 8 se muestran imágenes de microscopia electrónica de barrido (MEB) en pulpa de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’ en estado de madurez fisiológica, madurez de consumo, en pulpa congelada a -64°C y liofilizada. En estado de madurez fisiológico, se observa las células del parénquima que contiene depósitos de aceite, mientras que, en estado de madurez de consumo en fresco y congelado, se pierde la estructura de la pared celular, pero se sigue observando depósitos de aceite. En ambos cultivares se observan células idioblásticas de

aceite, en estado de madurez de consumo (Figuras 7-B y 8-B), las cuales son células especializadas se produce como una sola gota grande que llena de aceite en lugar de las gotas individuales más pequeñas que se producen en las células del parénquima (Platt y Thomson, 1992). También se observan cambios estructurales en la pulpa liofilizada (Figura 7-D y 8-D), nótese que en la micrografía de la pulpa de aguacate ‘Hass’ se pueden observar las células idioblásticas.

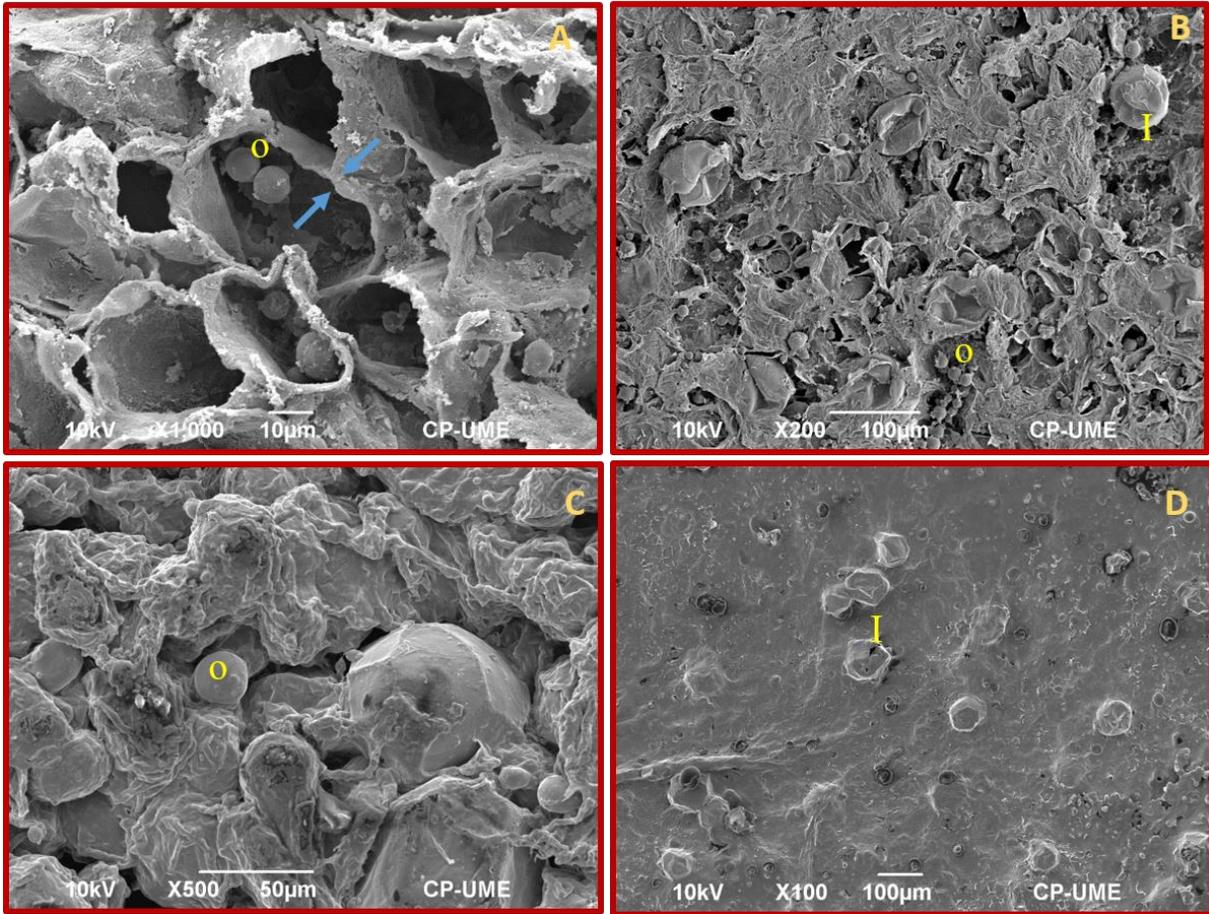


Figura 2.7. Micrografías electrónicas de barrido que muestran los cambios micro estructurales en pulpa de aguacate ‘Hass’. Pulpa en estado de madurez fisiológica (A); Pulpa en estado de madurez de consumo (B); Pulpa en estado de madurez de consumo congelada a $-64\text{ }^{\circ}\text{C}$ (C); Pulpa en estado de madurez de consumo liofilizada (D). I: célula idioblástica de aceite, las flechas indican la pared celular, O: gotas de aceite. Barra= $10\text{ }\mu\text{m}$ (A, B); Barra= $50\text{ }\mu\text{m}$ (C, D).

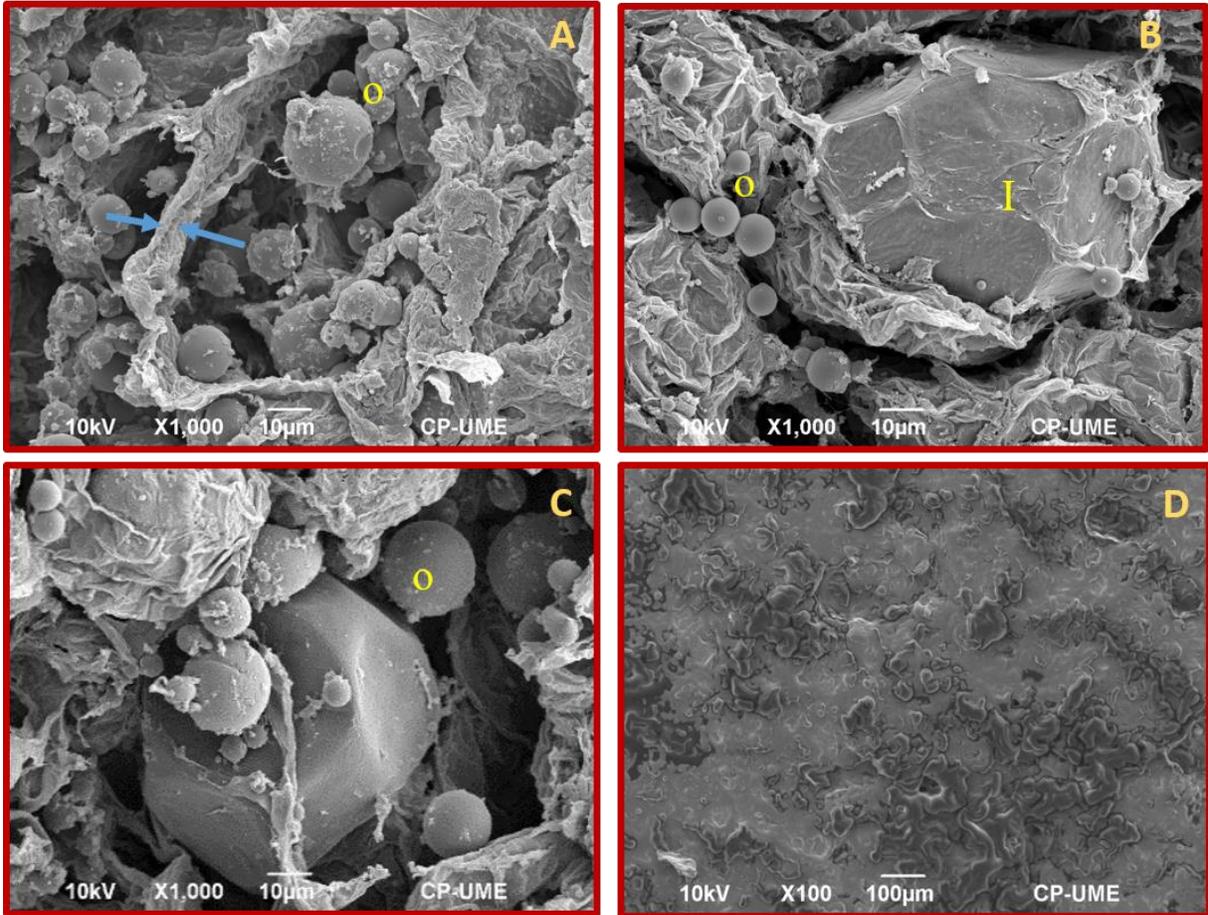


Figura 2.8. Micrografías electrónicas de barrido que muestran los cambios micro estructurales en pulpa de aguacate ‘Méndez’. Pulpa en estado de madurez fisiológica (A); Pulpa en estado de madurez de consumo (B); Pulpa en estado de madurez de consumo congelada a $-64\text{ }^{\circ}\text{C}$ (C); Pulpa en estado de madurez de consumo liofilizada (D). I: célula idioblástica de aceite, las flechas indican la pared celular, O: gotas de aceite. Barra= $10\text{ }\mu\text{m}$ (A, B, C); Barra= $100\text{ }\mu\text{m}$ (D).

2.6 CONCLUSIONES

El estado de madurez de los frutos de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’ afecta la pared celular de la pulpa, ya que se observaron cambios estructurales a través de las micrografías; por lo que el secado por liofilización se ve afectado por diversos factores como la etapa de congelación y maduración del fruto. La liofilización permitió incrementar la extracción de compuestos bioactivos, carotenoides y fenoles, así como aceite en ambos cultivares; además permitió mantener un bajo índice de oscurecimiento con respecto a los no liofilizados. Los antioxidantes en las rebanadas de pulpa de aguacate tuvieron un efecto positivo sobre la pulpa de aguacate, ya que los tres tratamientos mostraron mayores valores en las concentraciones de carotenoides y fenoles totales, así como menor índice de oscurecimiento.

2.7 LITERATURA CITADA

- Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S. & Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews* 58, 1688–1713.
- AOAC. 1990. Association of Official Analytic Chemists. *Officials Methods of Analysis*. K Helrich (ed). 15th Ed. 2200 Wilson Blvd. Arlington, Virginia 22201. USA. Vol. II. 1298 p.
- Arriola-Guevara, E., T. García-Herrera, G. M. Guatemala-Morales, J. Nungaray-Arellano, O. González-Reynoso y J.C. Ruíz-Gómez. 2006. Comportamiento del aguacate ‘Hass’ liofilizado durante la operación de rehidratación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 5, 51-56
- Ashton, O. B. O., Wong, M., McGhie, T. K., Vather, R., Wang, Y., Requejo-Jackman, C., Ramankutty, P & Woolf, A. B. (2006). Pigments in Avocado Tissue and Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 10151–10158.
- Assegehegn, G., Brito-de la Fuente, E., Franco, J.M. & Gallegos C. (2019). The Importance of Understanding the Freezing Step and Its Impact on Freeze-Drying Process Performance. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 108, 1378-1395.
- Balzarini, M.G., Gonzale, L., Tablada M., Casanoves, F., Di Rienzo, J.A., Robledo C.W. (2008). *Infostat. Manual del Usuario*. Córdoba, Argentina:Editorial Brujas.
- Carvalho, C.P., Bernal, J., Velásquez, M.A. & Cartagena J.R. (2015). Contenido de ácidos grasos del aguacate (*Persea americana* Mill. cv. Hass) en relación a la altitud del cultivo y el estado de madurez del fruto. *Agronomía Colombiana*, 33(2), 220:227.
- Castro Ríos, Katherin. 2011. *Tecnología de alimentos*. Colombia: Ediciones de la U. ProQuest ebrary.
- Clementz, A. & Delmoro, J. (2011). Snacks frutales. *INVENIO* 14 (27), 153:163.
- Daiuto, E.R., Fumes, J.G.F., Vieites, R.L., Caba, N.C. & Castro R.S.D. (2011). Antioxidant capacity and total phenolic content of hydrothermally-treated ‘Fuerte’ avocado. *Advances in Horticultural Science*, 25(2), 75-80.
- Esteller, M.S., R.N.M. Pitombo, S.C.S. Lannes. 2005. Effect of freeze-dried gluten addition on texture of hamburger buns. *Journal of Cereal Science* 41, 19-21.
- Groos, J., Gabai, M. & Lifshitz, A. (1972). The carotenoids of avocado pear: *Persea americana*, Nabal Variety. *Jornal Food Science*, 37, 589-591.
- Gross, J. (1987). Pigments in fruits. En B.S. Schweigert (Ed.), *Food Science and Technology: a Series of Monographs*. London, United Kingdom:Academic Press.

- Marques, L.G. Prado, M.M. & Freire, J.T. (2009). Rehydration characteristics of freeze-dried tropical fruits. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 1232-1237.
- Marques, L.G., A.M. Silveira, J.T. Freire. 2006. Freeze-drying characteristics of tropical fruits. *Drying Technology* 24, 457-463.
- Marquez-Aquino, D & Vergara-Balderas, F. (2009). Cinética de deshidratación por liofilización de maíz para la elaboración de botanas. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3, 39-50.
- Mostert, M., Botha, B., Du Plessis, L., Duodu, K., 2007. Effect of fruit ripeness and method of fruit drying on the extractability of avocado oil with hexane and supercritical carbon dioxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 2880–2885.
- Muñoz-López, C., Urrea-García, G.R., Jiménez-Fernández, M., Rodríguez-Jiménes, G. & Luna-Solano, G. (2018). Efecto de las condiciones de liofilización en propiedades fisicoquímicas, contenido de pectina y capacidad de rehidratación de rodajas de ciruela (*Spondias purpurea* L.). *Agrociencia*, 52, 1-13.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Estadísticas en línea (FAOSTAT). (2019). Consultado 26-07-2019 en <http://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Ozdemir, F., Topuz, A. 2004. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry* 86, 79–83.
- Pío-León, J.F., Díaz-Camacho, S.P., Montes-Avila, J., López-Angulo, G. & Delgado-Vargas, F. (2012). Nutritional and nutraceutical characteristics of white and red *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth fruits. *Fruits*, 68(5), 397-408.
- Platt K. A. & Thomson W. W. (1992). Idioblast Oil Cells of Avocado: Distribution, Isolation, Ultrastructure, Histochemistry, and Biochemistry. *International Journal of Plant Sciences*, 153 (3), 301-310.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). Consultado 26-07-2019 en <https://www.gob.mx/siap>
- Souza, D.S., Marques L.G., Gomes E.B. & Narain, N. (2015). Lyophilization of Avocado (*Persea americana* Mill.): Effect of Freezing and Lyophilization Pressure on Antioxidant Activity, Texture, and Browning of Pulp, *Drying Technology*, 33(2), 194:204.
- Tsami, E. & Katsioti, M. (2000). Drying kinetics for some fruits: predicting of porosity and color during dehydration. *Drying Technology: An International Journal*, 18 (7), 1559-1581.
- Villa-Rodríguez, J.A, Molina-Corral, F.J., Ayala-Zavala, J.F., Olivas G.I. and González-Aguilar, G.A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of ‘Hass’ avocado. *Food Research International*, 44:1231-1237.

CAPITULO III. MADURACIÓN, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y METABOLISMO DE FENOLES Y CAROTENOIDES EN EL FRUTO DE DOS CULTIVARES Y UN GENOTIPO DE AGUACATE EXPUESTOS A UNA TEMPERATURA CRÍTICA DE REFRIGERACIÓN

3.1 RESUMEN

Uno de los problemas durante la conservación por refrigeración de frutos de aguacate, lo constituye la inducción de daños por frío tras exponerse por abajo de temperaturas y/o tiempos considerados como críticos, y los cuales afectan de manera significativa la maduración y calidad de los frutos. Los frutos de aguacate constituyen una importante fuente de compuestos bioactivos que proporcionan a los frutos un alto valor nutracéutico por su relación con la salud humana. El objetivo fue evaluar el efecto del contenido de fenoles totales, de carotenoides y respuesta a la capacidad antioxidante en dos cultivares y un genotipo de aguacate almacenados a una temperatura inductora de daños por frío. Los cultivares en estudio fueron Hass y Colín V33 y el genotipo Oaxaca-7 de cáscara lisa y color violeta oscuro, mismos que se almacenaron a 20 ± 2 °C por ocho días y 2 ± 1 °C por 21 días más dos días a 20 ± 2 °C; las variables evaluadas fueron Firmeza de la pulpa, contenido de fenoles totales, contenido y perfil de carotenoides, contenido de clorofila y capacidad antioxidante. Los resultados mostraron que la firmeza evolucionó de manera normal, sin afectación por la temperatura y tiempo de refrigeración; El contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante aumentaron durante la maduración, pero con diferencias entre los frutos evaluados; por su parte el contenido de carotenoides disminuyó al avanzar la maduración, con diferencias en el perfil y concentración de los carotenoides detectados. Se detectaron diferencias significativas en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante entre los cultivares y genotipo estudiados.

Palabras clave: *Persea americana* Mill, firmeza, capacidad antioxidante, clorofila

3.2 ABSTRACT

One of the problems during the preservation by refrigeration of avocado fruits is the induction of chilling injury after exposed being below temperatures and/or times considered as critical, and which significantly affect the ripening and quality of the fruits. Avocado fruits constitute an important source of bioactive compounds that provide fruits with a high nutraceutical value due to their relationship with human health. The objective was to evaluate the effect of the content of total phenolic content, of carotenoids and response to antioxidant capacity in two cultivars and an avocado genotype stored at a temperature that induced chilling injury. The cultivars study were Hass and Colín V-33 and the Oaxaca-7 genotype of smooth and dark violet skin, which were stored at 20 ± 2 °C for eight days and 2 ± 1 °C for 21 days plus two days at 20 ± 2 °C; the variables evaluated were pulp firmness, total phenolic content, carotenoid content and profile, chlorophyll content and antioxidant capacity. The results showed that firmness evolved in a normal way, without affecting temperature and cooling time; The total phenolic content and antioxidant capacity increased during ripening, but with differences between the fruits evaluated; meanwhile, the carotenoid content decreased as maturation progressed, with differences in the profile and concentration of the carotenoids detected. It was concluded that storage at 2 ± 1 °C for 21 days did not favour the appearance of chilling injury in the pulp of the fruits under study, which was manifested by an increase in antioxidant capacity.

Keywords: *Persea americana* Mill, firmness, antioxidant capacity, chlorophyll

3.3 INTRODUCCIÓN

Entre los principales problemas del almacenamiento bajo condiciones de refrigeración de frutos de aguacate lo constituye el oscurecimiento de la pulpa, sobre todo cuando se exponen a temperaturas críticas inductoras de daños por frío. Diversos investigadores señalan las diferencias en la respuesta de los diferentes cultivares y genotipos a las temperaturas de refrigeración, aspectos que se relacionan con la capacidad antioxidante, dada por su contenido de compuestos fenólicos y carotenoides, de cada uno de cultivares y genotipos de importancia comercial.

Los fenoles son compuestos producto del metabolismo secundario de las plantas y relacionados con el color, sabor y capacidad antioxidante de los productos hortofrutícolas (Sultana y Anwar, 2008); se encuentran formando un amplio rango de estructuras como ácidos fenólicos libres o unidos a otras moléculas como azúcares, o bien son polimerizados hasta estructuras más complejas como flavonoides, antocianinas, taninos y ligninas. Por su capacidad antioxidante y relación con salud humana, son considerados como compuestos con valor nutracéutico (Naczk y Shahidi, 2006). Su contenido en pulpa de frutos de aguacate varía entre 130-240 $\mu\text{g g}^{-1}$ (equivalente ácido gálico), lo cual depende del cultivar, genotipos, grado de madurez y tecnología de producción, qué, además inducen variaciones en el perfil de compuestos fenólicos en el fruto (Soong y Barlow, 2004). Por otro lado, se encuentran relacionados con reacciones de oscurecimiento inducidas por condiciones de estrés, como daños por frío; así mismo se ha reportado que su contenido aumenta al avanzar la maduración de los frutos (Cutting y Wolstenholme, 1992).

Los carotenoides son pigmentos naturales que tienen funciones esenciales y proveen de beneficios nutricionales importantes a la salud humana, especialmente α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina que son precursores de vitamina A, retinol y ácido retinoico (Krinsky et al.1994; Fraser y Bramley, 2004). En las plantas, los carotenoides además de participar en la regulación de

la fotosíntesis, también participan en la prevención contra el daño fotooxidativo a través de la remoción de radicales libres y reprimen las moléculas nocivas de la clorofila triplete, impidiendo la generación de oxígeno singlete, lo que limita el daño a las membranas y proteínas (DellaPenna y Pogson, 2006). En diversos frutos, durante el proceso de maduración el contenido y composición de los carotenoides presentes en la pulpa y cáscara se va modificando, lo cual dependerá de la especie, cultivar y del manejo postcosecha (Alquézar et al., 2008; Lado et al., 2016a). La presencia de carotenoides en los frutos, brinda protección contra condiciones ambientales perjudiciales originadas por la temperatura (altas o bajas), al proporcionar estabilidad a los lípidos presentes en las membranas, además por su capacidad antioxidante que se manifiesta en un efecto de protección a los tejidos del fruto contra diferentes tipos de estrés (Lado et al., 2016b).

En postcosecha, durante el almacenamiento en refrigeración, el aguacate puede presentar sensibilidad a daños por frío debido a su origen tropical y subtropical; dichos daños se manifiestan principalmente por una decoloración interna de la pulpa (pardeamiento interno y oscurecimiento de haces vasculares) (Lyons et al., 1979; Morris, 1982; Couey, 1982; Whiley et al., 2002). Sin embargo, la susceptibilidad a daños por frío depende del cultivar, tipo de tejido, componentes estructurales, contenido de compuestos bioactivos, tecnología de producción y manejo postcosecha, entre otros (Wang, 2010). En pulpa de aguacate el grupo de carotenoides presentes en mayor proporción son la luteína, neoxantina y β -caroteno, los cuales contribuyen al sistema de protección eliminando las especies reactivas de oxígeno (ROS), principalmente oxígeno singlete, generados como respuesta secundaria a daños por frío. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del contenido de fenoles totales, de carotenoides y respuesta a la capacidad antioxidante en dos cultivares y un genotipo de aguacate almacenados a una temperatura inductora de daños por frío.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y tratamientos

Se cosecharon frutos de aguacate en mayo del 2018 en el Centro Experimental ‘La Cruz’ perteneciente a la Fundación Salvador Sánchez Colín del CICTAMEX, S.C., ubicado en el municipio de Coatepec Harinas, México, entre 18° 48’ y 19° 05’ Latitud Norte; 99° 43’ y 99° 54’ Latitud Oeste, a 2 260 msnm. . Se cosecharon frutos de dos cultivares: Hass (35.24±0.62 % materia seca) y Colín V-33 (34.10±0.46 % materia seca), y el Genotipo identificado como “Oaxaca-7” (26.89±0.44 % materia seca), los cuales se almacenaron a temperatura de 20±2° C para su maduración; se realizaron evaluaciones un día después de cosecha y tras ocho días de almacenamiento. Otro grupo de frutos se almacenó a condiciones de refrigeración de 2±1° C y posteriormente a 20±2° C, efectuándose evaluaciones a la salida de refrigeración y dos días después. Las variables evaluadas fueron:

Firmeza. La firmeza se determinó con un texturómetro (Wagner Force Five modelo FDV-30), con puntal cónico de 7 mm, retirando la cáscara de la zona ecuatorial del fruto y midiendo la fuerza necesaria para penetrar la pulpa. Los valores se reportaron en Newtons (N).

Fenoles Totales. Para la extracción de fenoles totales, se pesó 500 mg de pulpa liofilizada del fruto y se le agregó 10 mL de metanol-agua (8:2 v/v) para después ser mezclado con ayuda de una espátula hasta lograr un macerado homogéneo. Posteriormente, cada muestra se dejó reposar por 24 h bajo refrigeración (4 °C). La cuantificación del contenido de fenoles totales se llevó a cabo según el método propuesto por Pío-León et al. (2012) con algunas modificaciones, donde a una alícuota de 200 µL de cada muestra se le agregó, en el siguiente orden, 2.5 mL de agua destilada, 100 µL del reactivo Folin Ciocalteu-agua (1:1 v/v) y 200 µL de Na₂CO₃-agua (2:8 p/v). Luego, se dejaron reposar bajo condiciones de oscuridad por 30 min y, posteriormente, se realizaron las

lecturas a 765 nm en un espectrofotómetro digital (GENESYS 10V Thermo Electron Corporation). Con el uso de una curva de calibración (Apéndice 1), se obtuvieron los resultados, los cuales, se reportaron como mg de ácido gálico 100 g⁻¹ (mg AG 100 g⁻¹ peso seco).

Extracción y cuantificación de pigmentos (clorofilas y carotenoides). La extracción de pigmentos (clorofilas y carotenoides) se llevó a cabo a partir de 600-700 mg de pulpa liofilizada, a la cual se le agregó 3 mL de agua miliQ y se dejó reposar por 10 minutos. Transcurrido el tiempo, se le agregaron 4 mL de metanol y 8 mL de diclorometano. La mezcla se agitó por unos segundos con un vórtex, se colocó en un baño de ultrasonidos durante 5 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 4500 rpm durante 10 minutos a 4°C. Se recuperó la hipofase y se repitió la adición de diclorometano hasta que se decoloró completamente. Con ayuda de un rotavapor (baño a 40°C) se evaporó el diclorometano (concentración de clorofilas y carotenoides).

Para el contenido de clorofilas (a, b y total), al extracto seco, se le añadió 0.5 mL de diclorometano y se recuperó en un tubo cónico; además también se re-suspendió con 300 µl de acetona y se le añadió 4.2 mL de una solución de éter de petróleo y éter etílico, en proporción 9:1 v/v (solución A), se agitó con un vórtex. Se aforó a un volumen conocido y se registró en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Multiskan Spectrum) el espectro de absorbancia de 270 nm a 760 nm, se midió la absorbancia a 644, 662 y 760 nm. Luego la muestra se llevó a sequedad con un rotavapor. Con las ecuaciones 1 y 2 propuestas por Smith y Benítez (1955) se calculó el contenido de clorofila a y b, respectivamente; la clorofila total se reportó como la suma de ambos contenidos. Los valores se reportaron en µg·g⁻¹ de peso seco.

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{)} = \frac{[10.05(\text{Abs}_{662} - \text{Abs}_{760}) - 0.76(\text{Abs}_{644} - \text{Abs}_{760})] * \text{Vol}}{\text{Peso muestra}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{)} = \frac{[16.37(\text{Abs}_{644} - \text{Abs}_{760}) - 3.14(\text{Abs}_{662} - \text{Abs}_{760})] * \text{Vol}}{\text{Peso muestra}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Para determinar el contenido de carotenoides totales, se siguió el método propuesto por Rodrigo et al. (2003) con algunas modificaciones, en el cual a la muestra seca se le agregó 1 mL de diclorometano y se recuperó, luego se le agregó 5.2 mL de metanol y se ajustó el volumen a 8 mL, se le agregó 1 mL de hidróxido de potasio al 60%, se agitó vigorosamente y se dejó reposar a temperatura ambiente en atmosfera de nitrógeno durante una noche, dando lugar a la reacción de saponificación. Al día siguiente, al contenido se le adicionó 2 mL de agua miliQ y 6 mL de una solución A, se agitó vigorosamente con vórtex y se dejó reposar. Se recuperó la fase superior y se repitió el proceso hasta que la fase quedó incolora. Se aforó con solución A a un volumen conocido y se midió en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Multiskan Spectrum) el espectro entre 270 y 540 nm, se emplearon las absorbancia a 450 y 540 nm para realizar cálculos, usando un coeficiente de extinción de β -caroteno de $E_{1\%}^{1\text{cm}}=2500$. Los datos se reportaron como μg de β -caroteno $\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco.

Análisis de carotenoides por HPLC. Las muestras se secaron con corriente de N_2 , en agua caliente a 30°C , y se les agregó 15 mL de acetona y se almacenaron a -80°C durante 24 h. Posteriormente, se centrifugaron a 4500 rpm durante 10 minutos a 4°C y se recuperó el sobrenadante. La muestra se llevó a sequedad con atmosfera de N_2 , se guardó a -20°C hasta su análisis. La composición individual de los carotenoides se llevó a cabo empleando un sistema de cromatografía líquida Waters equipado con una bomba 600E y un detector de fotoiodos modelo 2998 y un software Empower (Waters). Se usó una columna de carotenoides C30 (250 x 4.6 mm, 5μ) acoplada a una columna guarda C30 (20 x 4.0 mm, $5\mu\text{m}$) (YMC Europe GmbH). Las muestras se disolvieron en cloroformo, metanol y acetona (3:2:1 v/v/v). Se empleó un gradiente de elución compuesto de metanol (MeOH), agua y metil ter-butyl éter (MTBE) para la separación de carotenoides (Lado et al., 2015). Los carotenoides fueron identificados por comparación de

espectro y tiempos de retención con los estándares. Los picos de los carotenoides fueron identificados en su máxima longitud de onda y su concentración se calculó empleando curvas de calibración de violaxantina, neoxantina, luteoxantina, luteína, anteraxantina, β -criptoxantina, α - y β -caroteno. Se realizaron tres réplicas de cada determinación analítica. Todo el procedimiento se realizó bajo condiciones de luz tenue para evitar la degradación de los pigmentos.

Capacidad Antioxidante Total. Se emplearon dos métodos diferentes para cuantificar la capacidad antioxidante total en la pulpa de aguacate: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y Poder Antioxidante Reductor del Hierro (FRAP). Para ambos métodos se realizó un extracto a partir de 50 mg de pulpa liofilizada, agregando 4 mL de metanol-agua (8:2 v/v), luego se centrifugó a 4500 rpm durante 15 minutos a una temperatura de 4°C. Luego, se recogió el sobrenadante en un tubo graduado, para conocer el volumen y se almacenaron a -20°C.

Para las determinaciones de DPPH, se disolvió 3.9 mg de DPPH en 100 mL de metanol-agua (80:20 v/v), en una placa de poliuretano, se colocaron 10 μ L del extracto de la muestra, después 290 μ L de DPPH. Una vez cargada la placa se dejó transcurrir 30 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente. Se midió a 512 nm usando como blanco 300 μ L de metanol-agua (80:20 v/v). A partir de diferentes concentraciones de ácido ascórbico se realizó una curva de calibración, los resultados se reportan como μ g de ácido ascórbico por g^{-1} de pulpa en peso seco (Apéndice 2). Para el método FRAP se preparó TPTZ (2,4,6-Tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine) 10mM; para lo cual, primero, se preparó HCl al 40mM (1.46 mL de HCl en 1L de agua a temperatura ambiente), después se disolvieron 0.31 g de TPTZ en 100 mL de HCl (40mM) calentando en baño de agua a 50°C. El acetato Buffer 300 mM a pH 3.6, se preparó mezclando 3.1 g de acetato de sodio y 16 mL de ácido acético glacial en 100 mL de agua. El cloruro férrico 20 mM se preparó pesando 0.135 g y se aforó a 25 mL. Los reactivos anteriores se mezclaron en la proporción 1:10:1(v/v/v)

para formar el reactivo FRAP. Este se colocó en baño de agua a 37°C por 10 minutos. Finalmente, se cargó la placa agregando 40 µL del extracto de la muestra y luego 260 µL del reactivo FRAP. Una vez cargada la placa se dejó transcurrir 30 minutos en oscuridad a 37°C. La absorbancia se midió a 570 nm y se empleó metanol-agua (80:20 v/v) como blanco. A partir de una curva de calibración se obtuvieron los resultados y se expresaron como µg de ácido ascórbico por g⁻¹ de pulpa en peso seco (Apéndice 3).

Análisis experimental. El análisis estadístico se realizó mediante análisis de varianza y una comparación de medias empleando la prueba de Tukey, con un nivel de confiabilidad del 95 %. Se usó el paquete estadístico SAS System for Windows 9.0 (SAS, 2002) y se realizaron tres repeticiones para las variables y cada fruto se consideró una unidad experimental.

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras ocho días de almacenamiento a 20 ± 2 °C, se observó una disminución estadísticamente significativa en la firmeza de los frutos de aguacate de los cultivares y genotipo estudiados (Cuadro 3.1), lo que evidenció el ablandamiento típico de la pulpa relacionado con el avance de maduración de los frutos (Cuadro 3.3), lo cual está relacionado con modificaciones en la estructura química de los polímeros que integran la pared celular, las sustancias pépticas y celulosa principalmente, que son degradadas por el incremento de la actividad de las enzimas polimetilesterasa, poligalacturonasa y celulasas, provocando ablandamiento de los frutos (Zauberman y Jobin-Decor, 1995; Arévalo- Galarza et al. 2002; Blakey et al., 2014).

Los frutos partieron con diferente valor de firmeza al momento de cosecha, es decir, ‘Colín V-33’ (23.85 ± 2.66 N), Genotipo (16.54 ± 0.53 N) y ‘Hass’ (29.12 ± 2.07 N); tras ocho días a temperatura de maduración de 20 ± 2 °C la firmeza disminuyó hasta 0.29 ± 0.08 , 1.0 ± 0.28 y 0.79 ± 0.17 N, respectivamente, lo que correspondió a la madurez de consumo (Cuadro 3.1). En cuanto a los frutos expuestos bajo refrigeración a 2 ± 1 °C por 21 días y posteriormente transferidos a 20 ± 2 °C por dos días para maduración, la firmeza disminuyó, desde la registrada al momento de cosecha, hasta 16.85 ± 1.99 N (‘Colín V33’), 1.06 ± 0.51 N (Genotipo) y 19.68 ± 1.21 N (‘Hass’) a la salida de refrigeración y hasta 0.98 ± 0.16 , 0.67 ± 0.12 y 1.65 ± 0.49 N, en el mismo orden, a la madurez de consumo (Cuadro 3.3). Lo anterior permite asumir que el proceso de maduración de los frutos expuestos bajo refrigeración resultó normal en cuanto a evolución de la firmeza, no observándose un comportamiento anormal por efecto de daños por frío.

Cuadro 3.1. Cambios en firmeza, fenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) en pulpa de frutos de aguacate almacenados a 20±1°C para su maduración.

| Variable | Cultivar | | |
|--|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Colín V-33 | Oaxaca-7 | Hass |
| Firmeza (N) | | | |
| 0 días | 23.85±2.66 ^a | 16.54±0.53 ^a | 29.12±2.07 ^a |
| 8 días | 0.29±0.08 ^b | 1.00±0.28 ^b | 0.79±0.17 ^b |
| CV% | 107.79 | 97.15 | 104.08 |
| DMS | 23.53 | 15.54 | 28.33 |
| Fenoles Totales (mg de AG g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 1238.86±58.87 ^a | 1099.08±61.82 ^b | 1040.72±125.15 ^b |
| 8 días | 1098.73±63.08 ^b | 1331.44±126.35 ^a | 3313.33±171.59 ^a |
| CV% | 8.05 | 12.77 | 57.50 |
| DMS | 140.13 | -232.35 | -2272.61 |
| Capacidad antioxidante método DPPH (µg AAs g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 694.39±70.35 ^a | 1341.24±80.59 ^b | 1350.71±19.18 ^b |
| 8 días | 753.58±16.24 ^a | 1798.30±83.04 ^a | 2736.26±72.68 ^a |
| CV% | 7.73 | 16.61 | 37.21 |
| DMS | -59.18 | -457.06 | -1385.55 |
| Capacidad antioxidante método FRAP (µg AAs g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 698.61±19.98 ^a | 876.97±12.47 ^a | 375.25±6.22 ^b |
| 8 días | 498.91±11.47 ^b | 813.97±21.36 ^b | 656.61±31.13 ^a |
| CV% | 18.42 | 4.47 | 30.12 |
| DMS | 199.69 | 62.82 | -281.36 |

PS: peso seco; DPPH: 2,2-Difenil-1-picrilhidroxil; FRAP: Poder Antioxidante Reductor del Hierro; AAs: Ácido Ascórbico; CV: Coeficiente de Variación; DMS: Diferencia Mínima Significativa. Medias ± DE, n = 3. Valores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de α=0.05.

El contenido de compuestos fenólicos resultó diferente entre los cultivares y genotipo estudiados, así como por efecto del grado de madurez y condiciones y tiempo de almacenamiento. En este sentido, en los frutos del genotipo y del cultivar Hass expuestos directamente a temperatura de maduración, el contenido de fenoles totales se incrementó significativamente de 1099.08 hasta 1331.44 y 1040.32 hasta 3313.33 mg AG g⁻¹ PS, respectivamente, lo que significó un aumento del 17.4 y 68.1 %, en el mismo orden; por su parte, bajo estas mismas condiciones en los frutos del

cultivar Colín V33 los fenoles totales disminuyeron significativamente de 1238.86 hasta 1098.63 mg AG g⁻¹ PS, es decir en 11.3 % (Cuadro 3.1), lo cual evidencia el efecto del material vegetal y del grado de madurez (Soong y Barlow, 2004). Un comportamiento distinto se observó al exponer los frutos por 21 días a condiciones de refrigeración ((2±1 °C) y posterior transferencia a temperatura de maduración (20±2 °C), en cuyo caso los fenoles totales disminuyeron por efecto de la exposición a 2±1 °C en los cultivares Colín V-33 y genotipo, de una medida de 1238.86 a 775.66 mg de AG g⁻¹ PS y de 1099.08 a 1074.49 mg de AG g⁻¹ PS, respectivamente; respuesta contraria se observó el cultivar Hass, en cuyo caso el contenido de fenoles totales se incrementó desde 1040.72 hasta 1384.40 mg de AG g⁻¹ PS (Cuadro 3.3). La respuesta al metabolismo de fenoles totales también fue diferente tras transferir a temperatura de maduración por dos días, donde en el cultivar Colín 33V dichos compuestos se volvieron a incrementar hasta 1937.43 mg de AG g⁻¹ PS, no así en el genotipo que continuó disminuyendo el contenido de estos compuestos (806.25 mg de AG g⁻¹ PS); en tanto que en 'Hass' los fenoles totales continuaron incrementándose hasta 1739.65 mg de AG g⁻¹ PS, lo que representó un aumento del 40.2 %, respecto al valor inicial (Cuadro 4). En el caso del cultivar Hass, Wang et al. (2012) reportaron un incremento en el contenido de los compuestos fenólicos luego de un almacenamiento en frío por 21 y 35 días, mostrando que en este cultivar la exposición a temperaturas de refrigeración favorece la acumulación de fenoles totales. Sin embargo, de acuerdo con Di Stefano et al. (2017) durante la maduración de los frutos de aguacate se observan diferencias en el perfil del contenido y tipo de compuestos fenólicos entre cultivares, lo que explica los diferentes comportamientos en los fenoles totales de los frutos en estudio.

Cuadro 3.2. Cambios en el contenido de clorofila (total, a y b) y carotenoides totales en pulpa de frutos de aguacate almacenados a 20±1°C para su maduración.

| Variable | Cultivar | | |
|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | Colín V-33 | Oaxaca-7 | Hass |
| Clorofila Total | | | |
| (µg·g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 41.48±2.53 ^a | 184.02±50.39 ^a | 103.48±2.50 ^a |
| 8 días | 25.87±0.97 ^b | 116.77±30.66 ^a | 58.55±6.30 ^b |
| CV% | 25.90 | 34.86 | 30.82 |
| DMS | 15.61 | 67.25 | 44.92 |
| Clorofila a | | | |
| (µg·g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 33.95±2.28 ^a | 119.25±26.49 ^a | 70.75±1.56 ^a |
| 8 días | 15.64±0.36 ^b | 69.54±13.09 ^b | 35.32±2.43 ^b |
| CV% | 40.85 | 34.98 | 36.74 |
| DMS | 18.30 | 49.71 | 35.42 |
| Clorofila b | | | |
| (µg·g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 7.53±1.92 ^a | 64.77±23.91 ^a | 32.72±3.66 ^a |
| 8 días | 10.22±1.99 ^a | 47.22±17.65 ^a | 23.23±3.87 ^b |
| CV% | 22.42 | 37.70 | 22.15 |
| DMS | -2.68 | 17.54 | 9.49 |
| Carotenoides totales | | | |
| (µg de β-caroteno·g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 16.88±1.39 ^a | 34.70±5.3 ^a | 20.41±2.37 ^a |
| 8 días | 14.17±1.37 ^a | 16.09±2.07 ^b | 9.63±1.66 ^b |
| CV% | 12.43 | 42.60 | 41.13 |
| DMS | 2.70 | 18.60 | 10.77 |

PS: peso seco; CV: Coeficiente de Variación; DMS: Diferencia Mínima Significativa. Medias ± DE, n = 3. Valores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de α=0.05.

Se ha reportado que los compuestos fenólicos son responsables de la mayor actividad antioxidante en productos hortofrutícolas (Heim *et al.*, 2002), la cual es evaluada por diversos métodos, tales como el ensayo del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), donde el DPPH es un radical libre capaz de aceptar un átomo de hidrógeno y por otro lado el Poder Antioxidante Reductor del Hierro (FRAP) que evalúa la capacidad antioxidante en función de los extractos para reducir el complejo [Fe (III) (TPTZ)₂] (Apéndice 4 y 5) (Alam *et al.*, 2012; Moreno *et al.*, 2014).

Cuadro 3.3. Cambios en firmeza, fenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) en pulpa de frutos de aguacate almacenados a $2\pm 1^\circ\text{C}$ por 21 días, seguido de dos días a $20\pm 1^\circ\text{C}$ para su maduración.

| Variable | Cultivar | | |
|--|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | Colín V-33 | Oaxaca-7 | Hass |
| Firmeza (N) | | | |
| 0 días | 23.85 \pm 2.67 ^a | 16.54 \pm 0.53 ^a | 29.12 \pm 2.07 ^a |
| 21 días | 16.85 \pm 1.99 ^b | 1.06 \pm 0.51 ^b | 19.68 \pm 1.21 ^b |
| 23 días | 0.98 \pm 0.16 ^c | 0.67 \pm 0.12 ^b | 1.65 \pm 0.49 ^c |
| CV% | 13.84 | 6.86 | 8.42 |
| DMS | 4.81 | 1.07 | 3.54 |
| Fenoles Totales (mg de AG g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 1238.86 \pm 58.87 ^b | 1099.08 \pm 61.83 ^a | 1040.72 \pm ^c |
| 21 días | 775.66 \pm 92.99 ^c | 1074.92 \pm 49.10 ^a | 1384.40 \pm ^b |
| 23 días | 1937.43 \pm 23.84 ^a | 806.25 \pm 67.92 ^b | 1739.65 \pm ^a |
| CV% | 4.93 | 6.05 | 8.18 |
| DMS | 162.87 | 150.68 | 284.85 |
| Capacidad antioxidante método DPPH (μg AAs g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 694.39 \pm 70.36 ^b | 1560.40 \pm 322.74 ^a | 1267.00 \pm 149.82 ^c |
| 21 días | 981.94 \pm 74.05 ^a | 1251.20 \pm 203.78 ^a | 3423.40 \pm 203.92 ^a |
| 23 días | 1066.10 \pm 20.73 ^a | 614.70 \pm 22.41 ^b | 1900.20 \pm 171.92 ^b |
| CV% | 6.58 | 19.32 | 8.03 |
| DMS | 150.75 | 553.01 | 442.42 |
| Capacidad antioxidante método FRAP (μg AAs g ⁻¹ PS) | | | |
| 0 días | 698.61 \pm 19.98 ^a | 876.80 \pm 12.48 ^a | 656.62 \pm 31.14 ^c |
| 21 días | 592.65 \pm 14.27 ^b | 687.52 \pm 23.18 ^b | 1776.46 \pm 59.23 ^a |
| 23 días | 665.92 \pm 4.88 ^a | 375.25 \pm 6.22 ^c | 990.10 \pm 115.07 ^b |
| CV% | 2.21 | 2.41 | 6.73 |
| DMS | 36.20 | 39.11 | 192.52 |

PS: peso seco; CV: Coeficiente de Variación; DMS: Diferencia Mínima Significativa. Medias \pm DE, n = 3. Valores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

En el presente estudio, los resultados revelaron que la capacidad antioxidante, evaluada por el método del DPPH, se incrementó significativamente en los frutos del cultivar Hass y del genotipo, expuestos directamente a la temperatura de maduración ($20\pm 2^\circ\text{C}$) por ocho días, lo que significó un aumento del 25.4 y 50.6 %, respectivamente; en el caso del cultivar Colín-V33, si bien se observó un aumento (7.9 %) en la capacidad antioxidante durante la maduración, este no fue significativamente diferente respecto al valor inicial (Cuadro 3.1). Un aumento en la capacidad

antioxidante ha sido reportado por Daiuto et al. (2011) quienes informaron que la capacidad antioxidante medida por el método DPPH se incrementó en frutos de aguacate ‘Fuerte’ durante el proceso de maduración; por otro lado, los resultados obtenidos permiten asumir que las diferencias observadas en la capacidad antioxidante entre los frutos en estudio, está relacionada con los diferentes perfiles de compuestos fenólicos entre los mismos. Una respuesta similar, en cuanto al incremento significativo en la capacidad antioxidante (42.9 %), se observó en los frutos del cultivar Hass medida por el método FRAP; con este método, la medida de la capacidad antioxidante en los frutos del cultivar Colín V33 y el genotipo disminuyó en 28.6 y 7.2 % durante la maduración, respectivamente (Cuadro 3.1).

En cuanto al efecto de la refrigeración, los resultados obtenidos revelaron un aumento significativo en la capacidad antioxidante, medida por el método DPPH, en los frutos de los cultivares Colín V-33 (29.3 %) y Hass (63.0 %) almacenados por 21 días a 2 ± 1 °C, respuesta contraria se observó en los frutos del genotipo al disminuir, de manera no significativa, su capacidad antioxidante hasta en 19.8 % (Cuadro 3.3); sin embargo, esta tendencia cambió al transferir a la temperatura de maduración, en cuyo caso ‘Colín V33’ continuó incrementando su capacidad antioxidante, de manera no significativa, en 7.9 % , en tanto que en ‘Hass’ y el genotipo disminuyó significativamente en 50.9 y 44.5 %, respectivamente (Cuadro 3.4), lo que evidenció una respuesta diferente en cuanto a resistencia a bajas temperaturas por los diferentes frutos en estudio. Por el método FRAP, los frutos del genotipo y los cultivares Hass y Colín V33 presentaron una respuesta similar, respecto al método DPPH, en cuanto a variaciones de la capacidad antioxidante, durante la exposición a la temperatura de refrigeración y posterior traslado a condiciones de maduración (Cuadro 3.3). Estos resultados coinciden con lo establecido por Thomas-Barberan y Espín (2001) en cuanto al efecto del cultivar y/o material genético, en la actividad antioxidante de los frutos de

aguacate; además no se observó una relación entre contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante tanto en los cultivares y genotipo estudiados, respuesta que coincide con lo reportado por Daiotu *et al.* (2011) quienes no encontraron una correlación significativa entre contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en aguacate ‘Fuerte’, lo que sugiere el efecto de cambios en el contenido y perfil de compuestos fenólicos presentes en cada material genético en estudio. Es de señalar que los mayores valores en la medida de la capacidad antioxidante obtenidos por el método DPPH, respecto al método FRAP, plantea la hipótesis de que se debe a la presencia de compuestos de tipo lipofílico y a la presencia de otros compuestos como α -tocoferol, carotenoides, clorofilas y flavonoides en el extracto de aguacate que contribuyen a la mayor estabilización del radical libre DPPH (Moreno et al., 2014).

El proceso de maduración de los frutos es asociado con cambios específicos químicos y/o enzimáticos de los pigmentos, por tal razón también se emplean como indicadores de calidad; durante la maduración y la senescencia las clorofilas se degradan; sin embargo, esto es esencial para otorgar pigmentación en las frutas (Vergara-Domínguez et al., 2016). En el Cuadro 3.2 se observa que durante la maduración la clorofila (total, a y b) disminuyó significativamente como parte del proceso de maduración. Los frutos del genotipo fueron los que muestran mayor contenido de clorofila total tanto en madurez fisiológica ($184.02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS) como en madurez de consumo ($116.77 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS), seguido del cultivar Hass y posteriormente los frutos del cultivar Colín V-33. Los mayores cambios se dieron en el contenido de clorofila “a”, ya que luego de ocho días a temperatura de maduración ($20\pm 1^\circ\text{C}$) en los frutos de los dos cultivares y el genotipo, disminuyó en alrededor del 50 %; por otro lado, la clorofila “b” aunque disminuyó significativamente en el genotipo y el cultivar Hass, el porcentaje fue menor al 30%. Autores como Cox et al. (2004) y Ashton et al. (2006) reportaron una disminución en la concentración de clorofilas en frutos de

aguacate ‘Hass’ por efecto del proceso de maduración; asimismo reportaron altas concentraciones de clorofila “a” y bajas de clorofila “b”, tal como ocurrió en el presente estudio.

Durante el almacenamiento en frío a $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 21 días, el contenido de clorofila total disminuyó en los tres materiales estudiados, siendo significativa esta disminución en ‘Colín V-33’ y ‘Hass’ (Cuadro 3.4). Luego de dos días a temperatura de maduración, la clorofila total nuevamente disminuyó de forma significativa en los dos cultivares y el genotipo; de igual forma ocurrió con la clorofila “a” que disminuyó; no obstante, la clorofila “b” se mantuvo durante el almacenamiento en frío en los tres materiales en estudio y sin cambios significativos, luego de dos días en maduración, disminuyó.

Cuadro 3.4. Cambios en el contenido de clorofila (total, a y b) y carotenoides totales en pulpa de frutos de aguacate almacenados a $2\pm 1^\circ\text{C}$ por 21 días, seguido de dos días a $20\pm 1^\circ\text{C}$ para su maduración.

| Variable | Cultivar | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | Colín V-33 | Oaxaca-7 | Hass |
| Clorofila Total | | | |
| ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS) | | | |
| 0 días | 41.48 \pm 2.54 ^a | 184.03 \pm 50.40 ^a | 103.48 \pm 2.51 ^a |
| 21 días | 18.23 \pm 4.34 ^b | 150.66 \pm 2.19 ^a | 87.44 \pm 5.07 ^b |
| 23 días | 10.44 \pm 0.94 ^c | 124.32 \pm 2.88 ^a | 59.03 \pm 3.51 ^c |
| CV% | 12.63 | 19.06 | 4.61 |
| DMS | 7.40 | 73.07 | 9.63 |
| Clorofila a | | | |
| ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS) | | | |
| 0 días | 33.95 \pm 2.29 ^a | 119.25 \pm 26.50 ^a | 70.75 \pm 1.57 ^a |
| 21 días | 8.87 \pm 1.34 ^b | 83.01 \pm 3.06 ^{ab} | 50.52 \pm 7.96 ^b |
| 23 días | 6.34 \pm 0.94 ^b | 72.81 \pm 0.58 ^b | 39.08 \pm 1.60 ^c |
| CV% | 9.90 | 16.79 | 8.93 |
| DMS | 4.06 | 38.58 | 11.96 |
| Clorofila b | | | |
| ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS) | | | |
| 0 días | 7.53 \pm 1.92 ^{ab} | 64.77 \pm 23.91 ^a | 32.72 \pm 3.66 ^a |
| 21 días | 9.35 \pm 3.04 ^a | 67.65 \pm 0.98 ^a | 36.92 \pm 2.90 ^a |
| 23 días | 4.09 \pm 0.23 ^b | 31.51 \pm 3.21 ^a | 18.75 \pm 0.70 ^b |
| CV% | 29.75 | 22.73 | 9.25 |
| DMS | 5.21 | 34.92 | 6.83 |
| Carotenoides totales | | | |
| (μg de β -caroteno $\cdot\text{g}^{-1}$ PS) | | | |
| 0 días | 10.65 \pm 0.84 ^b | 34.70 \pm 5.36 ^a | 20.41 \pm 2.38 ^a |
| 21 días | 16.88 \pm 1.39 ^{ab} | 27.38 \pm 6.11 ^{ab} | 10.55 \pm 1.77 ^b |
| 23 días | 19.34 \pm 5.36 ^a | 15.54 \pm 5.30 ^b | 11.35 \pm 3.99 ^b |
| CV% | 20.71 | 21.64 | 20.34 |
| DMS | 8.10 | 14.03 | 7.18 |

PS: peso seco; CV: Coeficiente de Variación; DMS: Diferencia Mínima Significativa. Medias \pm DE, n = 3. Valores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

En lo que respecta a los carotenoides totales, estos pigmentos disminuyeron de manera significativa durante el proceso de maduración, principalmente en el genotipo y el cultivar Hass (Cuadro 3.2). La mayor concentración de carotenoides totales al momento de cosecha, se detectó en la pulpa de los frutos del genotipo con $34.70 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS, seguido del cultivar Hass ($20.41 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS) y del cultivar Colín V33 ($16.88 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS); sin embargo, como parte del proceso de maduración a $20\pm 2^\circ\text{C}$, la concentración de estos pigmentos disminuyó hasta alcanzar 16.09 , 9.63 y $14.14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS, respectivamente (Cuadro 3.2). Similar comportamiento en cuanto a la

disminución de la concentración de carotenoides totales se presentó en los frutos almacenados a condiciones de refrigeración (2 ± 1 °C por 21 días) y continuó tras el traslado a condiciones de maduración (20 ± 2 °C por 2 días), alcanzando tras este último periodo una concentración de 10.65 (Colín V33), 15.54 (Genotipo) y 10.55 (Hass) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS, lo cual sugiere que la exposición a las condiciones de refrigeración establecidas no afectaron el metabolismo de carotenoides en los frutos. La época de cosecha y el lugar de producción influyen sobre el contenido de carotenoides totales en frutos de aguacate; además durante el proceso de maduración estos pigmentos tienden a disminuir, tal como ha sido reportado por algunos investigadores (Ashton et al., 2006; Qing-Yi et al., 2009).

La luteína, carotenoide típico de tejidos verdes, fue el más abundante encontrado en la pulpa de los frutos de aguacate de los dos cultivares y genotipo en estudio (Lado et al., 2017), detectándose en estado de madurez fisiológica una concentración de 1.19 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS en el cultivar Colín V-33, 12.61 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS para el Genotipo y 2.65 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS para el cultivar Hass; en la madurez de consumo, el contenido de luteína disminuyó hasta alcanzar 0.59 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS en Colín V33, 5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS en el Genotipo y 1.81 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS en el cultivar Hass (Figura 1), lo que significó una disminución del 50.4, 60.3 y 31.7 %, respectivamente, comportamiento que ha sido también reportado por Ashton et al. (2009). Concentraciones también importantes fueron detectadas de neoxantina, *t*-violaxantina, 9,*cis*-neoxantina, luteoxantina, *cis*-violaxantina, anteraxantina, β -criptoxantina, α -caroteno y β -caroteno; todos en el orden <1.00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS. Después de los 21 días de almacenamiento a 2 ± 1 °C, la concentración de los carotenoides mencionados disminuyó, incluso tras transferir a temperatura de maduración; en este sentido, la luteína disminuyó hasta: ‘Colín V-33’ 0.65 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS, el genotipo a 5.56 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS y ‘Hass’ a 2.33 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PS, lo que correspondió al 45.8, 55.9 y 12.1 %, respectivamente, en base al valor al momento de cosecha. Es de señalar que

en los otros carotenoides detectados se observaron cambios en el orden de concentración, así en el Genotipo tras 8 días de maduración a 20 ± 2 °C el orden de concentración, de mayor a menor, fue: luteína, neoxantina y cis-Violaxantina; después de 21 días a 2 ± 1 °C y 2 días a 20 ± 2 °C fue: neoxantina, luteína y cis-Violaxantina. Ashton et al. (2006) y Qing-Yi et al. (2009) reportan a la luteína como el principal carotenoide presente en la pulpa de aguacate ‘Hass’ y cuyas concentraciones variaron entre 2.00 a $8.00 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF; otros investigadores han también reportado a la α - Criptoxantina y Zeaxantina en pulpa de aguacate (Qing-Yi *et al.*, 2009). Los resultados obtenidos ponen en evidencia el efecto del cultivar y genotipos en el contenido y comportamiento de la concentración y perfil de carotenoides, así como el efecto del grado de madurez y condiciones de almacenamiento, lo cual se traduce en diferencias en el color de la pulpa y valor nutracéutico de los frutos de aguacate.

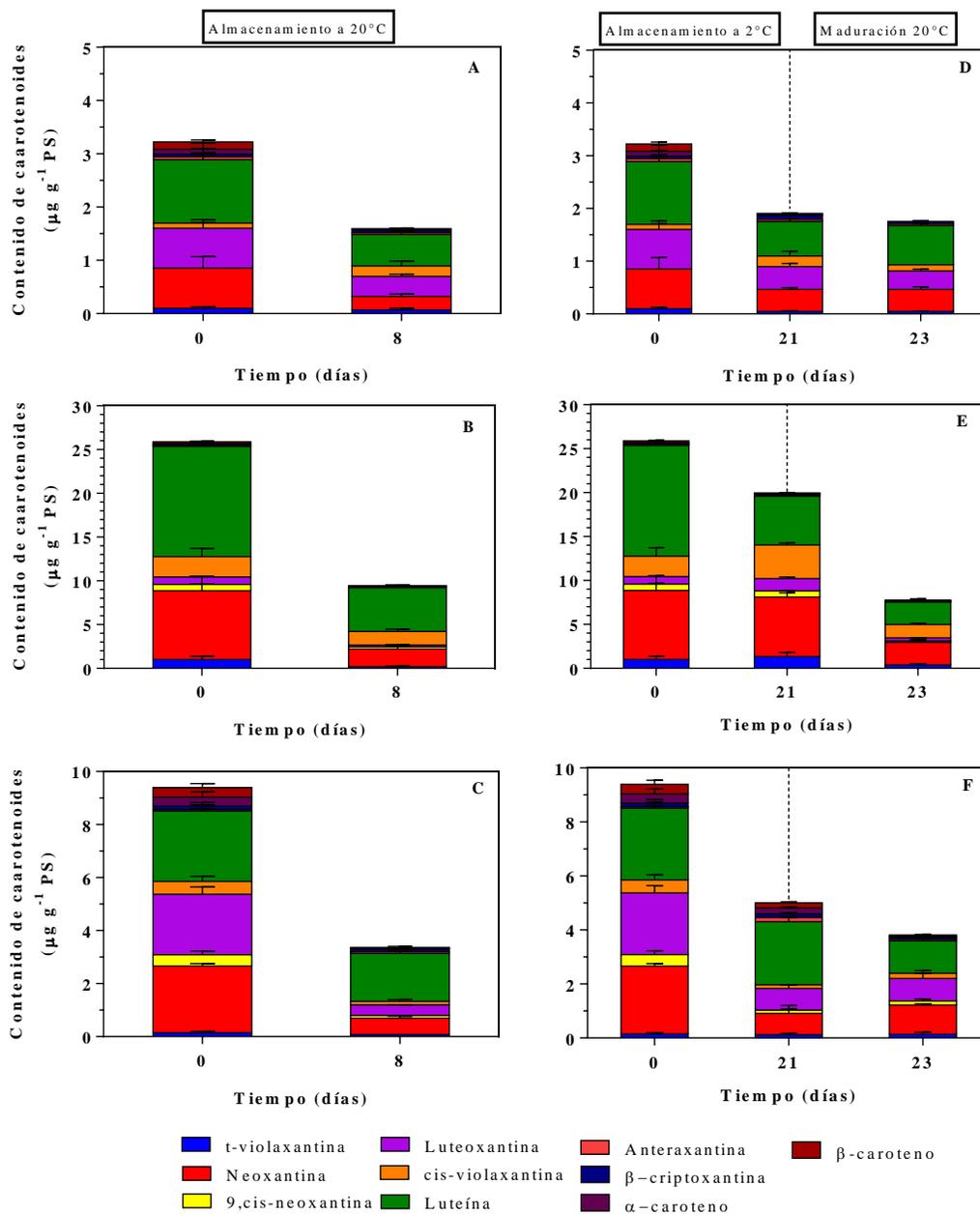


Figura 3.1. Comportamiento de los carotenoides en pulpa de aguacate Colín V-33 (A, D), Oaxaca (B, E) y Hass (C, F) almacenados a 20±1°C y almacenados a 2±1°C por 21 días seguidos de 2 días a 20±1°C. Los datos de carotenoides son medias ± DE de tres replicas.

3.6 CONCLUSIONES

Los frutos de los dos cultivares y el genotipo, cosechados con el contenido de materia seca indicados, almacenados a 2 ± 1 °C por 21 días presentan cambios en la firmeza de la pulpa similares a los expuestos directamente a la temperatura de maduración (20 ± 2 °C), sin presentar síntomas de daños por frío por maduración anormal.

A excepción de los frutos de aguacate del cultivar Colín V-33, el contenido de fenoles totales del cultivar Hass y del Genotipo, se incrementa durante la maduración a 20 ± 2 °C; esta misma tendencia se mantiene en ‘Hass’ tras 21 días de refrigeración a 2 ± 1 °C y posterior maduración a 20 ± 2 °C por dos días. En estos mismos, la capacidad antioxidante aumenta durante la refrigeración y disminuye después de transferir a la temperatura de maduración; una respuesta no bien definida se presenta en el cultivar Colín V-33 y el Genotipo. En los dos cultivares y el Genotipo el contenido de clorofila y carotenoides totales disminuye con la maduración y almacenamiento refrigerado; clorofila “a” y luteína son los compuestos que definen los principales cambios en el color de la pulpa de los frutos de aguacate estudiados.

3.7 LITERATURA CITADA

- Alam, N. Md., Bristi, N.J. & Rafiquzzaman, Md. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152.
- Alquézar, B., Rodrigo, M.J. & Zacarías, L. (2008). Carotenoid biosynthesis and their regulation in Citrus fruits. *Tree Forestry Science Biotechnology*, 2, 23–35.
- Arévalo-Galarza L., Saucedo-Veloz, C., Bustos-Ramírez, E. & González-Hernández, H. (2002). Maduración de frutos de aguacate ‘Hass’ tratados con radiaci n gamma. *Agrociencia*, 36, 667-673.
- Ashton, O. B. O., Wong, M., McGhie, T. K., Vather, R., Wang, Y., Requejo-Jackman, C., Ramankutty, P & Woolf, A. B. (2006). Pigments in Avocado Tissue and Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 10151–10158.
- Blakey, R.J., Tesfay, S. Z., Bertling, I. & Bower, J.P. (2014). Ripening physiology and quality of ‘Hass’ avocado (*Persea americana* Mill.) after cold storage at 1 C. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89(6), 655-662.
- Couey, H. M. (1982). Chilling injury crops of tropical and subtropical origin. *Horticultural Science*, 17, 162-165.
- Cox, A.K., McGhie, T.K., White, A. & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of ‘Hass’ avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31,287-294.
- Cutting, J. G. M. & Wolstenholme, B. N. (1992). Maturity and water loss effects on avocado (*Persea americana* Mill.) postharvest physiology in cool environments. *Journal of Horticultural Science*, 67 (4), 569-575.
- Daiuto, E.R., Fumes, J.G.F., Vieites, R.L., Cabia, N.C. & Castro R.S.D. (2011). Antioxidant capacity and total phenolic content of hydrothermally-treated ‘Fuerte’ avocado. *Advances in Horticultural Science*, 25(2), 75-80.
- DellaPenna, D. & Pogson, B.J. (2006). Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids. *Annual Review of Plant Biology*, 57,711–38.
- Di Stefano, V., Avellone, G., Bongiorno, D., Indelicato, S., Massenti, R. & Lo Bianco, R. (2017). Quantitative evaluation of the phenolic profile in fruits of six avocado (*Persea americana*) cultivars by ultra-high-performance liquid chromatography-heated electrospray-mass spectrometry. *International Journal of Food Properties*, 20 (6), 1302-1312.
- Fraser, P.D. & Bramley, P.M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, 43,228–265.
- Krinsky, N.I. (1994). The biological properties of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 66,1003–101.

- Lado, J., Cronje, P., Alquézar, B., Page, A., Manzi, M., Gómez-Cadenas, A., Stead, A.D., Zacarías, L., & Rodrigo, M.J. (2015). Fruit shading enhances peel colour, carotenes accumulation and chromoplast differentiation in red grapefruit. *Physiologia Plantarum*, 154(4):469-84.
- Lado, J., Cuéllar, F.A., Zacarías, L. & Rodrigo, M.J. (2017). Carotenoides en frutos cítricos: diversidad y biosíntesis, En A.J. Meléndez-Martínez (Ed.), *Carotenoides en agroalimentación y salud* (pp. 223-246). Sevilla, España: Editorial Terracota.
- Lado, J., Rodrigo, M. J., López-Climent, M., Gómez-Cadenas, A. & Zacarías, L. (2016a). Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111,214–223.
- Lado, J., Zacarías, L. & Rodrigo, M. J. (2016b). Regulation of Carotenoid Biosynthesis During Fruit Development. En C. Stange (Ed.), *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, BRegulation and Function* (pp. 161–198). Switzerland:Springer International Publishing.
- Lyons, J. M., Raison, J. K. & Graham, D. (1979). *Low temperature stress in crop plants: The role of membrane*. New York, USA: Academic Press.
- Moreno, E., Ortiz, B.L. & Restrepo, L.P. (2014). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Revista Colombiana de Química*, 43(3), 41-48.
- Morris, L. L. (1982). Chilling injury of horticultural crops: An overview. *Horticultural Science*, 17,161-162.
- Naczka M, Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5):1523-1542.
- Pío-León, J.F., Díaz-Camacho, S.P., Montes-Avila, J., López-Angulo, G. & Delgado-Vargas, F. (2012). Nutritional and nutraceutical characteristics of white and red *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth fruits. *Fruits*, 68(5), 397-408.
- Qing-Yi, L., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, D., Lee, R.P., Gao, K., Byrns, R. & Heber, D. (2009). California Hass Avocado: Profiling of Carotenoids, Tocopherol, Fatty Acid, and Fat Content during Maturation and from Different Growing Areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10408-10413.
- Rodrigo, M.J., Marcos, J.A., Alférez, F., Mallent, M.D. & Zacarías, L. (2003). Characterization of Pinalate, a novel *Citrus sinensis* mutant with a fruit-specific alteration that results in yellow pigmentation and decreased ABA content. *Journal of Experimental Botany*, 54 (383), 727-738.
- SAS. 2002. *Statistical Analysis System*. Version 9.0. SAS Institute N. C. USA.
- Smith, J.H.C. & Benítez, A. (1955). *Chlorophylls: Analysis in plant materials*. En K. Paech and M.V. Tracey (Eds.), *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Vol.4 (pp. 142-196). Berlin:Springer.

- Soong, Y.Y. & Barlow, P.J. (2004). Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*, 88 (3), 411-417.
- Sultana B., & Anwar, F. (2008). Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry*, 108 (3), 879-884.
- Tomás- Barberán, F.A & Espín, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81 (9), 853–876.
- Vergara-Domínguez, H., Ríos, J.J., Gandul-Rojas, B. & Roca, M. (2016). Chlorophyll catabolism in olive fruits (var. Arbequina and Hojiblanca) during maturation. *Food Chemistry*, 212, 604–611.
- Wang, M., Zheng, Y., Khuong, T. & Lovatt C.J. (2012). Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in ‘Hass’ avocado during storage. *Food Chemistry*, 135, 694–698.
- Wang, W., Bostic, T. R. & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, 122, 1193-1198.
- Whiley, A.W., Schaffer, B. & Wolstenholme, B. N. (2002). *The Avocado: Botany, Production and Uses*. Wallingford, U.K.: CABI Publishing.
- Zauberman, G. & Jobin-Decor, M.P. (1995). Avocado (*Persea americana* Mill.) quality changes in response to low-temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 5, 235-243.

CONCLUSIONES GENERALES

El uso de ethephon como inductor de la maduración en frutos de aguacate ‘Hass’ y ‘Méendez’ favorece el proceso de maduración al adelantar el climaterio respiratorio y producción autocatalítica de etileno, a una temperatura de 20 ± 2 °C; la concentración 1000 mg L^{-1} en ‘Hass’ y 500 mg L^{-1} en ‘Méendez’ favorecen la obtención de características deseables para el consumo luego de siete días.

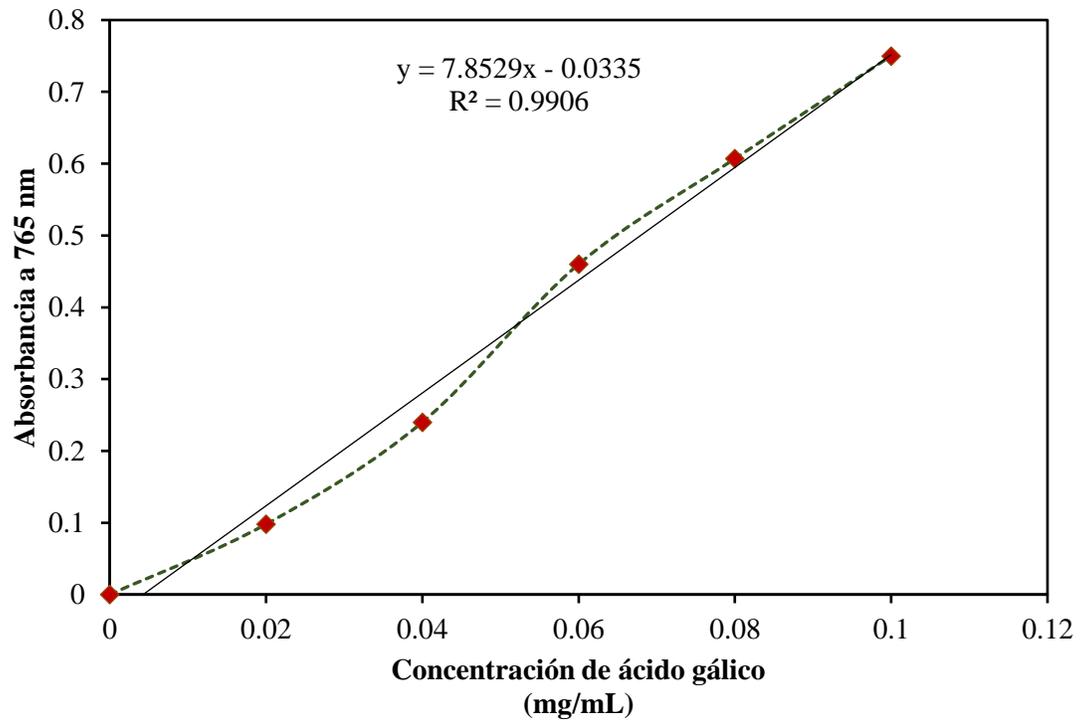
El estado de madurez de los frutos de aguacate ‘Hass’ y ‘Méendez’ influye en la composición estructural de la pared celular, así como el secado por liofilización. La liofilización permitió mantener un bajo índice de oscurecimiento en la pulpa deshidratada; asimismo la extracción de compuestos bioactivos, carotenoides y fenoles, así como aceite fue mayor en pulpa liofilizada, en ambos cultivares.

Durante el almacenamiento en frío, no se afectó la calidad del fruto de los cultivares (Colín V-33 y Hass) y genotipo (Oaxaca-7); sin embargo, una vez que se trasladaron a temperatura de maduración (20 °C) su vida de anaquel se acortó a dos días, deteriorándose rápidamente la calidad, ya que el contenido de fenoles, clorofilas y carotenoides disminuyó significativamente afectando la actividad antioxidante del producto y el color proporcionado principalmente por clorofilas y luteína.

ANEXOS

Anexo 1. MATERIAL SUPLEMENTARIO CAPITULO I

Apéndice 1. Curva de calibración para determinar la concentración de fenoles totales en frutos de aguacate 'Hass' y 'Méndez'.



Apéndice 2. Comparación de medias, de la intensidad respiratoria y producción de etileno, por la prueba de rangos múltiples 95 % Bonferroni para frutos de aguacate ‘Hass’ tratados con 0, 500 y 1000 mg L⁻¹ de ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C durante 11 días.

| Dosis de ethephon (mg L ⁻¹) | TA (Días) | Respiración (mL de CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹) | Etileno (μL C ₂ H ₄ kg ⁻¹ h ⁻¹) |
|---|----------------|---|--|
| 0 | 2 ^z | abcd | a |
| | 3 | ab | a |
| | 4 | abcde | a |
| | 5 | abcdef | a |
| | 6 | cdefghi | a |
| | 7 | defghi | a |
| | 8 | fghij | ab |
| | 9 | ghij | b |
| | 10 | hij | b |
| | 11 | ND | ND |
| | 500 | 2 | abcd |
| 3 | | a | a |
| 4 | | abcde | a |
| 5 | | cdefghi | a |
| 6 | | efghij | a |
| 7 | | bcdefg | a |
| 8 | | fghij | b |
| 9 | | fghij | b |
| 10 | | fghij | b |
| 11 | | ND | ND |
| 1000 | | 2 | abcd |
| | 3 | abc | a |
| | 4 | abcdefg | a |
| | 5 | defghi | a |
| | 6 | efghij | a |
| | 7 | fghij | ab |
| | 8 | j | b |
| | 9 | ij | b |
| | 10 | ND | ND |
| | 11 | ND | ND |

TA:Tiempo de almacenamiento ^zValores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de α=0.05. ND:Sin determinar.

Apéndice 3. Comparación de medias, de la intensidad respiratoria y producción de etileno, por la prueba de rangos múltiples 95 % Bonferroni para frutos de aguacate ‘Méndez’ tratados con 0, 500 y 1000 mg L⁻¹ de ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C durante 11 días.

| Dosis de ethephon (ppm) | TA (Días) | Respiración (mL de CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹) | Etileno (μL C ₂ H ₄ kg ⁻¹ h ⁻¹) |
|-------------------------|-----------|---|--|
| 0 | 2 | ab ^z | a |
| | 3 | abc | a |
| | 4 | ab | a |
| | 5 | abcdefg | a |
| | 6 | abcdefg | a |
| | 7 | abcdefgh | a |
| | 8 | defghijk | a |
| | 9 | ijkl | abc |
| | 10 | jkl | bc |
| | 11 | jkl | c |
| | 500 | 2 | ab |
| 3 | | abcd | a |
| 4 | | abcdef | a |
| 5 | | bcdefghi | a |
| 6 | | efghijkl | a |
| 7 | | cdefghijkl | a |
| 8 | | fghijkl | ab |
| 9 | | ijkl | bc |
| 10 | | l | c |
| 11 | | kl | c |
| 1000 | | 2 | ab |
| | 3 | a | a |
| | 4 | abcde | a |
| | 5 | bcdefghi | a |
| | 6 | efghijkl | a |
| | 7 | defghijk | a |
| | 8 | defghijk | ab |
| | 9 | ghijkl | bc |
| | 10 | hijkl | bc |
| | 11 | ijkl | bc |

TA:Tiempo de almacenamiento ^zValores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de α=0.05.

Apéndice 4. Comparación de medias, de variables de calidad, por la prueba de rangos múltiples 95 % Bonferroni para frutos de aguacate ‘Hass’ tratados con 0, 500 y 1000 mg L⁻¹ de ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C durante 11 días.

| Dosis de ethephon (ppm) | TA (Días) | Pérdida de peso (%) | Firmeza (N) | Cambio de color (ΔE) | Índice de Saturación (Croma) | Fenoles Totales (mg 100g ⁻¹ pf) |
|-------------------------|-----------|---------------------|-------------|--------------------------------|------------------------------|--|
| 0 | 1 | a ^z | f | a | def | e |
| | 3 | abcd | def | ab | de | cde |
| | 5 | bcdefg | cdef | bc | bcde | bcd |
| | 7 | defgh | bcde | ab | bcde | abcd |
| | 9 | fgh | abc | ab | abcd | abc |
| | 11 | h | a | cde | a | abc |
| 500 | 1 | a | f | a | ef | e |
| | 3 | abc | def | ab | cdef | de |
| | 5 | bcdef | bcdef | b | bcdef | de |
| | 7 | efgh | abc | bcde | abcd | abc |
| | 9 | h | ab | bcde | abc | ab |
| | 11 | ND | ND | e | a | ND |
| 1000 | 1 | a | f | a | f | e |
| | 3 | ab | ef | ab | f | bcd |
| | 5 | abcde | bcde | bcde | ef | abcd |
| | 7 | cdefgh | abcd | bcde | abcd | ab |
| | 9 | gh | ab | ab | ab | a |
| | 11 | ND | ND | de | a | ND |

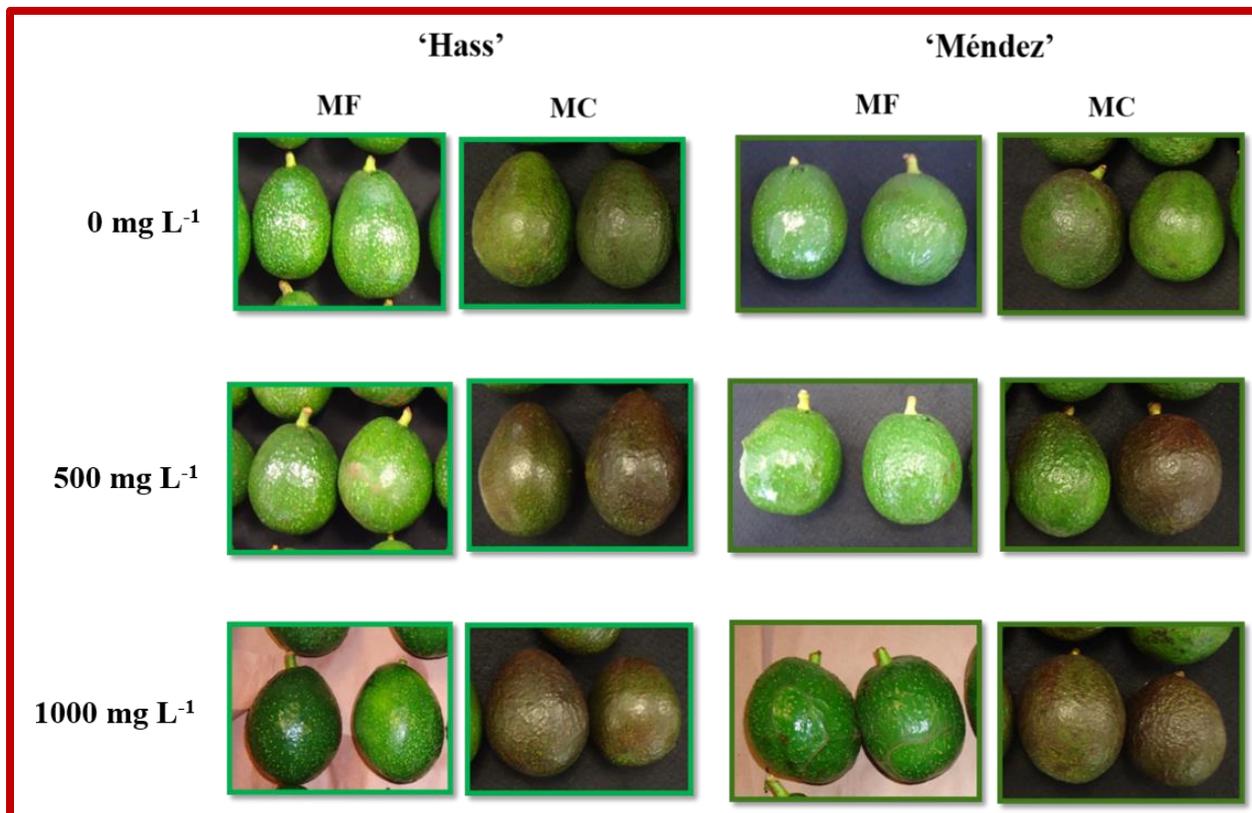
TA:Tiempo de almacenamiento ^zValores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Apéndice 5. Comparación de medias, de variables de calidad, por la prueba de rangos múltiples 95 % Bonferroni para frutos de aguacate ‘Méndez’ tratados con 0, 500 y 1000 mg L⁻¹ de ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C durante 11 días.

| Dosis de ethephon (ppm) | TA (Días) | Pérdida de peso (%) | Firmeza (N) | Cambio de color (ΔE) | Índice de Saturación (Croma) | Fenoles Totales (mg 100g ⁻¹ pf) |
|-------------------------|-----------|---------------------|-------------|--------------------------------|------------------------------|--|
| 0 | 1 | a ^z | i | a | e | h |
| | 3 | abcd | hi | ab | cde | gh |
| | 5 | bcdef | cdefgh | bc | bcd | fgh |
| | 7 | cdefgh | bcdefgh | bc | bcd | efgh |
| | 9 | fgh | abcd | bc | ab | abcd |
| | 11 | h | abc | cde | a | abcde |
| 500 | 1 | a | i | a | e | h |
| | 3 | ab | ghi | bc | de | defgh |
| | 5 | abcde | fghi | bcd | cde | cdefg |
| | 7 | bcdefg | defgh | bc | abc | abc |
| | 9 | efgh | abcde | bcd | abc | abc |
| | 11 | fgh | ab | de | a | abc |
| 1000 | 1 | a | i | a | e | h |
| | 3 | abc | ghi | ab | cde | fgh |
| | 5 | bcdef | efghi | bcd | abc | cdefg |
| | 7 | defgh | abcdefg | bc | abc | bcde |
| | 9 | gh | abcd | bc | ab | ab |
| | 11 | h | a | e | a | a |

TA:Tiempo de almacenamiento ^zValores con diferente letra dentro de la misma columna son estadísticamente distintos con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

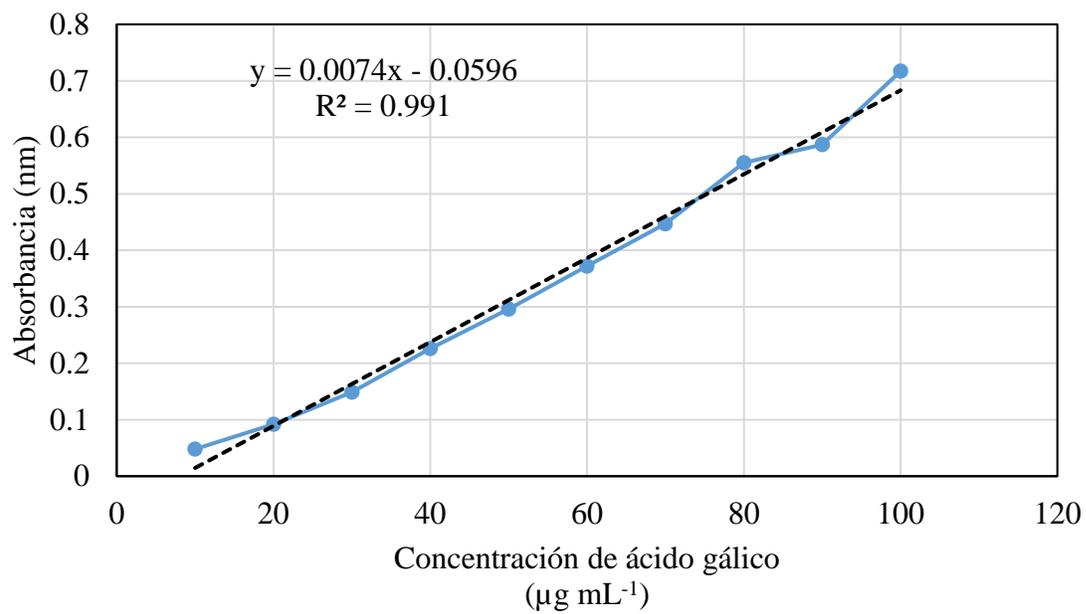
Apéndice 5. Cambios de color externo en frutos de aguacate ‘Hass’ y ‘Méndez’ en estado de madurez fisiológica y de consumo tratados con 0, 500 y 1000 mg L⁻¹ de ethephon y almacenados a 20 ± 2 °C durante 11 días.



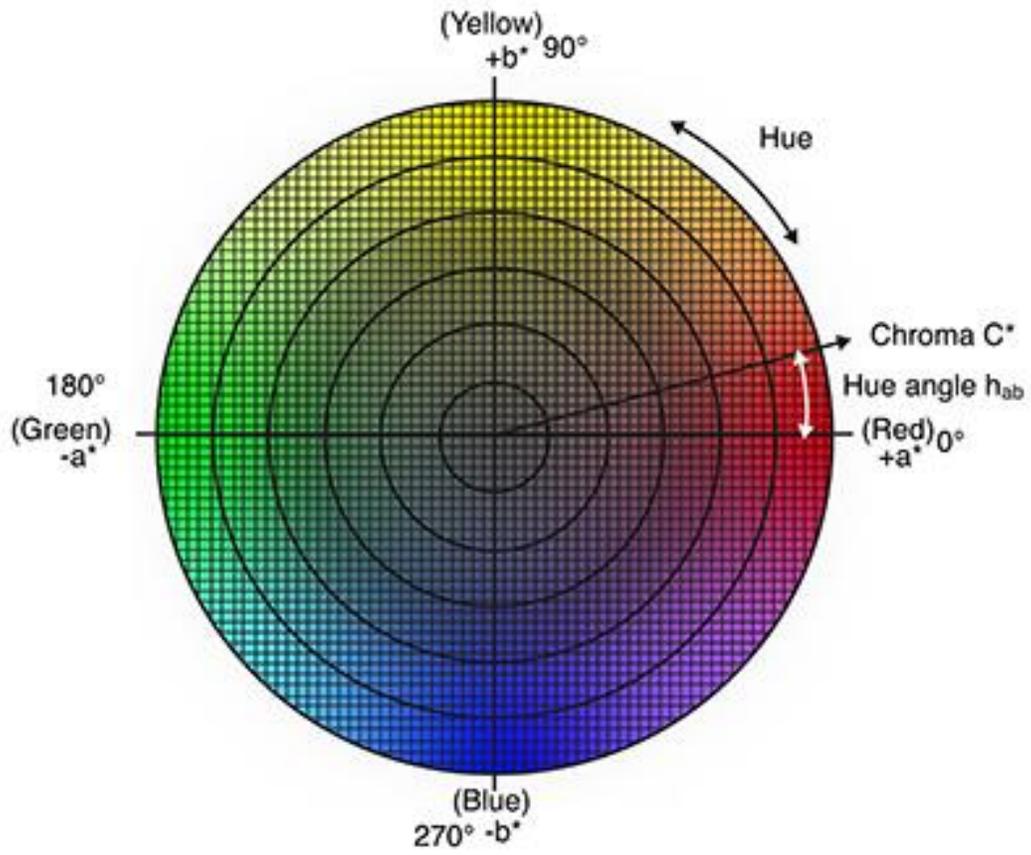
MF: Madurez fisiológica, MC: Madurez de consumo.

Anexo 2. INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA CAPITULO II

Apéndice 1. Curva de calibración para cuantificar fenoles totales.

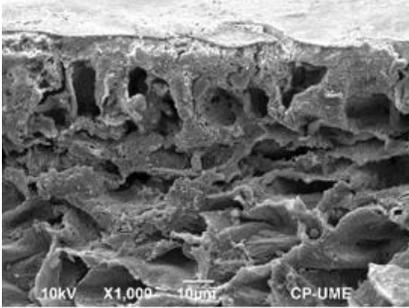


Apéndice 2. El Espacio de Color CIE L*C*h*.



Apéndice 2. Micrográficas electrónicas de barrido que muestran los cambios micro estructurales en pulpa de aguacate ‘Hass’.

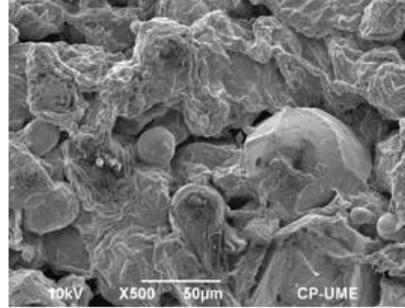
Madurez fisiológica



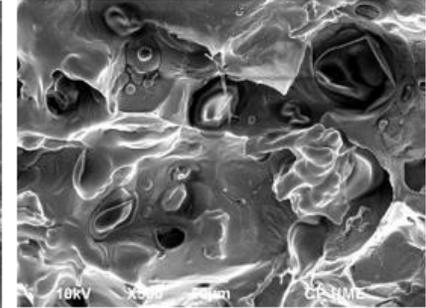
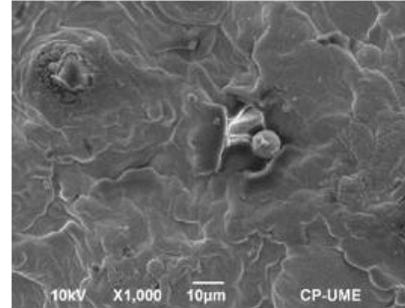
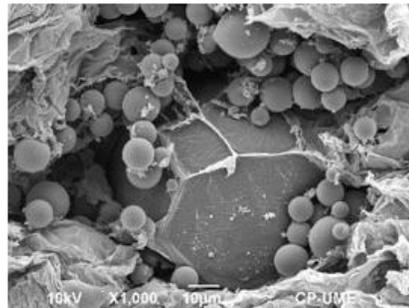
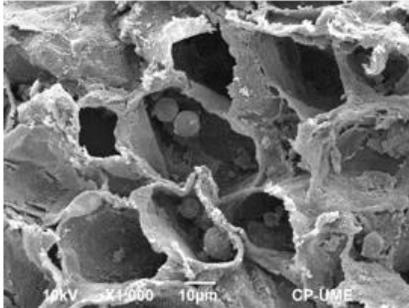
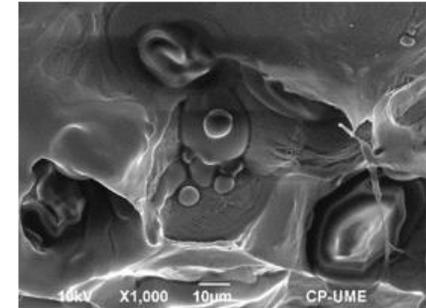
Madurez consumo



Madurez consumo,
congelado



Madurez consumo,
liofilizado



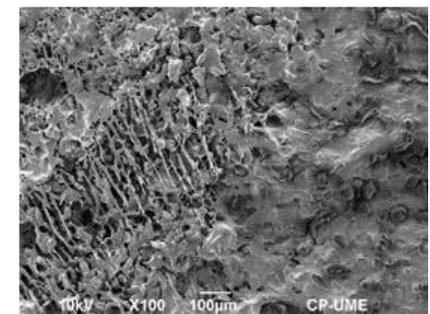
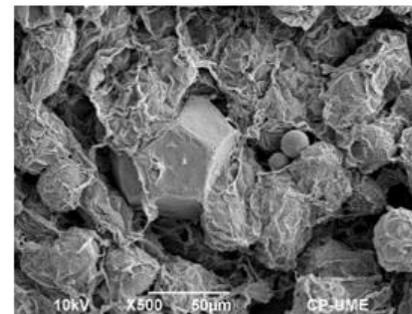
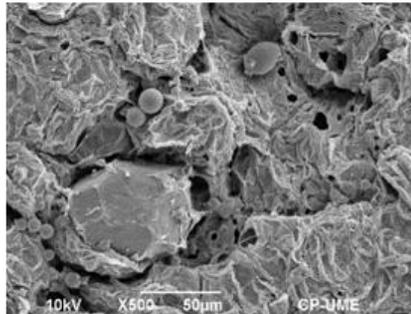
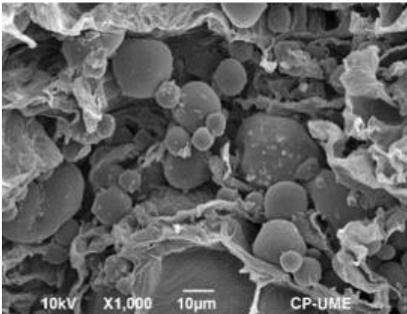
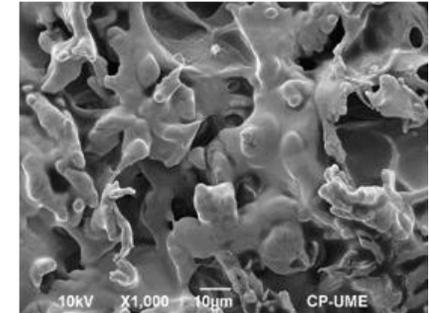
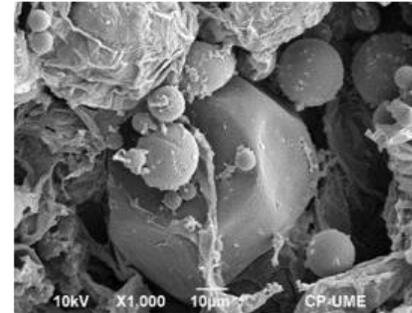
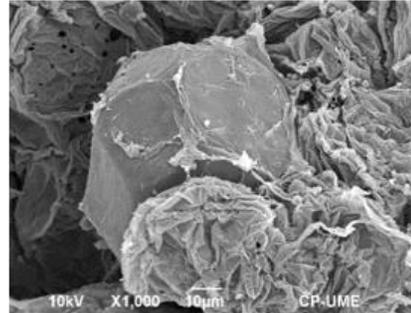
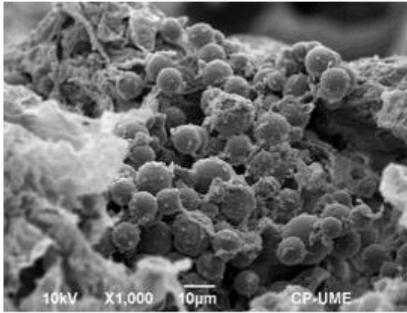
Apéndice 3. Micrograffías electrónicas de barrido que muestran los cambios micro estructurales en pulpa de aguacate ‘Méndez.

Madurez fisiológica

Madurez consumo

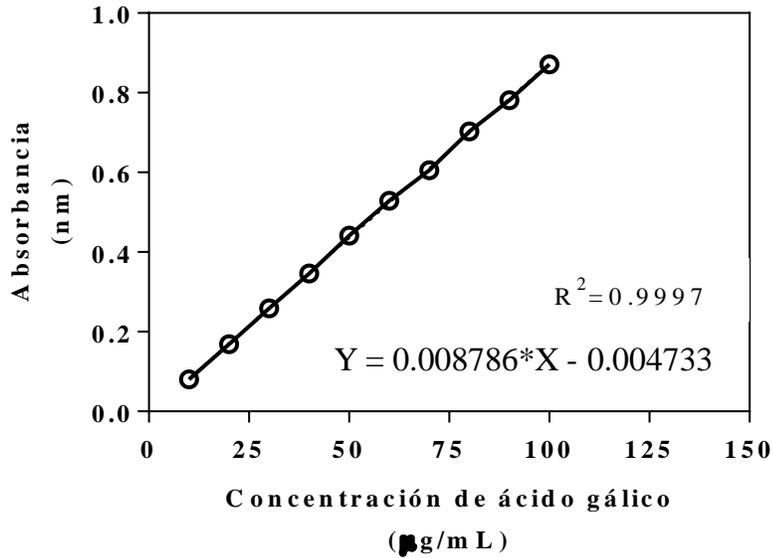
Madurez consumo,
congelado

Madurez consumo,
liofilizado

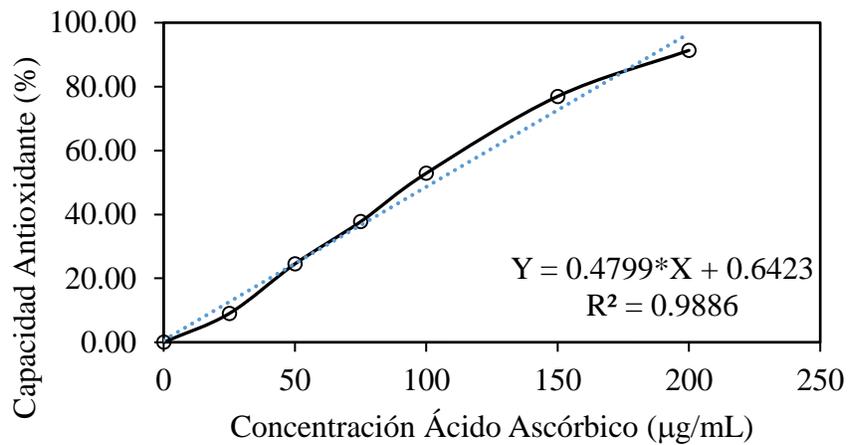


Anexo 3. MATERIAL SUPLEMENTARIO CAPITULO III

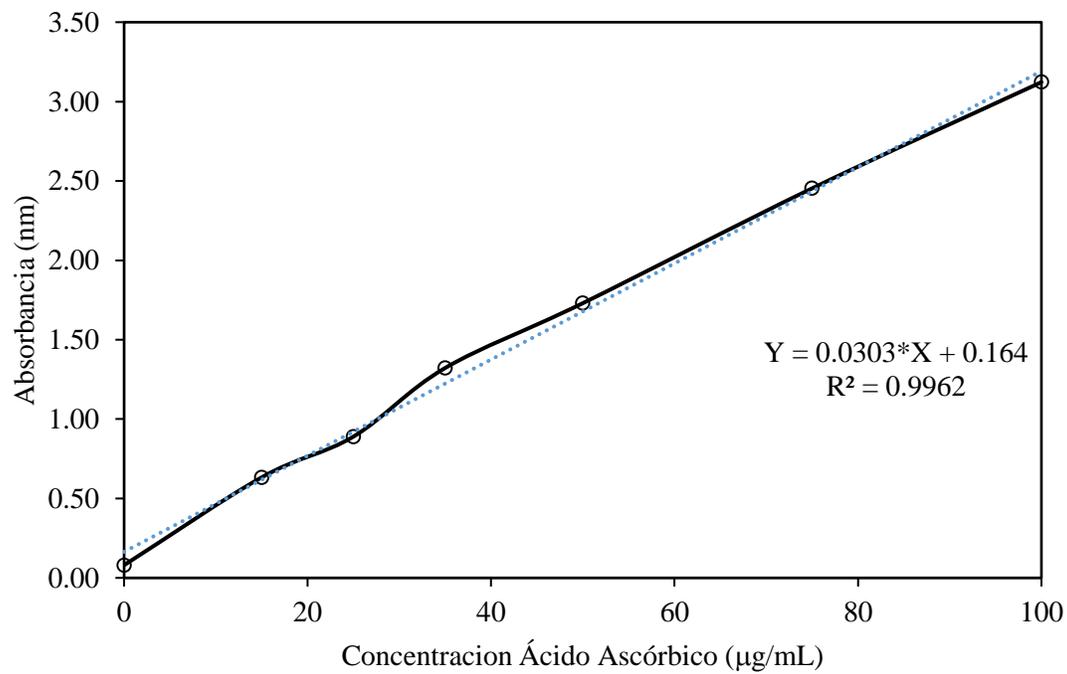
Apéndice 1. Curva de calibración para cuantificación de fenoles totales.



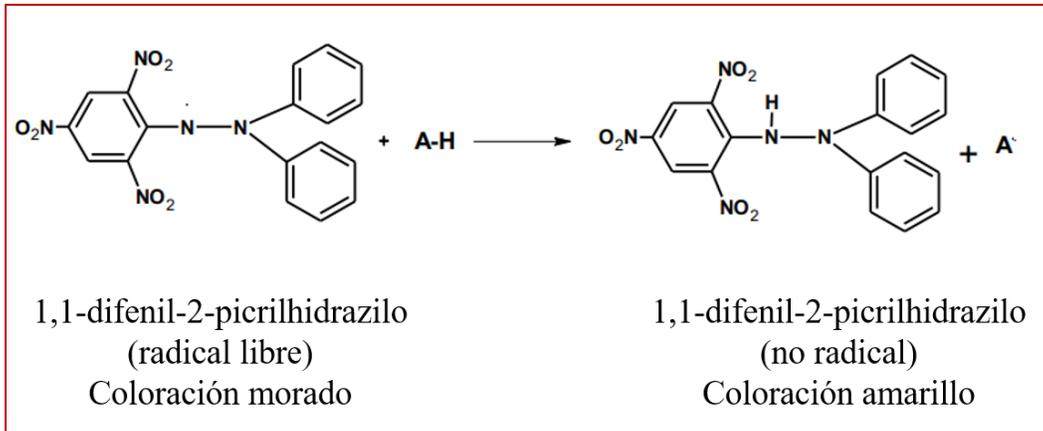
Apéndice 2. Curva de calibración para cuantificación de actividad antioxidante por el método DPPH.



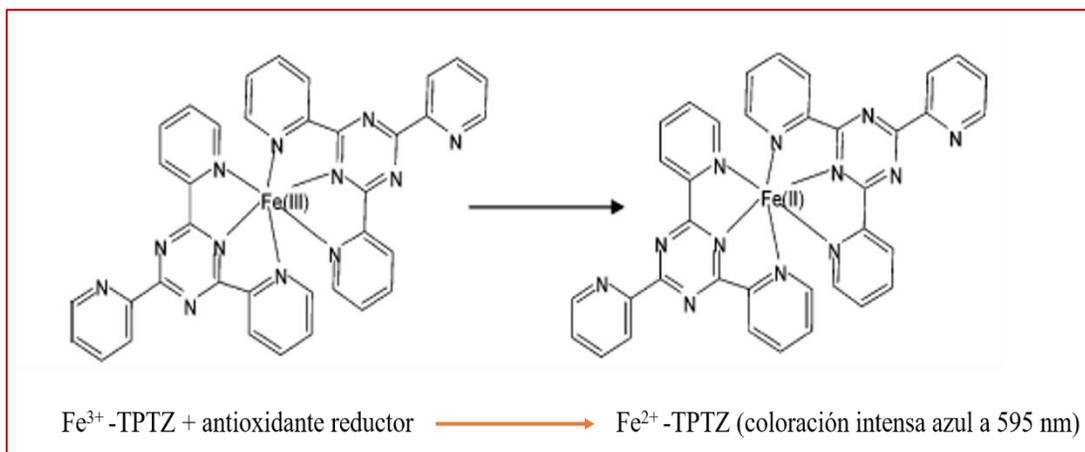
Apéndice 3. Curva de calibración para cuantificación de actividad antioxidante por el método FRAP.



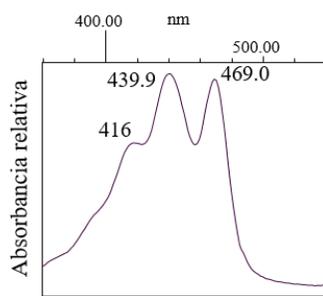
Apéndice 4. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante (Alam et al., 2012).



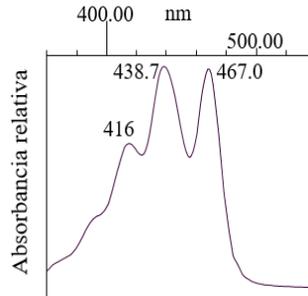
Apéndice 5. Reacción involucrada en el ensayo FRAP (Prior et al., 2005).



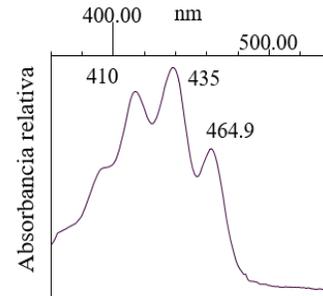
Apéndice 6. Espectros de absorción característicos de los carotenoides identificados en las muestras de pulpa de aguacate ‘Colín V-33’, ‘Hass’ y genotipo ‘Oaxaca-7’. Abajo a la derecha, se muestra la notación numérica (% III/II) que describe el porcentaje del cociente entre la altura del pico del máximo del espectro de absorción (banda III) y la altura del pico medio (banda II).



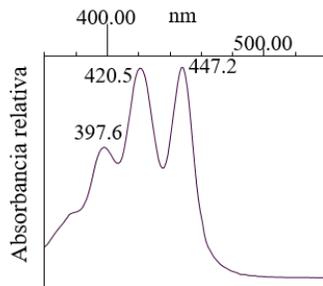
t-violaxantina



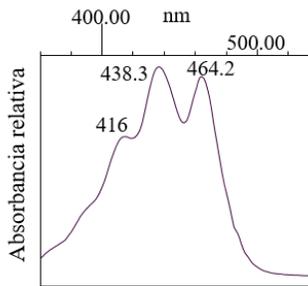
Neoxantina



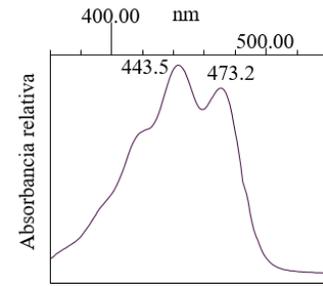
9-*cis*-neoxantina



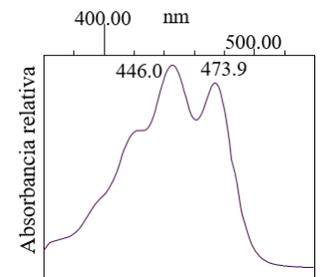
Luteoxantina



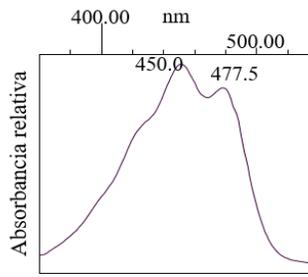
cis-violaxantina



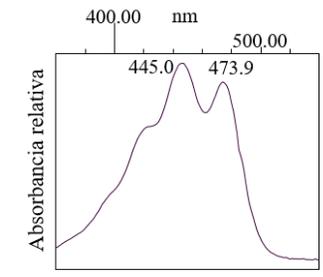
Luteína



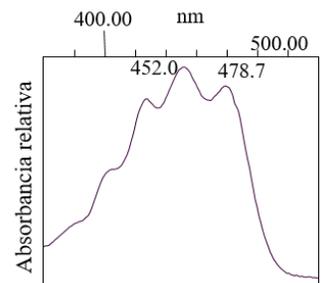
Anteraxantina



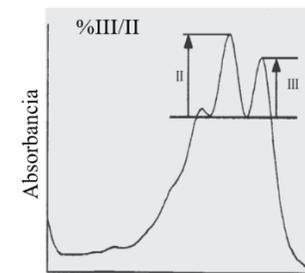
β -criptoxantina



α -caroteno



β -caroteno



Longitud de onda (nm)

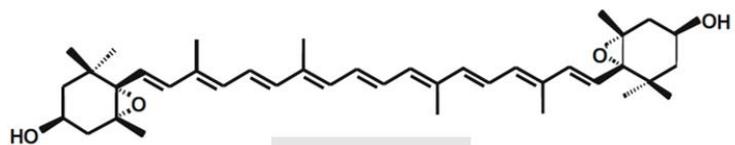
Apéndice 7. Características espectroscópicas de los carotenoides identificados en pulpa de aguacate y las descritas en la literatura.

| Carotenoides | Observado | | Literatura | |
|---------------------------|-----------------------------|----------|-----------------------------|------------------|
| | $\lambda_{\text{máx}}$ (nm) | % III/II | $\lambda_{\text{máx}}$ (nm) | % III/II |
| t-violaxantina | 416/440/469 | 90 | 416/440/465 | 100 ¹ |
| Neoxantina | 416/438/467 | 93 | 415/440/470 | 93 ² |
| 9- <i>cis</i> -neoxantina | 410/435/464 | 91 | 410/436/467 | 92 ² |
| Luteoxantina | 397/420/447 | 98 | 398/421/448 | 95 ¹ |
| <i>cis</i> -violaxantina | 416/438/464 | 86 | 416/440/465 | 98 ¹ |
| Luteína | S/444/473 | 60 | 421/445/474 | 60 ¹ |
| Anteraxantina | S/446/473 | 61 | 422/445/472 | 60 ¹ |
| β -criptoxantina | S/450/477 | 26 | 425/449/476 | 25 ¹ |
| α -caroteno | 420/445/472 | 50 | 422/445/473 | 55 ¹ |
| β -caroteno | S/452/477 | 28 | 425/450/477 | 25 ¹ |

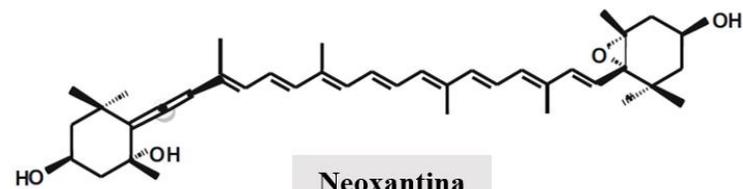
¹Britton, G. Liaaen-Jensen, S. & Pfander, H. (2004). *Carotenoids*. Washington D.C., U.S.A.: Springer Basel AG.

²Lu, Q.Y., Zhang, Y, Wang, Y. Wang, D., Lee, R., Gao, K. & Byrns, R. (2009). California Hass Avocado: Profiling of Carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10408-10413.

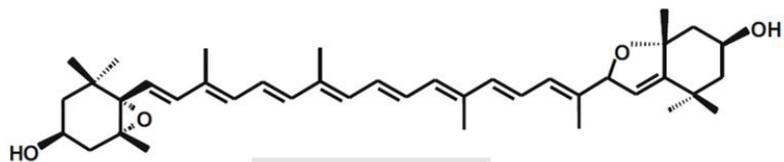
Apéndice 9. Estructuras de carotenoides identificados en la pulpa de aguacate.



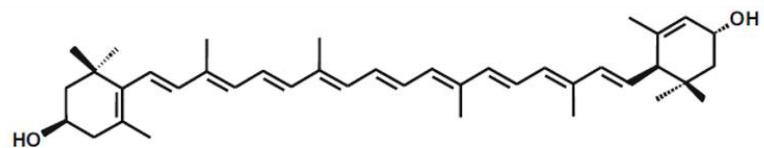
Violaxantina



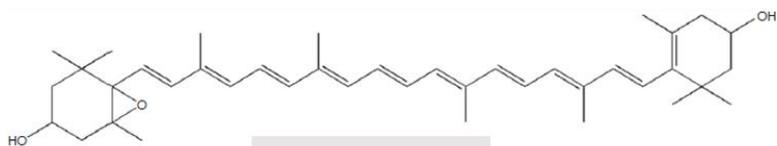
Neoxantina



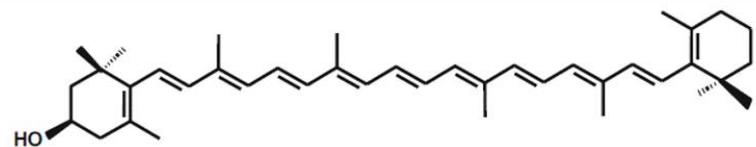
Luteoxantina



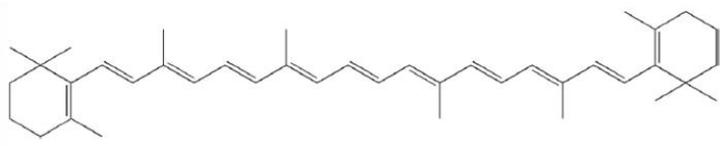
Luteína



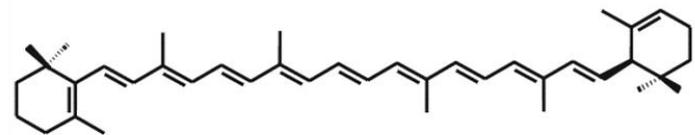
Anteraxantina



β-Criptoxantina

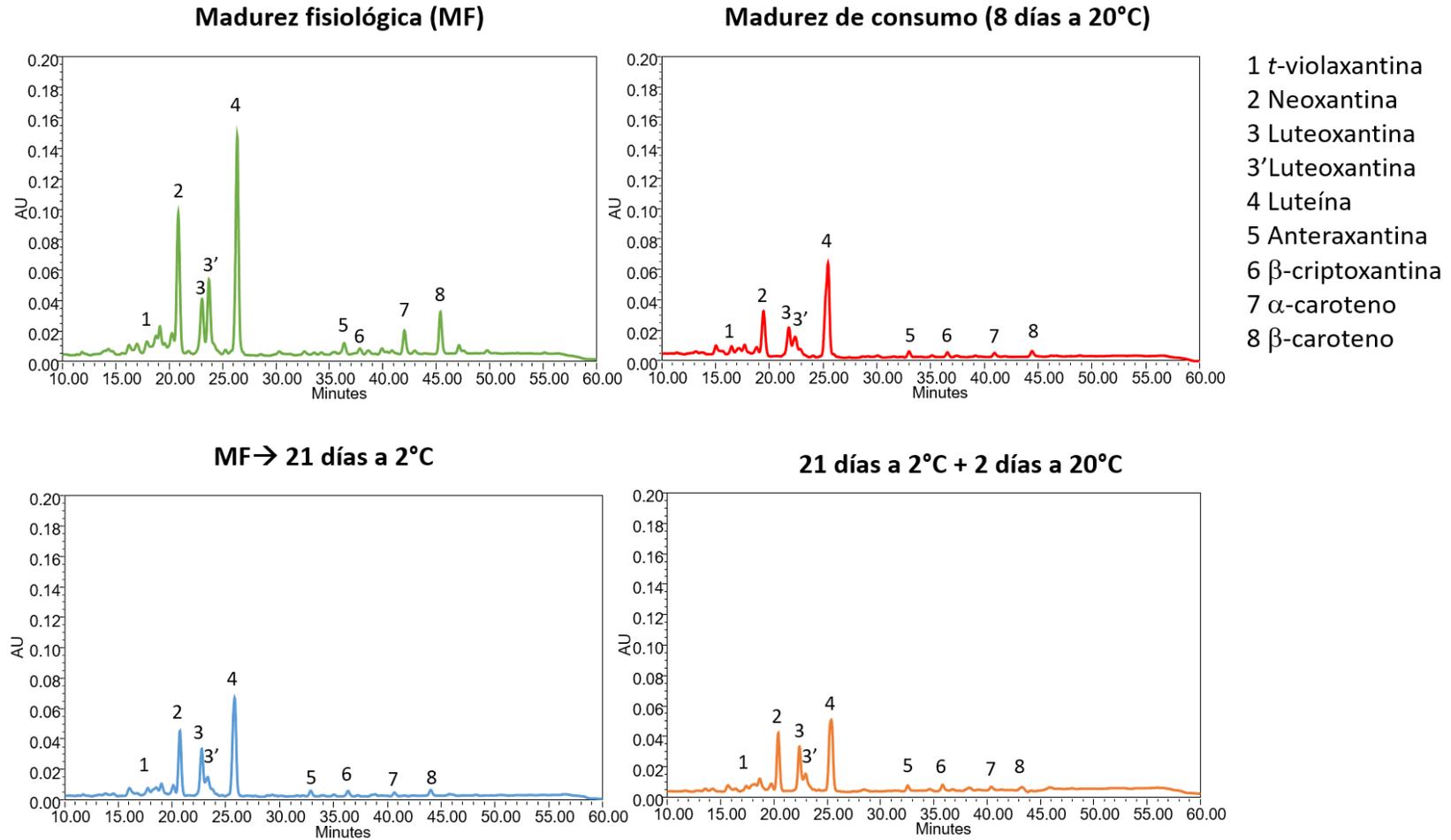


β-caroteno

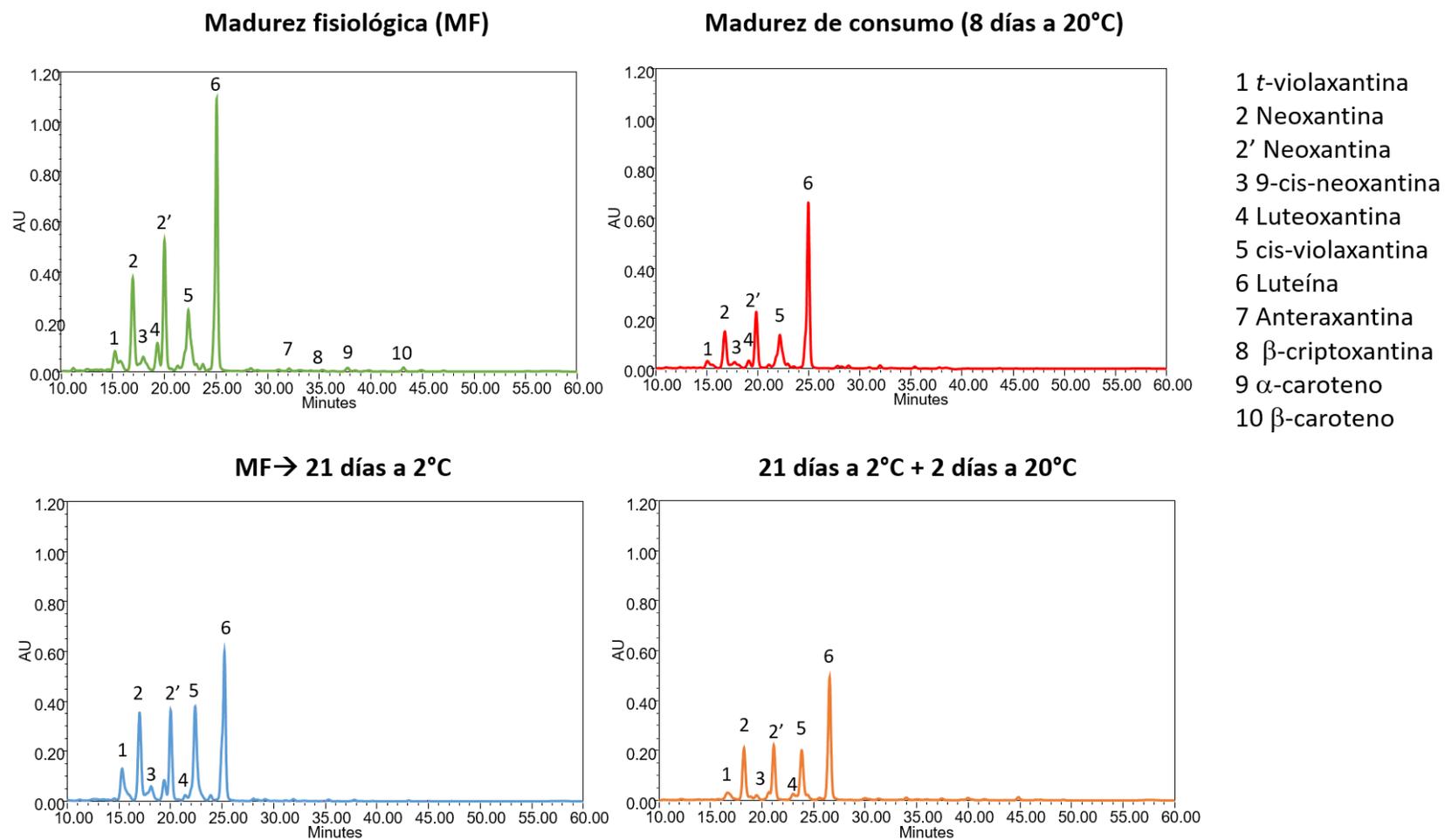


α-caroteno

Apéndice 10. Cromatogramas obtenidos en extracto de pulpa de aguacate Colín V-33.



Apéndice 11. Cromatograma obtenidos en extracto de pulpa de aguacate genotipo ‘Oaxaca-7’.



Apéndice 12. Cromatograma obtenidos en extracto de pulpa de aguacate ‘Hass’.

