

Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A. C.

**Efecto de la temperatura de
almacenamiento, volátiles naturales y alto
oxígeno sobre la capacidad antioxidante y
calidad de fresa**

PRESENTADA POR

Jesús Fernando Ayala-Zavala

TESIS APROBADA POR LA

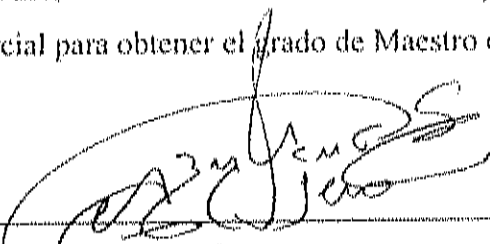
**COORDINACIÓN DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS DE ORIGEN
VEGETAL**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

HERMOSILLO, SONORA MAESTRIA EN CIENCIAS AGOSTO DEL 2004

APROBACIÓN

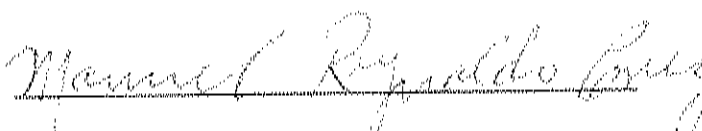
Los miembros del comité designado para revisar la tesis del Ing. Bioquímico **Jesús Fernando Ayala Zavala**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dr. Gustavo A. González Aguilar
Director de Tesis



Dra. Heloisa Filgueiras



M. C. Reynaldo Cruz Valenzuela

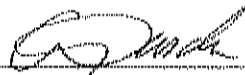


M. C. Humberto González Ríos

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión, del director o directora de la tesis.



Dr. Alfonso Gardea Bejar

Director General

Agradecimientos

Me nace del corazón tener una nota de agradecimiento para las personas que me han acompañado a lo largo de mi desenvolvimiento académico y personal.

*Primero gracias a mis queridos padres **Fernando** y **Norma Alicia**, a las personas que compartieron conmigo el vientre que nos dio la vida **Norma Alicia**, **Carmen Marely**, **Francisco**, **Jesús**, y **Natafy**, a mis lindos abuelos **Jesús** y **Carmen**,*

*Gracias al pueblo sonoreense, tan cálido como las doradas arenas que los acoge, a esa persona que con su delicada insistencia trato de organizar mis labores del hogar, mil besos serían pocos para ti **Mefy**, gracias por tu paciencia. A mi asesor y amigo **Gustavo González** que me enseñó a seguir mis ideales y motivó mi desarrollo académico y personal. A ma petite sœur **Marie-Pierre**. A mi amigo **Marco-Antonio** gracias por sus consejos que me dieron paz en momentos difíciles. A **Reynaldo Cruz** por sus sabios consejos y valiosa ayuda, así como lo hizo **Judith Fortiz**. A mis compañeros de Laboratorio **Luis**, **Betty**, **Laura**, **Yessy**, **Rubén**, **Saúl** y **Ricardo**.*

*Al laboratorio de cereales que me nutrió académicamente y anímicamente gracias a **Pame**, **Brenda**, **Alma Rosa**, **Karla**, **Karlita**, **Mony**, **Elsa** y a **Martín**, gracias por estar a mi lado.*

*A mis amigos **Rodolfo**, **Alonso**, **Edgar** y **Gaby**, gracias por siempre darme un minuto de su valioso tiempo.*

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., por el soporte económico para llevar a cabo esta investigación.

J. Fernando Ayala-Zavala

Dedicatoria

Esta tesis esta dedicada a las personas que han apostado a mi favor:

Mi familia.

Dr. Gustavo González-Aguilar, Dr. Chien Y. Wang, Shiuw Y. Wang, Heloisa Filgueiras y Humberto González.

El Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

El Departamento de Agricultura de Los Estados Unidos (USDA) Produce Quality and Safety Lab.

A todas las personas que tuvieron a bien opinar sobre este trabajo.

A mi país.

J. Fernando Ayala-Zavala

CONTENIDO

	Página
Lista de figuras.....	ix
Lista de cuadros.....	xii
Resumen general.....	1
Introducción.....	2
Capítulo I. Antecedentes bibliográficos.....	4
Calidad postcosecha de la fresa.....	4
Enfermedades en fresa.....	6
Moho gris.....	6
Otras pudriciones del fruto.....	7
Producción de fresa.....	7
Conservación de frutos de fresa.....	9
Irradiación.....	9
Aplicación de volátiles naturales.....	10
Metil jasmonato.....	11
Etanol.....	12
Atmósferas modificadas y/o controladas.....	13
Compuestos antioxidantes en fresa.....	14
Ácidos fenólicos.....	14
Flavonoides, antocianinas.....	15
Función de los compuestos antioxidantes en el fruto.....	15
Capacidad antioxidante (ORAC).....	16
Cambios en los compuestos antioxidantes de fresa.....	17
Función de los antioxidantes en la salud humana.....	20
Tratamientos postcosecha y su efecto en el contenido de antioxidantes en frutos y vegetales.....	25

Irradiación.....	25
Atmósferas controladas.....	25
Hipótesis.....	29
Objetivos.....	29
Capítulo II: Materiales, experimentos y métodos.....	30
Materiales y experimentos.....	30
Experimento I.....	30
Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante y calidad de frutos de fresa.....	30
Experimento II.....	31
Incremento de la capacidad antioxidante, compuestos aromáticos y la vida postcosecha de frutos de fresa utilizando metil jasmonato en combinación con etanol.....	31
Experimento III.....	31
Aumento de la capacidad antioxidante de frutos de fresa almacenada en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno....	31
Métodos.....	32
Control de la concentración de O ₂ en las atmósferas utilizadas.....	32
Deterioro fúngico y calidad general.....	32
Sólidos solubles totales.....	33
pH y acidez titulable.....	33
Color (<i>L*</i> , <i>C*</i> y <i>°H</i>).....	33
Análisis de compuestos aromáticos.....	34
Compuestos fenólicos totales.....	34
Antocianinas totales.....	35
Capacidad antioxidante (ORAC).....	35
Análisis estadístico.....	36

Capítulo III: Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante y calidad de frutos de fresa.....	37
Resumen.....	37
Resultados y discusión.....	38
Conclusiones.....	54
Capítulo IV: Incremento de la capacidad antioxidante, compuestos aromáticos y la vida postcosecha de frutos de fresa utilizando metil jasmonato en combinación con etanol.....	55
Resumen.....	55
Resultados y discusión.....	56
Conclusiones.....	69
Capítulo V: Aumento de la capacidad antioxidante de frutos de fresa almacenada en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno.....	70
Resumen.....	70
Resultados y discusión.....	71
Conclusiones.....	91
Referencias bibliográficas.....	92

CONTENIDO

	Página
Lista de figuras.....	ix
Lista de cuadros.....	xii
Resumen general.....	1
Introducción.....	2
Capítulo I. Antecedentes bibliográficos.....	4
Calidad postcosecha de la fresa.....	4
Enfermedades en fresa.....	6
Moho gris.....	6
Otras pudriciones del fruto.....	7
Producción de fresa.....	7
Conservación de frutos de fresa.....	9
Irradiación.....	9
Aplicación de volátiles naturales.....	10
Metil jasmonato.....	11
Etanol.....	12
Atmósferas modificadas y/o controladas.....	13
Compuestos antioxidantes en fresa.....	14
Ácidos fenólicos.....	14
Flavonoides, antocianinas.....	15
Función de los compuestos antioxidantes en el fruto.....	15
Capacidad antioxidante (ORAC).....	16
Cambios en los compuestos antioxidantes de fresa.....	17
Función de los antioxidantes en la salud humana.....	20
Tratamientos postcosecha y su efecto en el contenido de antioxidantes en frutos y vegetales.....	25

Irradiación.....	25
Atmósferas controladas.....	25
Hipótesis.....	29
Objetivos.....	29
Capítulo II: Materiales, experimentos y métodos.....	30
Materiales y experimentos.....	30
Experimento I.....	30
Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante y calidad de frutos de fresa.....	30
Experimento II.....	31
Incremento de la capacidad antioxidante, compuestos aromáticos y la vida postcosecha de frutos de fresa utilizando metil jasmonato en combinación con etanol.....	31
Experimento III.....	31
Aumento de la capacidad antioxidante de frutos de fresa almacenada en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno....	31
Métodos.....	32
Control de la concentración de O ₂ en las atmósferas utilizadas.....	32
Deterioro fúngico y calidad general.....	32
Sólidos solubles totales.....	33
pH y acidez titulable.....	33
Color (<i>L^a</i> , <i>C^h</i> y <i>°H</i>).....	33
Análisis de compuestos aromáticos.....	34
Compuestos fenólicos totales.....	34
Antocianinas totales.....	35
Capacidad antioxidante (ORAC).....	35
Análisis estadístico.....	36

Capítulo III: Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante y calidad de frutos de fresa.....	37
Resumen.....	37
Resultados y discusión.....	38
Conclusiones.....	54
Capítulo IV: Incremento de la capacidad antioxidante, compuestos aromáticos y la vida postcosecha de frutos de fresa utilizando metil jasmonato en combinación con etanol.....	55
Resumen.....	55
Resultados y discusión.....	56
Conclusiones.....	69
Capítulo V: Aumento de la capacidad antioxidante de frutos de fresa almacenada en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno.....	70
Resumen.....	70
Resultados y discusión.....	71
Conclusiones.....	91
Referencias bibliográficas.....	92

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Principales productores de fresa en el mundo.....	8
2. Cambios en el contenido de fenoles totales durante la maduración de fresa.....	9
3. Cambios en el contenido de antocianinas totales durante la maduración de fresa.....	21
4. Cambios en la capacidad antioxidante durante la maduración de fresa.....	23
5. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la apariencia visual de fresa cv. Chandler.....	39
6. Disminución de la calidad visual de fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.....	40
7. Cambios en el contenido de SST en fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.....	42
8. Cambios en el contenido de antocianinas totales de fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.....	46
9. Cambios en el contenido de fenoles totales durante en fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.....	48
10. Cambios en la capacidad antioxidante de fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.....	50
11. Cambios en los compuestos aromáticos de fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.....	52
12. Efecto de la aplicación de volátiles sobre la calidad general (a), y el deterioro fúngico (b) en fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C.....	57
13. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el contenido de SST (a), pH (b) y acidez titulable (c) en fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C.....	60

14. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el contenido de antocianinas (a) y fenoles totales (b) de fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C.....	64
15. Efecto de la aplicación de volátiles sobre la capacidad antioxidante de fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C.....	66
16. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el aroma de fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C.....	68
17. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre la calidad visual de fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	72
18. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el índice de calidad visual de fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	73
19. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el índice de deterioro fúngico de fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	75
20. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el pH y acidez titulable de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.....	77
21. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el contenido de sólidos solubles totales de fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	79
22. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la luminosidad de frutos de fresa (cv. Chandler) almacenados durante 14 días a 5°C.....	82
23. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el contenido de antocianinas en fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	83
24. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el contenido de fenoles totales en fresa (cv. Chandler)	

almacenada durante 14 días a 5°C.....	85
25. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre la capacidad antioxidante en fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	86
26. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el aroma de fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	89
27. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el perfil de compuestos aromáticos en fresa (cv. Chandler) almacenada durante 14 días a 5°C.....	90

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante expresada como ORAC.....	18
2. Contenido de antocianinas en fresa cultivar Allstar.....	22
3. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el pH y la acidez titulable (mg de ácido cítrico/100g P.F.) de fresas cv. Chandler.....	44
4. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el color de fresas cv. Chandler.....	45
5. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el color de fresa cv. Chandler almacenada a 7.5°C.....	62
6. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el color de fresa (cv. Chandler) a 5 °C durante 14 días.....	81

RESUMEN GENERAL

La fresa tiene una buena capacidad antioxidante, sin embargo, su carácter perecedero limita su vida de anaquel, por lo que es necesaria la aplicación de tecnologías que permitan su conservación durante la poscosecha. Se conoce muy poco del efecto de las diferentes tecnologías de conservación sobre la capacidad antioxidante de este fruto. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento (Exp. 1), la aplicación de volátiles antimicrobianos naturales (Exp. 2) y de atmósferas con altas concentraciones de oxígeno (Exp. 3) sobre la capacidad antioxidante, antocianinas y fenoles totales, compuestos aromáticos y la calidad general aceptable, durante un período mayor ($p < 0.05$) que los frutos almacenados a 5 y 10°C. Sin embargo, las fresas almacenadas a temperaturas de 5 y 10°C mostraron una mayor ($p < 0.05$) capacidad antioxidante y mayor ($p < 0.05$) emisión de compuestos aromáticos, durante el período de almacenamiento. En el exp. 2, el tratamiento con MJ-ETOH fue el más efectivo en mantener la calidad de la fresa. Sin embargo, la capacidad antioxidante fue menor ($p < 0.05$) que la de los frutos tratados con MJ, los cuales tuvieron una menor vida de anaquel. Por otra parte, las fresas tratadas con MJ-ETOH presentaron niveles mayores de compuestos aromáticos que los frutos control. En el exp. 3 las fresas almacenadas con altas concentraciones de oxígeno ($> 60\%$) conservaron su calidad por más tiempo. La capacidad antioxidante de las fresas aumentó ($p < 0.5$) conforme se incrementó la concentración de oxígeno en la atmósfera de almacenamiento. Sin embargo, la aplicación de atmósferas con altas concentraciones de oxígeno disminuyó ($p < 0.05$) la emisión de compuestos volátiles durante el almacenamiento. En conclusión, el almacenamiento a 10°C, el tratamiento con metil jasmonato y altas concentraciones de oxígeno, aumentaron la capacidad antioxidante de las fresas; la efectividad de los tratamientos en el mantenimiento de la calidad parece estar asociada con el incremento en la capacidad antioxidante.

INTRODUCCIÓN

Existe evidencia del efecto de los compuestos antioxidantes provenientes de frutas y hortalizas sobre la prevención de enfermedades (Ames y col., 1993). Trabajos recientes resaltan la relación de los compuestos antioxidantes de fresa y la disminución de la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas asociadas con el consumo de este fruto (Wang, 2002). El efecto protector de los antioxidantes contra el desarrollo de enfermedades se da por inactivación de radicales libres involucrados en el desarrollo de tales enfermedades. Sin embargo, existe poca información sobre los cambios de estos antioxidantes al emplear nuevas tecnologías de conservación en la postcosecha de fresa. Por lo que existe un marcado interés sobre el estudio de tales cambios, que pueden disminuir los efectos benéficos de los antioxidantes en la salud (Kader y Ben-Yehoshua, 2000).

La fresa tiene una vida postcosecha muy corta (5-7 días), en su mayoría debido a su alto contenido de agua y su alta actividad metabólica, y su carácter altamente perecedero que favorece las infecciones fúngicas (Galleta y Bringhurst, 1990). Dentro de las tecnologías de conservación de fresa se encuentran la temperatura de almacenamiento, la aplicación de volátiles antimicrobianos naturales y el almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno (Kader, 1990; Wang, 2003; Pérez y Sanz, 2002).

La temperatura de almacenamiento, es el factor más importante en la conservación postcosecha de frutas y vegetales, debido a que bajas temperaturas reducen la velocidad de las reacciones biológicas y el crecimiento microbiano (Li y Kader, 1989). La pérdida de agua durante el almacenamiento es la mayor causa del deterioro de las fresas. La reducción en la turgencia es resultado de la pérdida de agua, la cual causa marchitamiento y una rápida disminución de nutrientes (Galleta y Bringhurst, 1990).

En diferentes estudios se ha observado la efectividad de ciertos compuestos volátiles naturales para reducir diferentes tipos de infecciones fúngicas en frutos. Tal es

el caso del metil jasmonato (MJ), el cual se ha visto que su aplicación en forma de vapor o como emulsión pueden reducir la contaminación microbiana de apio y pimientos cortados (Buta y Moline, 1998), inhibir la infección de fresas causada por *Botrytis cinerea* (Moline y col., 1997), así como el deterioro de uvas (Droby y col., 1999). Se ha observado que el MJ también disminuye la severidad de la mancha café en cerezas cuando se usa como conjunto con tímol o carvacrol (Tsao y Zhou, 2000). El etanol también ha mostrado poseer propiedades antimicrobianas. La aplicación de etanol en forma de soluciones disminuyó la población microbiana en la superficie de uvas sin afectar su calidad (Lichter y col., 2002). De la misma forma se ha visto que la aplicación de vapores de etanol, previene el escaldado de manzanas (Jamieson y col., 2003).

El uso de atmósferas con altas concentraciones de oxígeno es una alternativa viable al uso de pesticidas y un mejoramiento de las atmósferas de CO₂ (CCFRA, 2000). Se ha descrito que cualquier nivel de O₂ por encima de 21 kPa puede reducir el deterioro, así como el crecimiento de microorganismos anaerobios y aerobios (CCFRA, 2000). Tal reducción se debe al incremento en el estrés oxidativo de los microorganismos. Por otro lado, se piensa que esta tecnología previene la respiración anaeróbica de la fresa durante el almacenamiento, disminuyendo la pérdida de sabor y el desarrollo de olores desagradables debidos a la fermentación (Wszelaki y Mitcham, 2000).

Existen diversos métodos para evaluar la capacidad antioxidante de frutas y hortalizas (Halliwell y col., 1995). Dentro de los más utilizados se encuentra el ORAC (Oxygen Radical Absorbing Capacity), el cual mide la capacidad antioxidante total simulando un sistema biológico. Este método mide la protección de los antioxidantes contra el daño causado por los radicales libres sobre sustratos biológicos. El concepto de capacidad antioxidante en frutos y hortalizas emerge como un parámetro importante de calidad (Kaur y Kapoor, 2001). El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto de la temperatura de almacenamiento, la aplicación de volátiles antimicrobianos naturales y el almacenamiento en atmósferas con alto oxígeno sobre la capacidad antioxidante y la calidad de frutos de fresa.

CAPITULO 1

ANTECEDENTES

La fresa (*Fragaria ananassas*) pertenece a la familia de las rosáceas y al género *Fragaria*. La fresa tiene gran cantidad de especies. Antes del descubrimiento de América, en Europa se cultivaban principalmente las especies *Fragaria vesca* y *Fragaria alpina*, de tamaño pequeño pero de excelente calidad organoléptica (Woodward, 1972). Con el descubrimiento de América se encontraron dos nuevas especies de mayor tamaño, una en Chile, *Fragaria chiloensis* y otra en Estados Unidos, *Fragaria virginiana*, que por su tamaño, se les llamó fresones; fueron llevadas a Europa e hibridizadas. Actualmente estas fresas grandes o fresones (*Fragaria ananassas*) dominan el mercado y son producto de una serie de cruces (Infoagro, 2003). La planta es pequeña, de no más de 50 cm de altura, con numerosas hojas trilobuladas de peciolo largo, que se originan en una corona o rizoma muy corto, que se encuentra a nivel del suelo y constituye la base de crecimiento de la planta; en ella se encuentran tres tipos de yemas; unas originan más tallos, que crecen junto al primero, otras los estolones, que en contacto con el suelo emiten raíces y forman nuevas plantas, y el tercer tipo de yemas, forman los racimos florales cuyas flores son hermafroditas, se agrupan en racimos y darán lugar al fruto (Infoagro, 2003). Lo que se conoce como fruta de fresa es en realidad un falso fruto, producto de engrosamiento del receptáculo floral; sobre ese falso fruto se encuentran gran cantidad de semillas pequeñas, que son frutos verdaderos llamados aquenios.

Calidad Postcosecha de la Fresa

Los índices de calidad para la cosecha de fresa se basan en el color de la superficie. Para el caso de Estados Unidos se utiliza 1/2 ó 3/4 de la superficie en color rojo o rosa como mínimo, dependiendo del grado de calidad. En el estado de California se utiliza 2/3 de la superficie en color rojo o rosa. Además del color, los parámetros

involucrados en la calidad de la fresa son: la apariencia (tamaño, forma, ausencia de defectos), firmeza, sabor (sólidos solubles, acidez titulable y compuestos aromáticos) y valor nutricional (Vitamina C) (Woodward, 1972). Para un sabor aceptable se recomienda un mínimo de 7% de sólidos solubles y/o un máximo de 0.8% de acidez titulable. La temperatura y humedad relativa óptimas de almacenamiento son $0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y 90 a 95%, respectivamente. La tasa respiratoria de la fresa a 20°C es de 50-100 mL $\text{CO}_2/\text{kg.h}$ y una producción de etileno menor a $0.1 \mu\text{L C}_2\text{H}_4/\text{kg.h}$ (Mitcham y col., 2003).

El etileno no estimula los procesos que ocurren durante la maduración de la fresa, por lo que las frutas se deben cosechar cerca de la madurez plena. Sin embargo, la eliminación del etileno de los almacenes puede reducir el desarrollo de enfermedades fúngicas. La aplicación de atmósferas modificadas (AM) es comúnmente utilizada en el embalaje, previo al embarque, usando de 10 a 15% de bióxido de carbono, se reduce el crecimiento de *Botrytis cinerea* (pudrición por moho gris), la tasa de respiración y por lo tanto, extiende la vida postcosecha de esta fruta. El método más común para la aplicación de AM es el uso de una película plástica para cubrir completamente el palet o carga unitaria. Probablemente, debido al rápido mercadeo y a los períodos cortos de almacenamiento, las fisiopatías no son de mayor preocupación en fresa. Las enfermedades son la principal causa de pérdidas postcosecha en la fresa. Sin embargo, no se aplican a la fruta fungicidas en postcosecha; por lo tanto, el inmediato enfriamiento, el almacenamiento a 0°C , la prevención de daños físicos son los mejores métodos para el control de enfermedades. Además, durante la cosecha se debe tener precaución con el fin de eliminar las fresas dañadas o con infecciones, ya que éstas se propagan de las frutas enfermas a las sanas formando verdaderos nidos de pudrición (Mitcham y col., 2003).

Enfermedades en Fresa

La fresa es un fruto altamente perecedero que tiene una vida postcosecha muy corta, debido a su alto contenido de agua, su alta actividad metabólica y susceptibilidad a infecciones fúngicas (Mitcham y col., 2003).

Moho gris *Botrytis cinerea*

Esta enfermedad ataca las flores, y sobre todo al fruto cuando se expone a periodos prolongados de alta humedad relativa durante su desarrollo, maduración y transporte. En el fruto se manifiesta como una mancha amarillenta de consistencia acuosa, que posteriormente se extiende a toda la fruta y se cubre de un polvo gris, que corresponden a las esporas del hongo (Vaughn y col., 1993). En algunos casos esta enfermedad es capaz de atacar hasta el 95% de frutos después de 48 horas de cosechados.

Esta enfermedad puede prevenirse en la precosecha mediante la aplicación de diferentes productos químicos protectores (Infoagro, 2003). Además, debe evitarse el contacto del fruto con el suelo o con frutos y hojas podridas. Por lo tanto, el combate por métodos culturales es muy importante para prevenir el desarrollo de esta enfermedad: deshojar, poda de racimos viejos, cobertura del suelo, riego por goteo y buen manejo en el almacenamiento, empaque y transporte de la fruta en la cosecha (Infoagro, 2003). Además, también es importante un punto de corte adecuado; si la fruta se corta en avanzada maduración, la enfermedad se presenta rápidamente y la fruta no soporta la etapa de comercialización.

En el mercado existen varios productos que se recomiendan para prevenir *Botrytis* sp. Sin embargo, su aplicación debe hacerse considerando las restricciones del caso como: período entre última aplicación y cosecha, problemas de residuos y aceptación de los productos de acuerdo con el mercado. Pueden utilizarse productos protectores de amplio efecto como el captan y bromuro de metilo (Infoagro, 2003). En

casos muy severos pueden usarse productos específicos contra *Botrytis* sp. como vinclozolin, en rotación con fungicidas de tipo protector general, como los mencionados anteriormente.

Otras pudriciones del fruto

Aunque el principal problema es *Botrytis* sp., normalmente aparecen otros hongos que dañan el fruto en la etapa postcosecha. El más importante es *Pestalotia* sp., que se manifiesta como una mancha de consistencia seca, ligeramente hundida y de apariencia translúcida. En algunos casos este hongo, causa grandes pérdidas postcosecha. Otros hongos que pueden provocar problemas postcosecha menos frecuentes, son el mohó *Rhizopus* sp., *Pizizella* sp. y *Colletotrichum* sp. Si se realiza un buen combate de *Botrytis* sp., también se combaten estas enfermedades. Además, es de gran importancia realizar un buen manejo post-cosecha, siguiendo prácticas como: cosechar sólo frutos sanos, no maltratarlos, no lavarlos, empacarlos adecuadamente y enfriarlos lo más rápido posible (Mitcham y col., 2003).

Producción de Fresa

La producción mundial de fresa creció entre 1990 y el 2000, a una tasa anual promedio de 2.4%, mientras que el área cultivada fue de 0.5%, de manera que el rendimiento reportó un aumento promedio anual de 1.9% durante el mismo período (Infoagro, 2003). El 95% de la producción mundial de fresa se concentra en el hemisferio norte (**Figura 1**). El principal productor es Estados Unidos, que en el año 2000 fue responsable de más de una cuarta parte de la producción mundial, equivalente a 822 mil toneladas. España, es el segundo productor mundial con 352 mil y Japón es tercero con 205 mil toneladas. La producción de Estados Unidos y la de España aumentaron en promedio al 3.5% y 5.9% anual, respectivamente, mientras que la producción de Japón se mantuvo estable (Infoagro, 2003).

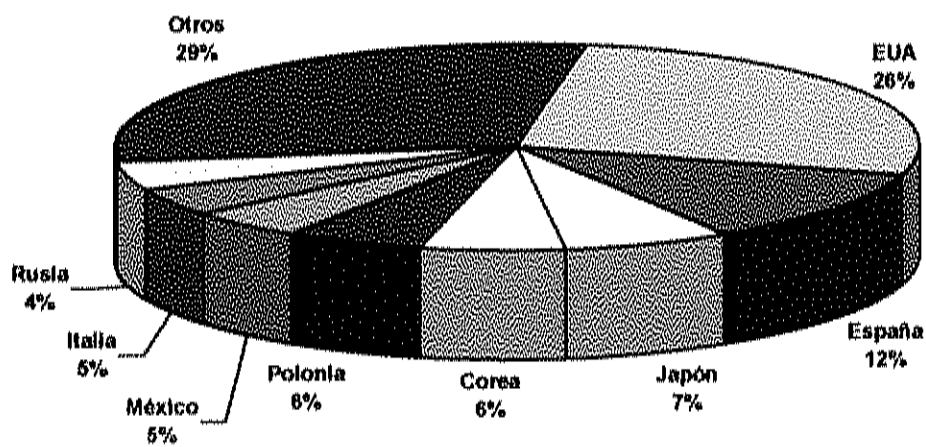


Figura 1. Principales productores de fresa en el mundo. Fuente: <http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/fresa.htm>

Conservación de Frutos de Fresa

La fresa es un fruto de origen templado, posee un sabor agradable, color atractivo, sabor exquisito y con un contenido alto de compuestos antioxidantes (Woodward, 1972; Vaughn y col., 1993). Tales atributos la colocan dentro de la preferencia de millones de consumidores alrededor del mundo. Los frutos de fresa son altamente perecederos y susceptibles al daño mecánico, pérdida de humedad y deterioro fúngico. El rápido enfriamiento de los frutos de fresa a temperaturas cercanas a 0 °C, puede disminuir los cambios indeseables en la calidad de los frutos. Las condiciones óptimas de almacenamiento para frutos de fresa son temperaturas cercanas a 0°C y una humedad relativa de 90-95% (Hardenburg y col., 1990). Sin embargo, la vida postcosecha de fresas aún a bajas temperaturas y alta humedad relativa, es de tan solo 6-7 días (Pérez y Sanz, 2001).

Existen diferentes métodos para prolongar la vida postcosecha de frutos de fresa. Entre dichos tratamientos se encuentran la temperatura de almacenamiento, irradiación ultravioleta (UV), la aplicación de volátiles naturales y el almacenamiento en atmósferas modificadas (AM) o atmósferas controladas (AC) (Couey y col., 1970; Ghaouth y col., 1991; Baka y col., 1999; Wszelaki y Mitcham, 2003)

Irradiación

La necesidad de nuevas tecnologías para la conservación de fresa que reduzcan el deterioro fúngico ha llevado hacia la utilización de irradiación como una nueva alternativa de conservación. La radiación UV especialmente radiaciones de 265 nm (UV-C), puede causar respuestas al estrés, asociados con el fenómeno de inducción a la resistencia contra patógenos (Britton, 1983). La aplicación de irradiación UV-C disminuyó el deterioro microbiano, la tasa respiratoria, aumentando la acidez titulable y el contenido de antocianinas en fresa almacenada a 4 ó 13°C (Baka y col., 1999). Se ha visto que la eficacia del tratamiento con UV-C esta relacionada con la inducción de la

biosíntesis de fenoles (tóxico para patógenos) por incremento de la actividad de la enzima fenilalanina-amonioliasa (PAL) (Macheix y col., 1990). Se ha visto que la exposición del fruto a UV-C por tiempos cortos previo almacenamiento, reduce diferentes enfermedades postcosecha (Lu y col., 1987; Stevens y col., 1990; Ben-Yehoshua y col., 1992). La aplicación de irradiación UV-C en zanahorias y cítricos parece inducir resistencia contra patógenos debido a la acumulación de compuestos con actividad antimicrobiana como las fitoalexinas (Ben-Yehoshua y col., 1992; Rodov y col., 1992; Mercier y col., 1993). De acuerdo a la información encontrada en diferentes estudios, al parecer la irradiación es un tratamiento efectivo en disminuir la carga inicial de microorganismos causantes del deterioro de frutos de fresa (Dixon y Paiva, 1995).

Aplicación de volátiles naturales

A pesar de que los fungicidas y agentes químicos han sido los tratamientos más eficaces para reducir las enfermedades postcosecha, su uso ha sido limitado por razones de salud y restricciones establecidas en los países importadores de frutos frescos. Los tratamientos más utilizados para reducir el deterioro y eliminar enfermedades latentes, son los tratamientos físicos, especialmente aquellos que utilizan agua caliente (Lurie, 1998). Sin embargo, los frutos de fresa debido a su estructura tan frágil no resisten este tipo de tratamientos. Por otro lado el bromuro de metilo ha sido el principal químico utilizado en precosecha para estos propósitos, su uso ha sido limitado por su efecto fitotóxico y daños al medio ambiente. Por esta razón, se requiere de nuevos métodos de desinfección y conservación, seguros para la salud de la población.

Las exigencias de los consumidores y el aumento de restricciones gubernamentales relacionadas con el uso de pesticidas, han estimulado la investigación sobre el uso de productos naturales para reducir el deterioro durante el almacenamiento en frío. La refrigeración en combinación con el envasado en atmósferas modificadas y controladas, son las tecnologías que actualmente se utilizan en la conservación de frutos de fresa para prevenir el deterioro (Perez y Sanz, 2001). Desafortunadamente, estos tratamientos postcosecha no son suficientes para eliminar por completo los patógenos

postcosecha, manteniendo latentes las infecciones, que al final del almacenamiento terminan deteriorando a los frutos. Esto ha llevado al desarrollo de técnicas libres de sustancias químicas.

En diferentes estudios se ha encontrado que algunos volátiles naturales derivados de extractos de plantas al ser aplicados a muy bajas concentraciones en frutos frescos, presentan una alta actividad antimicrobiana y fungicida (Wang y Buta, 2003). La aplicación de estos compuestos naturales en envases semi-rígidos con cubiertas de materiales plásticos, en frutos enteros y cortados, han proporcionado buenos resultados. Entre los compuestos naturales más utilizados tenemos al MJ y al etanol (Wang y Buta, 2003).

Metil jasmonato. El MJ es un compuesto natural derivado del jazmín y se encuentra presente a bajas concentraciones en la mayoría de las plantas. Se ha observado que tiene propiedades similares a las del ácido abscísico, por lo que ha sido considerado como un regulador del desarrollo. Se ha encontrado que puede inducir mecanismos de defensa contra distintos patógenos (Ryan, 1992). Se ha encontrado que el uso de volátiles naturales, como el MJ, reducen el deterioro e incrementan la vida de anaquel de frutos de fresa (Moline y col., 1997). Algunas de las propiedades que presenta el ácido jasmónico son: regular el crecimiento, promueve el cierre estomático, promover la senescencia, actúa como segundo mensajero, disminuye el ataque de patógenos, es estable a temperatura ambiente, incrementa la tolerancia al daño por frío y deterioro (Wang, 1994). El MJ se puede aplicar de 2 formas: inmersión en agua a alta presión o en forma de vapor, dependiendo del tipo de tejido (Salveit y Morris, 1990; Wang, 1994). Sin embargo, no se conoce el efecto de este tipo de tratamientos sobre la calidad antioxidante de los frutos.

Se ha observado que el tratamiento con MJ puede producir diferentes efectos en la fisiología y bioquímica del fruto. Pérez y col. (1993), encontraron que el MJ promueve la síntesis de carotenos y la degradación de las clorofilas en frutos de manzana. Así mismo el tratamiento con MJ reduce los síntomas de daño por frío a través

del aumento de los niveles de poliaminas y ABA (Wang y Buta, 1994). Se ha reportado que las poliaminas, en especial espermina y espermidina están relacionadas en la reducción de la peroxidación de lípidos, inhibiendo la actividad de enzimas y estabilizando la estructura membrana celular (Kramer y Wang, 1989). Se propone que las poliaminas pueden actuar como segundo mensajero y controlar algunos efectos inducidos por otras hormonas (Wang y Buta, 1994).

Lee (1996), observó que la aplicación exógena con MJ, incrementa la tolerancia al estrés en plantas de arroz. También encontró un aumento en la actividad de arginina descarboxilasa (ADC) y ornitina descarboxilasa (ADC), las cuales son responsables de los altos niveles de putrescina. Al parecer los altos niveles de putrescina dan un incremento en la tolerancia al frío inducido por el tratamiento de MJ.

La aplicación de MJ previo almacenamiento a bajas temperaturas reduce la incidencia de daño por frío y el deterioro en frutos de toronja, pimientos y aguacates (Mier y col., 1996). Se ha encontrado que también disminuye el deterioro en chile pimientos cortados (Buta y Moline, 1998) y toronja (Droby y col., 1999). De la misma forma, reduce el desarrollo de *Botrytis cinerea* en fresa y de *Penicillium digitatum* en toronja (Moline y col., 1997; Mier y col., 1996). El tratamiento con MJ disminuye la pérdida iónica en frutos mango almacenados a 7°C (González-Aguilar y col., 2000), mantiene la calidad de frutos de papaya y guayaba (González-Aguilar y col., 2003, González-Aguilar y col., 2004).

Etanol. Desde hace años se conocen las propiedades antimicrobianas del etanol. Médicamente, el etanol es clasificado como un compuesto que induce sueño, y es ampliamente utilizado como método de desinfección. El etanol se utiliza desde hace siglos como desinfectante o antiséptico. Su poder es considerado como bactericida contra células en estado vegetativo (Kalathenos y Russell, 2003).

La aplicación en diferentes productos hortícolas puede llevarse a cabo directamente en la superficie del producto o bien, suministrarse en forma de vapor a diferentes concentraciones, dependiendo del producto. Generalmente, después del

tratamiento se envasa el producto para mantener una concentración determinada en la superficie del mismo. En la actualidad se han diseñado sistemas donde se controla la liberación paulatina de vapores de etanol, en sistemas que utilizan películas poliméricas, una vez que han sido envasados los frutos (Kalathenos y Russell, 2003). El etanol es un compuesto seguro para la salud que queda dentro de la clasificación "GRAS" de la FDA, por lo tanto se considera que puede ser utilizado sin riesgos para la conservación de alimentos. El status GRAS del etanol facilita su implementación para conservar la vida de anaquel de frutos cortados comparado con otros compuestos riesgosos para la salud del consumidor.

Se ha observado que la aplicación de etanol y acetaldehído puede retardar la maduración de algunos frutos, tales como tomates (Kelly y Saltveit, 1988), mientras que en frutos de kiwi puede estimular el proceso de maduración (Mencarelli y Savarese, 1991). El etanol puede disminuir la maduración de frutos de tomate inhibiendo la síntesis y acción del etileno, incrementando la producción de CO₂, disminuyendo la pérdida de clorofila y la síntesis de licopeno (Saltveit y Mencarelli, 1988). La aplicación de etanol puede mejorar la calidad poscosecha de tomates, zarzamoras y peras incrementando el contenido de azúcares y el sabor (Paz y col., 1981). El etanol puede reducir la incidencia de daño por fífo en cotiledones de pepino (Saltveit, 1994).

Atmósferas modificadas y/o controladas

Las AM o AC son los tratamientos más efectivos en la conservación de frutos de fresa (Gil y col., 1997). El uso de películas plásticas en fresa modifica pasivamente la atmósfera (O₂ y CO₂) alrededor del producto. Cuando las concentraciones de estos gases son las adecuadas, se puede retrasar el deterioro fúngico y prolongar la vida de los frutos. Las concentraciones altas de CO₂ (30-35%) que toleran las fresas, permiten ser utilizados para evitar el deterioro y facilitar su comercialización, sin afectar la calidad del producto. Sin embargo, estas altas concentraciones de CO₂, en combinación con altas temperaturas, pueden provocar la aparición de olores desagradables (Gil y col., 1997). Debido a lo anterior, las AM o AC representan un método efectivo para prolongar la

vida de los frutos. Existe poca información de los cambios en la capacidad antioxidante en frutos de fresa después de tratamientos postcosecha.

Compuestos Antioxidantes en Fresa

Los compuestos antioxidantes son sustancias biológicamente activas, que disminuyen el estrés oxidativo causado por la formación de radicales libres, que oxidan moléculas como colesterol, ácidos grasos, ácidos nucleicos y proteínas. La oxidación de estas moléculas puede causar la aparición de la mayoría de las enfermedades crónico-degenerativas. Por lo tanto, el consumo de frutas con alta actividad antioxidante, puede disminuir el riesgo de tales enfermedades (Sargeant y col., 2001).

Los flavonoides son un grupo de antioxidantes ubienos en frutas y hortalizas. El incremento en el interés sobre dichos compuestos se debe a su acción farmacológica. Tal acción a mostrado efectos benéficos en el tratamiento de diabetes mellitus, alergias, cáncer, infecciones virales, cefalalgia, úlceras y enfermedades inflamatorias (Kuehman, 1976).

Ácidos fenólicos

Los principales ácidos fenólicos que se encuentran en fresa son; los derivados del ácido benzoico y derivados del ácido cinámico. Los ácidos fenólicos de mayor abundancia en fresa, son el ácido gálico y el ácido elágico, los cuales son derivados del ácido benzoico. Éstos pueden encontrarse en su forma soluble, conjugados con azúcares, ácidos orgánicos o enlazados a fracciones de la pared celular (Strack, 1997).

El contenido y tipo de ácidos fenólicos en frutos de fresa varía de acuerdo al estado de madurez y tratamiento previo almacenamiento en frío. El contenido de ácido elágico es mayor en frutos verdes que en frutos maduros (Maas y col., 1991). La enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) es la enzima clave en la síntesis de los fenoles. Su actividad depende de la disponibilidad de los precursores e intermediarios, localización enzimática y condiciones a la que es expuesto el tejido vegetal. De la misma forma, la

respuesta del tejido a diferentes tipos de estrés depende del estado de madurez y desarrollo del fruto (Macheix y col., 1990).

Flavonoides, antocianinas

Las antocianinas son compuestos fenólicos *O*-glicosilados con diferentes azúcares. Los azúcares más prevaecientes en la conjugación de antocianidinas son glucosa, ramnosa, xilosa, galactosa, arabinosa y fructosa (Strack, 1997). Siendo la pelargonidín-3-glucósido, la antocianina de mayor presencia en fresa.

El contenido de antocianinas aumenta en frutos de fresa con la maduración (Stör y Herrmann, 1975; Wang y Lin, 2000). El aumento de dichos compuestos, es resultado del incremento de la actividad de la enzima PAL durante el desarrollo del fruto. Lo anterior se debe a que las antocianinas son las responsables de la pigmentación roja de los frutos maduros de fresa (Macheix y col., 1990).

Función de los Compuestos Antioxidantes en el Fruto

Los compuestos fenólicos poseen gran importancia como materiales de apoyo de la pared celular. Estos forman una parte integral de la estructura de la pared celular, formando polímeros como las ligninas, las cuales sirven como soporte mecánico y de barrera contra la invasión microbiana (Wallace y Fry, 1994).

De la misma forma, los compuestos fenólicos se encuentran formando taninos en frutos verdes de fresa, proporcionando un sabor astringente al fruto (Strack, 1997).

Existen diferentes estudios que reportan la acción de fenoles y flavonoides como mecanismos de defensa del tejido (Britton, 1983; Bennet y Wallsgrave, 1994; Dixon y Paiva, 1995). Algunas condiciones de estrés como irradiación ultravioleta excesiva, heridas o infecciones, pueden inducir significativamente la biosíntesis de compuestos fenólicos y algunos flavonoides en el tejido vegetal (Bennet y Wallsgrave, 1994). Los cuales se han relacionado con la tolerancia a diferentes tipos de estrés (Beggs y col., 1987).

Capacidad Antioxidante (ORAC)

La generación de radicales libres está directamente relacionada con la oxidación de biomoléculas, por tanto, es importante la búsqueda de métodos para la determinación del secuestro de radicales libres. Los principales métodos utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante son en base a la inactivación de: radicales superóxido (O_2^{\bullet}), de peróxido de hidrógeno (H_2O_2); de ácido hipocloroso (HOCl); de radicales hidroxilo (HO^{\bullet}); de radicales peroxilo (ROO^{\bullet}), entre los que destacan los métodos que utilizan azo-compuestos para la generación de radicales peroxilo, tales como el método del "TRAP" (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) y el método del "ORAC" (Oxygen-Radical Absorbance Capacity); inactivación del catión radical 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) o método del ABTS o del "TEAC" (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity); inactivación del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil o método del DPPH $^{\bullet}$ e inactivación del radical catión N,N-dimetil-p-fenilendiamina o método del DMPD. Actualmente, a pesar de la diversidad de métodos existentes, el ORAC es uno de los métodos más confiables y utilizados para el análisis de la capacidad antioxidante de frutas y vegetales.

La capacidad antioxidante expresada como ORAC, es un parámetro que muestra la eficiencia de los compuestos antioxidantes inactivando radicales libres. El valor de ORAC depende de la calidad y cantidad de compuestos antioxidantes presentes en el fruto (Cao y col., 1996; Prior y Cao, 2000; Ninfali y Bachioca, 2003). Si el almacenamiento de fresa en atmósferas con altas concentraciones afecta los compuestos antioxidantes presentes en el fruto se mostrarán cambios en el valor de ORAC (Ninfali y Bachioca, 2003).

El ORAC es un método usado para medir la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en el fruto. Este análisis involucra la presencia de una proteína fluorescente, un estándar antioxidante y un generador de radicales libres. El análisis de ORAC mide el daño de la proteína (ficoeritrina) a través del cambio en su intensidad fluorescente. Este cambio en la intensidad fluorescente es un índice del grado de

deterioro oxidativo. El papel del antioxidante en el análisis de ORAC es ofrecer protección a la proteína contra el ataque de los radicales. El valor de ORAC combina tanto el tiempo como el porcentaje de inhibición de radicales libres.

La fresa se encuentra dentro de los frutos con mayor capacidad antioxidante. Existe una correlación positiva entre el contenido de antioxidantes y la capacidad antioxidantes de estos compuestos, como se puede observar en el **cuadro 1** la fresa posee una concentración alta de compuestos fenólicos y una capacidad antioxidante 16 veces mayor que el TROLOX el cual es un análogo hidrosoluble de la vitamina E (Wang y col., 2002; Ninfali y Bachioca, 2003).

Cambios en los Compuestos Antioxidantes en Fresa

La capacidad antioxidante varía dependiendo el tipo de flavonoide, debido al número y acomodo de los grupos hidroxilos en la estructura del compuesto. La capacidad antioxidante de los flavonoides se incrementa con el número de grupos hidroxilos presentes en el anillo B, especialmente en la posición 3' (Bors y col., 1990). Por lo tanto, el número y tipo de flavonoide presente en frutas y hortalizas afectan su capacidad antioxidante.

La fresa contiene compuestos antioxidantes que incluyen ácido elágico y sus derivados (Wang y col., 2002). El ácido elágico es un compuesto utilizado en el tratamiento del cáncer (Mass y col., 1991; Okuda y col., 1989). El ácido elágico puede encontrarse en su forma libre, sin embargo, es más común encontrarlo formando esteres glicosilados en forma de taninos. El ácido elágico en su forma pura no es tan biodisponible como los elagotáninos (Okuda y col., 1989). La fresa posee tanto ácido elágico en su forma pura como glicosilada. Sin embargo se han encontrado diferencias notorias entre especies, cultivares y durante la maduración (**Figura 2**) (Mass y col., 1991; Wang y col., 1994).

Cuadro 1. Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de diferentes frutas y hortalizas expresada como ORAC.

Fruta o hortaliza	Fenoles totales (mg/100 g)	Capacidad antioxidante (μ moles de ET/g)*
Zarzamora	267.0	28.2
Frambuesa	248.0	24.6
Fresa	125.0	15.9
Espinaca	107.0	7.34
Cebolla	24.40	5.40
Zanahoria	20.30	2.12

*ET son equivalentes de TROLOX (Wang y col., 2002; Ninfali y Bachlaca, 2003).

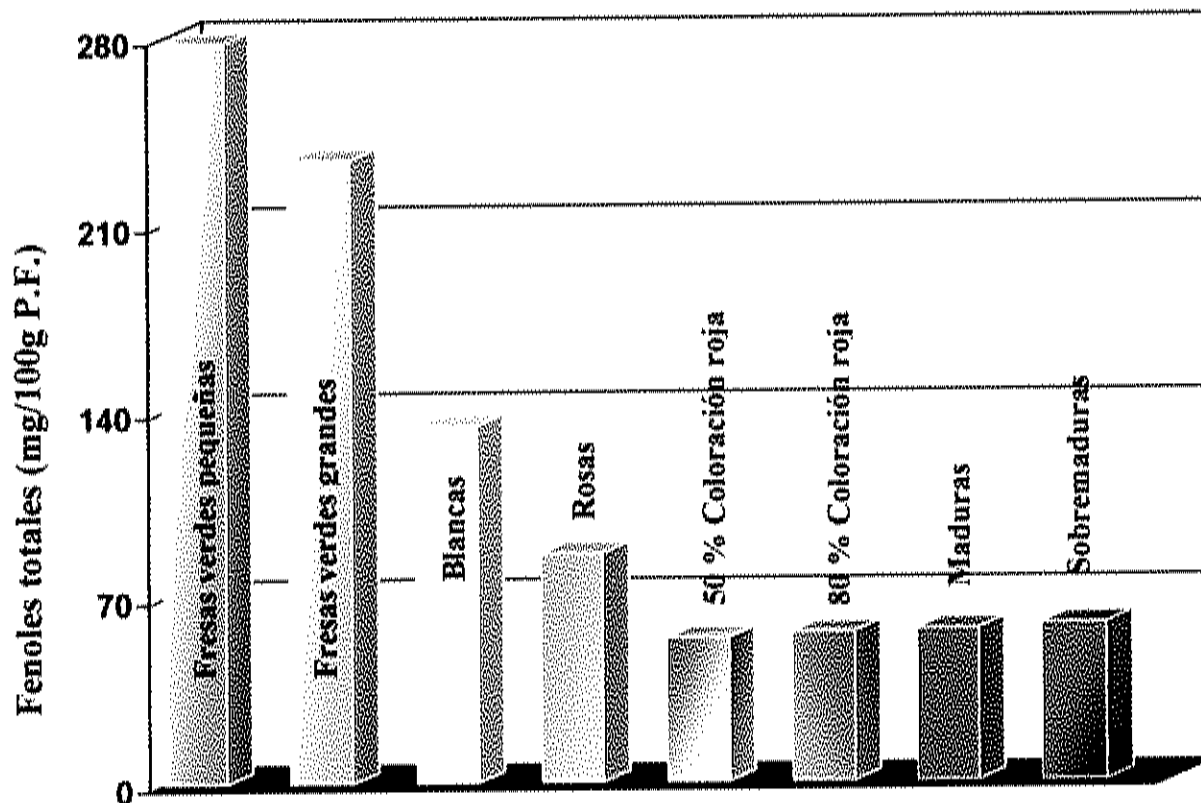


Figura 2. Cambios en el contenido de fenoles totales durante la maduración de fresa.

Fuente: Wang y col., 1994.

Las antocianinas son pigmentos que dan el color rojo de la fresa. Por lo que un aumento de estos compuestos durante la maduración de las fresas es característico (**Figura 3**). La fresa contiene cuatro tipos de antocianinas: cianidín-3-glucósido, pelargonidín-3-glucósido, cianidín-3-glucósido-succinato y pelargonidín-3-glucósido (**Cuadro 2**). Sin embargo, en fresas, el contenido de antocianinas derivadas del cianidín es menor que las antocianinas derivadas del pelargonidín (Wang y col., 2002).

Las antocianinas son un grupo de flavonoides con capacidad antioxidante. De igual forma que estos compuestos varían durante el proceso de maduración la capacidad antioxidante también lo hace (**Figura 4**). Esta capacidad se atribuye a los grados de hidroxilación y glicosilación. Las principales antocianinas en fresa son el cianidín-3-glucósido y el pelargonidín-3-glucósido. Las cuales muestran una capacidad antioxidante 2.24 y 1.54 veces mayor que el TROLOX, respectivamente (Wang, 1997). Por lo cual son una parte importante de la capacidad antioxidante total de la fresa.

Debido a que la fresa es sometida a diferentes tratamientos postcosecha, por su alta susceptibilidad al deterioro. Es necesario conocer los posibles cambios de los compuestos antioxidantes, que ocurren después de estos tratamientos. Ya que pueden influir de alguna manera, en la salud del consumidor (Kader y Ben-Yehoshua 2000). Algunos de los tratamientos utilizados en fresa incluyen: irradiación, atmósferas modificadas o controladas (AM o AC), tratamientos térmicos y volátiles naturales (Li y Kader 1989, Gil y col., 1997, Civello y col., 1997, Moline y col., 1997, Baka y col., 1999). Estos tratamientos evitan el deterioro y prolongan la vida del fruto, asegurando su llegada al consumidor. Sin embargo, se conoce poco acerca del efecto de estos tratamientos, sobre los cambios en la capacidad antioxidante de los frutos de fresa (Kader y Ben-Yehoshua 2000).

Función de los Antioxidantes en la Salud Humana

Actualmente la salud humana es un tema de mucha trascendencia. Lo que está ocasionando un exagerado incremento en el interés del papel de la dieta sobre la salud,

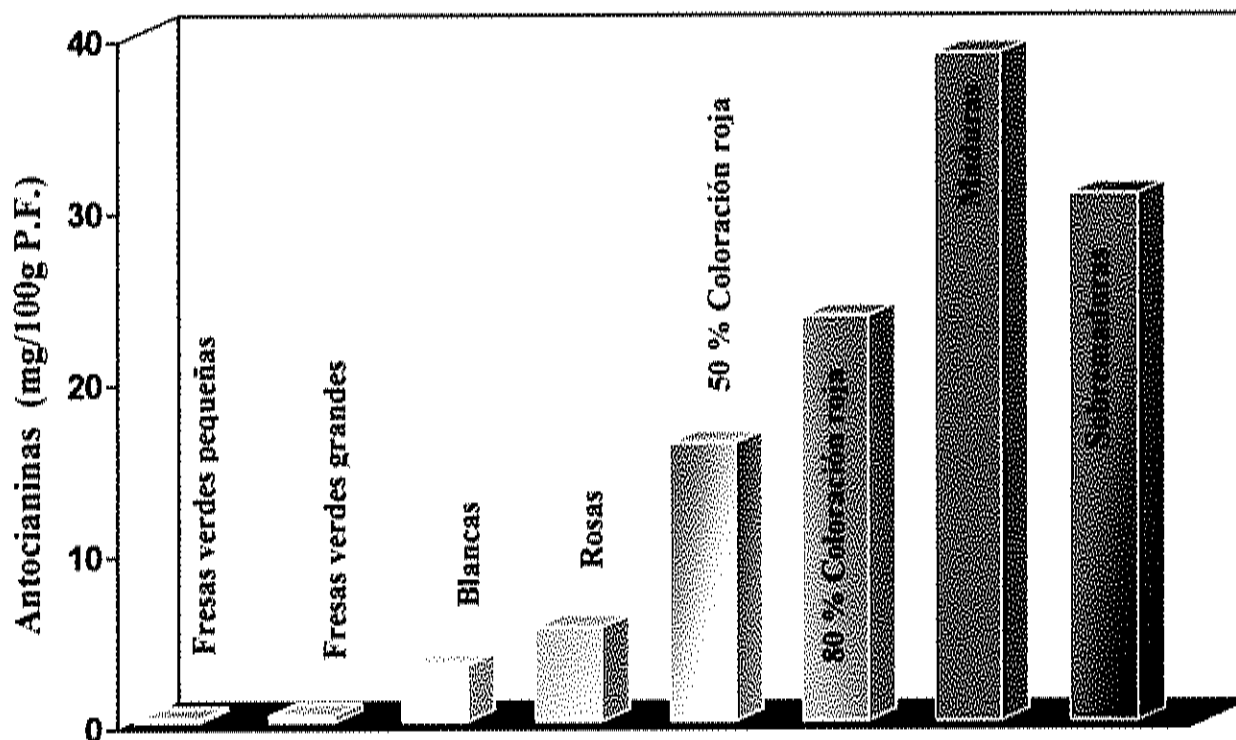


Figura 3. Cambios en el contenido de antocianinas totales durante la maduración de fresa. Fuente: Wang y col., 1994.

Cuadro 2. Contenido de antocianinas en fresa cultivar Allstar.

Contenido de antocianinas en fresa cultivar Allstar ($\mu\text{g/g}$ de peso fresco)	
Cianidin-3-glucósido	$18.4 \pm 0.3^{\text{a}}$
Pelargonidin-3-glucósido	365.3 ± 6.2
Cianidin-3-glucósido-succinato	13.6 ± 0.3
Pelargonidin-3-glucósido-succinato	46.3 ± 2.5

^aDatos expresado como medias \pm desviación estándar (Wang y col., 2002)

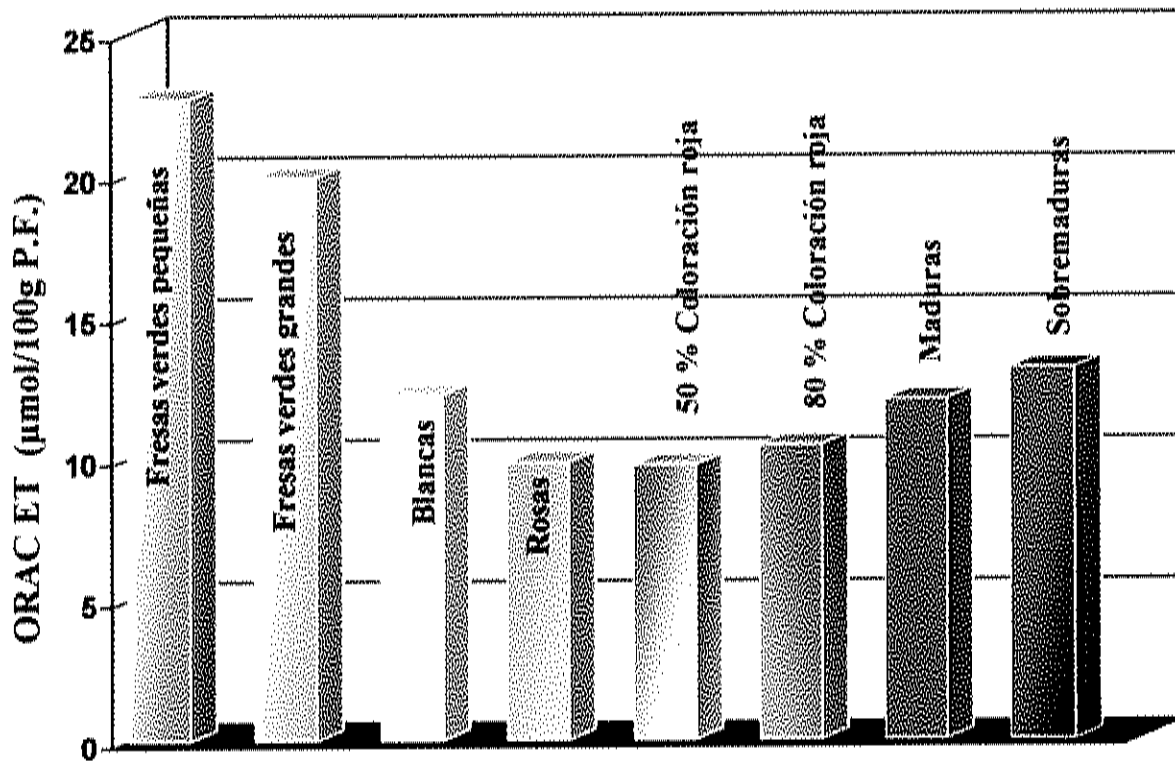


Figura 4. Cambios en la capacidad antioxidante durante la maduración de fresa. Fuente: Wang y col., 1994.

la belleza y una buena figura. Un nuevo paradigma entre la dieta y la salud ha evolucionado hacia los aspectos benéficos de una alimentación adecuada. Es muy común escuchar el término de "alimento funcional", el cual es un alimento capaz de proveer beneficios fisiológicos adicionales a los requerimientos básicos nutricionales. Tales beneficios pueden ser la prevención de enfermedades crónico-degenerativas y los síntomas del envejecimiento. Recientemente, los fitoquímicos encontrados ubicuamente en frutas y vegetales han llamado la atención hacia la prevención de enfermedades causadas por el estrés oxidativo. El estrés oxidativo, causa la liberación de radicales libres en el cuerpo, los cuales han sido involucrados como causantes de numerosos desordenes en la salud, incluyendo problemas cardiovasculares, cataratas, cáncer, reumatismo y el proceso de envejecimiento entre otros. Los antioxidantes presentes en los frutos actúan como secuestradores, inactivando los radicales libres y por lo tanto protegiendo a la célula de la oxidación.

Numerosos estudios epidemiológicos demuestran consistentemente la existencia de una asociación positiva entre la ingesta de frutos y la reducción de la mortalidad por enfermedades cardiacas, cáncer y los síntomas del envejecimiento (Steinmetz y Potter, 1996; García-Closas y col., 1999; Joseph y col., 1999; Dillard y German, 2000; Prior y Cao, 2000). La evidencia más fuerte esta relacionada a la reducción de cáncer de órganos que componen el aparato digestivo, así como el cáncer de pulmón. Los resultados encontrados apoyan fuertemente el efecto protector de los antioxidantes presentes en frutos y la reducción de cáncer (American Institute of Cáncer Research, 1997).

La capacidad antioxidante de los frutos durante su tratamiento y almacenamiento, es un parámetro importante de calidad. Los frutos de fresa representan una excelente fuente de antioxidantes. Esta capacidad antioxidante se incrementa con la irradiación. Sin embargo, algunos tratamientos como AM o AC y los tratamientos térmicos disminuyen tal capacidad. Por lo tanto, es necesario encontrar métodos de conservación adecuados que no comprometan dicha capacidad y permitan ofrecer frutos de buena calidad.

Tratamientos Postcosecha y su Efecto en el Contenido de Antioxidantes en Frutos y Vegetales

Irradiación

La irradiación es uno de los factores ambientales más estudiados en el metabolismo de los compuestos antioxidantes (Macheix y col., 1990). Por un lado, contribuye a la formación de fotosintatos y por otro estimula la síntesis de flavonoides, especialmente antocianinas. La enzima PAL es la principal enzima activada por la irradiación (Britton 1983, Macheix y col., 1990, Dixon y Paiva, 1995). Se ha sugerido que los compuestos fenólicos, ayudan a atenuar la cantidad de irradiación durante el proceso fotosintético (Beggs y col., 1987).

Baka y col., (1999) observaron un incremento gradual en el contenido de antocianinas en fresas después de 6 días a 4 °C, tanto para los frutos control como para frutos irradiados. Sin embargo, después de este período, el contenido de antocianinas disminuyó en los frutos control, pero continuó incrementándose en los frutos irradiados.

La irradiación tiene el efecto de aumentar concentraciones altas de fenoles. En frutos de papaya y mango irradiados (100-150 krad) aumentó el contenido de compuestos fenólicos debido al incremento de la actividad de la PAL (Tam y Lam, 1985). De igual forma se mostró un aumento en el contenido de fenoles totales y actividad de PAL en toronjas y naranjas irradiadas (300 krad) (Ríov y col., 1968). La irradiación permite el aumento de altas concentraciones de compuestos fenólicos prolongando la vida y calidad del fruto.

Atmósferas controladas

Con el aumento en el interés del consumidor sobre los residuos de pesticidas en fresa y la resistencia de los patógenos a los pesticidas usados, existe la necesidad de alternativas para controlar el deterioro. La enfermedad del moho gris de la fresa es la causante de más del 50% de pérdidas (García y col., 1996). Los métodos postcosecha actuales de control del deterioro de fresa durante el almacenamiento y el transporte

incluyen: temperaturas cercanas a 0°C y atmósferas modificadas de 15-20 kPa CO₂ (Mitchell, 1992). Sin embargo, el tratamiento con CO₂ es solo fungistático más que fungicida. Por lo tanto, no existe protección extra una vez que la fresa es removida de las atmósferas. El uso inadecuado de este tipo de atmósferas puede aumentar desordenes fisiológicos, causar maduración irregular de la fresa, pérdida de sabor y desarrollo de olores desagradables en fresa (Kader, 1995).

Estudios sobre el empleo de concentraciones altas de oxígeno muestran buenos resultados en la disminución del deterioro microbiano. Caldwell (1965) inhibió completamente el crecimiento de bacterias y hongos con la exposición a 10 kPa de O₂. Sin embargo, las bacterias siguieron creciendo una vez de regreso al aire. Por otro lado, los hongos retrasaron más su tiempo de crecimiento después de la transferencia. Se debe mencionar que este efecto pudo deberse al incremento en la presión atmosférica y no directamente a la concentración de O₂. Weszelaki y Mitcham (2000) observaron que atmósferas de 100 kPa de O₂ redujeron el deterioro fúngico después de 14 días de almacenamiento a 5°C. Por lo tanto, el empleo de concentraciones altas de O₂ es una alternativa viable para la conservación de fresa.

Un incremento en la concentración de oxígeno en la atmósfera y en el interior del fruto causa un aumento en el número de radicales libres que puede dañar el tejido (Fridovich, 1986). La sensibilidad del fruto a concentraciones altas de oxígeno varía entre especies y etapas de desarrollo. Sin embargo, se desconoce si existe una relación entre la tolerancia del fruto a las concentraciones altas de O₂ y la capacidad antioxidante total.

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos puede variar como consecuencia de su estado de oxidación. Con un grado de oxidación intermedio los compuestos fenólicos exhiben una mayor habilidad para inactivar radicales libres que los fenoles no oxidados (Talcott y col., 2000). Sin embargo, existen pocos informes del efecto de altas concentraciones de O₂ sobre el contenido de compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante que confieren tales compuestos.

Las atmósferas controladas o modificadas (CA o MA) se han utilizado exitosamente en la conservación de frutos de fresa (Li y Kader, 1989). Existe muy poca información sobre los efectos de elevadas concentraciones de CO₂ sobre la estabilidad de los compuestos antioxidantes. Li y Kader (1989) reportaron que altas concentraciones de CO₂ (>73 kPa) modifican el contenido de algunas antocianinas en la piel de manzanas. Por otro lado, Gil y col., (1997) encontraron que atmósferas ricas en CO₂ (40 kPa), aumentan las concentraciones de derivados de quercitina y kaempferol en frutos de fresa, después de 10 días a 5 °C. Estos autores sugieren que este aumento se debe a la posible degradación de taninos, los cuales forman reservas de compuestos fenólicos.

Se ha visto que atmósferas ricas en O₂ (concentraciones mayores de 21 kPa), reducen el deterioro y el oscurecimiento enzimático de algunos frutos (Kader y Ben-Yehoshua, 2000). Sin embargo, la exposición del fruto a altas concentraciones de O₂, puede dar como resultado la producción de radicales libres que pueden dañar los tejidos (Fridovich, 1986).

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos puede cambiar como consecuencia de su estado de oxidación. Con un grado de oxidación intermedio los compuestos fenólicos exhiben una mayor habilidad para inactivar radicales libres que los fenoles no oxidados (Talcott y col., 2000). Sin embargo, existen pocos reportes del efecto de alto O₂ sobre el contenido de compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante que confieren tales compuestos.

El oscurecimiento enzimático debido a la oxidación de compuestos fenólicos causado por la acción de la polifenol oxidasa (PPO) resulta del rompimiento de los compartimentos celulares que pone en contacto a los fenoles con la enzima. Day (1996) sugiere que concentraciones altas de O₂ pueden causar la inhibición de la PPO o alternativamente, las concentraciones altas de quinonas incoloras formadas puedan causar una inhibición por retroalimentación de la PPO. Pérez y Sanz (2001) reportaron un aumento de antocianinas en fresas almacenadas en aire (21 kPa), mientras que para fresas almacenadas en alto O₂ (de 40 a 100 kPa) el contenido de antocianinas disminuyó.

Estos datos pueden explicarse como un retraso de la maduración del fruto causado por el almacenamiento en alto O_2 .

HIPÓTESIS

Las bajas temperaturas, la aplicación de volátiles antimicrobianos naturales y el uso de atmósferas con alto oxígeno en frutos de fresa, disminuyen el metabolismo y/o prolongan la vida de anaquel, pero afectan negativamente la capacidad antioxidante.

OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento, la aplicación de volátiles antimicrobianos naturales y el almacenamiento en concentraciones altas de oxígeno, sobre la capacidad antioxidante y la calidad de fresa almacenada a 5°C.

Específicos

- Evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento, la aplicación de volátiles antimicrobianos naturales y el almacenamiento en alto O₂ sobre la calidad postcosecha de frutos de fresa almacenados a 5°C.
- Analizar los cambios en el perfil aromático de frutos de fresa, después del almacenamiento en diferentes temperaturas, la aplicación de volátiles antimicrobianos naturales y el almacenamiento en alto oxígeno.
- Cuantificar el contenido de antocianinas y fenoles totales y la capacidad antioxidante (ORAC).

CAPITULO II

MATERIALES, EXPERIMENTOS Y MÉTODOS

Materiales y Experimentos

Material vegetal.

Para todos los experimentos realizados en el presente estudio, los frutos de fresa (*Fragaria ananassas*) se obtuvieron de los huertos Butler en Germantown, Maryland, EUA. Estos fueron cosechados manualmente en una etapa de madurez comercial, se seleccionaron de acuerdo a tamaño y color uniforme, eliminando aquellos frutos que presentaban diferentes tipos de daños o desórdenes fisiológicos. Se utilizaron 40 frutos para medir la calidad inicial del producto. El número de frutos utilizados en cada experimento se describe a continuación.

Experimento I:

Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante y calidad de fresa.

Los frutos (cv. Chandler) se dividieron en tres lotes de 200 y se colocaron en bandejas y se almacenaron en cuartos fríos a 0, 5 y 10°C (3 bandejas por temperatura de almacenamiento). Después de 5, 7, 11 y 13 días, se tomaron 45 frutos de los diferentes tratamientos para evaluar la apariencia general, deterioro fúngico, color (L^* , C^* y $^{\circ}hue$). Estos mismos frutos se colocaron en tres recipientes (15 frutos/ recipiente = unidad experimental) para medir los compuestos aromáticos. Después de esta medición se tomaron los frutos de cada unidad experimental se homogenizaron para extraer el jugo, el cual se congeló para medir por triplicado el pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, la capacidad antioxidante, antocianinas y fenoles totales.

Experimento II:

Incremento de la capacidad antioxidante, compuestos aromáticos y la vida postcosecha de fresa utilizando metil jasmonato en combinación con etanol.

Los frutos (cv. Allstar) se dividieron en tres lotes de 210 y se colocaron en recipientes de 3.9 L (3 recipientes por tratamiento). Cada uno de los lotes recibió los siguientes tratamientos; lote 1-3 (control), lote 4-6 (MJ), lote 7-9 (etanol), lote 10-12 (MJ-ETOH). La aplicación de los compuestos volátiles se llevó a cabo colocando en recipiente la cantidad de 63.67 $\mu\text{L L}^{-1}$ de MJ, 400 $\mu\text{L L}^{-1}$ etanol y la combinación de ambos en el fondo del contenedor. Posteriormente, los frascos se sellaron y se colocaron en una cámara a 25°C durante 24 horas, esto con el fin que los compuestos aplicados se volatilizarán dentro de los contenedores y estuvieran en contacto directo con el fruto. Después de este período los contenedores fueron transferidos a 7.5°C durante 14 días. Los frutos control fueron manipulados de la misma forma que los tratados con los volátiles, pero sin ningún tratamiento. Después de 5, 7 y 11 días a 7.5°C, se tomaron 45 frutos de los diferentes tratamientos para evaluar la apariencia general, deterioro fúngico, color (L^* , C^* y $^{\circ}hue$). Estos mismos frutos se colocaron en tres recipientes (15 frutos/recipiente = unidad experimental) para medir los compuestos aromáticos. Después de esta medición se tomaron los frutos de cada unidad experimental se homogenizaron para extraer el jugo, el cual se congeló para medir por triplicado el pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, la capacidad antioxidante, antocianinas y fenoles totales.

Experimento III:

Aumento de la capacidad antioxidante de fresa almacenada en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno.

Los frutos (cv. Chandler) se dividieron en 15 lotes de 300 fresas las cuales fueron colocadas en contenedores de 19 L (3 contenedores / tratamiento) Cada uno de los lotes recibió las siguientes concentraciones de oxígeno durante el almacenamiento a 5°C; lote

1-3 ($20 \pm 2\%$), lote 4-6 ($40 \pm 2\%$), lote 7-9 ($60 \pm 2\%$), lote 10-12 ($80 \pm 2\%$), lote 13-15 ($100 \pm 2\%$). Las concentraciones de O_2 dentro de la atmósfera de los recipientes fueron controladas diariamente durante el período de almacenamiento, tomándose muestras de los diferentes contenedores e inyectándolas a un analizador de O_2 para verificar que los % fueran correctos. Después de 4, 6, 10, 12 y 14 días a $5^\circ C$, se tomaron 60 frutos de cada tratamiento para evaluar la apariencia general, deterioro fúngico, color (L^* , C^* y $^{\circ}hue$). De estos mismos frutos se colocaron en tres recipientes (15 frutos/ recipiente = unidad experimental) para medir los compuestos aromáticos. Después de esta medición se tomaron los frutos de cada unidad experimental se homogenizaron para extraer el jugo, el cual se congeló para medir por triplicado el pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, la capacidad antioxidante, antocianinas y fenoles totales.

Métodos

Control de la concentración de oxígeno en las atmósferas utilizadas

El control de la concentración de oxígeno se realizó haciendo fluir oxígeno puro (para las atmósferas con concentraciones de 100%) en sistemas abiertos que contenían los frutos. Para las concentraciones menores (20, 40, 60 y 80%), se hicieron mezclas de oxígeno con aire. Los flujos de gases fueron humidificados antes de entrar a los contenedores. Se verificó diariamente que las concentraciones de oxígeno en el interior de los contenedores fuera el deseado utilizando cromatografía de gases. En caso de desviaciones se ajustaron los flujos para alcanzar la atmósfera requerida ± 2 kPa.

Deterioro fúngico y calidad visual

El índice de infección fúngico fue estimado subjetivamente durante el curso del experimento. Los frutos de fresa que mostraron desarrollo micelial en la superficie fueron considerados como deteriorados, utilizando la siguiente escala hedónica para evaluar el deterioro fúngico: 1 = ninguno, 2 = ligero, 3 = moderado, 4 = severo y 5 = extremo. La calidad visual fue calculada como la suma del deterioro fúngico y el daño

mecánico de las fresas en base a la siguiente escala hedónica: 5 = excelente, 4 = buena, 3 = regular, 2 = mala y 1 = extremadamente mala. Se analizaron 3 sub-lotes de 12 frutos por tratamiento. Los resultados se expresaron en base a la siguiente fórmula como índices de deterioro fúngico y pérdida de calidad, respectivamente (Mercado y col., 2000).

$$I = \frac{1n+2n+3n+4n+5n}{N}$$

Donde:

n fue el número de frutos que se encontraron en cada uno de los rangos establecidos en la escala hedónica, para un tiempo de análisis dado.

N fue el número total de frutos examinados.

Sólidos solubles totales

Se obtuvieron 3 replicas de jugo de cada unidad experimental. El jugo fue usado para la determinación de sólidos solubles totales por medio de un refractómetro Atago DBX-55 (Atago Co. Ltd., Tokio, Japón) expresándose los resultados como °Brix.

pH y acidez titulable

Para estas determinaciones se siguió la metodología propuesta por la AOAC (1990). De cada unidad experimental se tomaron 10 ml. de jugo, el cual fue homogeneizado en 40 ml. de agua destilada. La determinación de pH y acidez titulable se efectuó directamente de los homogeneizados, los cuales fueron valorados con una solución de NaOH 0.1 N en un titulador automático Mettler® modelo DL 21 hasta alcanzar el pH de 8.2. Los resultados fueron expresados como pH y mg de ácido cítrico por peso fresco de fruto.

Color

El color se evaluó usando un colorímetro Minolta CR-300 (Minolta corp., Ramsey, NJ), se obtuvieron los parámetros de color L^* , a^* y b^* . Dichos parámetros

fueron transformados en el parámetro Chroma y en el ángulo Hue ($\tan^{-1} b^*/a^*$) que representan el color en un ángulo de 360° donde 0, 90, 180 y 270 representan colores rojo-púrpura, amarillo, azul-verde, y azul respectivamente. Se realizaron dos determinaciones en las zonas ecuatoriales de 20 frutos.

Análisis de compuestos volátiles

Se utilizaron 3 unidades experimentales de 15 fresas por tratamiento (aproximadamente 100 g) las cuales fueron colocadas en un contenedor cerrado herméticamente (600 mL) a temperatura ambiente (25 °C). Después de 10 minutos de tiempo de equilibrio (establecido previamente en estudios preliminares). Los compuestos volátiles fueron adsorbidos en una fibra de micro-extracción en fase sólida (SPME) (65 µm, PDMS/DVB). El tiempo de adsorción fue de 20 minutos. Se pudieron obtener 2 muestras por tratamiento en cada día de muestreo usando este procedimiento. La desorción de los compuestos volátiles atrapados en el SPME se llevó a cabo directamente sobre el puerto de inyección del cromatógrafo. Los volátiles fueron analizados usando un cromatógrafo Varian-Star 3400 Cx equipado con una columna capilar 5-HP (5m x 0.25 mm), la temperatura del horno se mantuvo inicialmente a 40°C por 6 minutos y se incrementó con una velocidad de 2 °C/min hasta alcanzar 180 °C. La identificación de compuestos se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención de estándares conocidos. Los resultados se expresaron como área de cada compuestos a través del tiempo de almacenamiento (Pérez y Sanz, 2001).

Compuestos fenólicos

El contenido de fenoles totales se midió en base al método de Folin Ciocalteu. Se diluyó el reactivo de folín en una relación 1:10 con agua destilada. Se agregaron 0.1 mL de una dilución de jugo de fresa (1:50), 0.8 mL de carbonato de sodio (75 g/L), se agitó y dejó reposar las cubetas por 2h a 30 °C. Después se mezcló por segunda vez para leer la absorbancia a 765 nm. La concentración de fenoles totales fue calculada con una curva estándar obtenida de diluciones conocidas de ácido gálico. Los resultados se

expresaron como mg de ácido gálico en base al peso fresco de la muestra (Wang y col., 2001).

Antocianinas totales

La cuantificación de antocianinas totales se realizó en una dilución de jugo de fresa (~5x), dicha dilución se mezcló con dos buffer fosfato con pH de 1 y 4.5 respectivamente. Se leyó la absorbancia por triplicado para cada muestra a diferentes pH a 510 y 700 nm. Para la cuantificación se utilizó un coeficiente de extinción molar de 36000 expresando los resultados como mg de pelargonidín-3-glucósido por peso fresco de la muestra (Wang y col., 2001).

Capacidad antioxidante (ORAC)

Se utilizó el jugo de 3 unidades experimentales (15 frutos) de fresas por tratamiento. El jugo fue centrifugado a 14000 g por 20 min. El sobrenadante se transfirió a viales y se almacenó a -80°C para posteriormente realizar el análisis de ORAC.

El análisis de ORAC mide el efecto protector de los antioxidantes del jugo de fresas en la disminución de la fluorescencia de la ficoeritrina inducida por la acción de un generador de radicales libres (peróxilos), AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano)dihidrocloreuro, Aldrich Co). La mezcla de reacción contiene 1.7 mL de buffer fosfato 75 mM (pH 7.0), 100 µL de ficoeritrina (3.4 mg/L), 100 µL de 320 mM de AAPH, y 100 µL de muestra de jugo. Se usó como blanco buffer fosfato y 100 µM de Trolox (ácido 6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico, Aldrich Co) un análogo hidrosoluble del α -tocoferol como estándar durante cada corrida. El volumen total de la mezcla (2 mL) se alcanzó en una cubeta para fluorómetro de 10-mm de ancho. La ficoeritrina, el buffer fosfato, y las muestras de jugo se preincubaron a 37 °C por 15 min. La reacción se inició con la adición del generador de radicales libres AAPH. Se midió la fluorescencia en ciclos de 5 min dentro de los parámetros fluorométricos de emisión a 570 nm y excitación a 540 nm usando un fluorómetro Shimadzu RF-Mini 150 recording fluorometer (Columbia, MD) hasta que la fluorescencia disminuyó hasta

menos del 5% de la lectura inicial (~70 min). Un blanco, un estándar y un máximo de 10 muestras fueron analizados al mismo tiempo. Cada muestra se analizó por triplicado. Los valores de ORAC se refieren al área de protección neta de la ficoeritrina bajo la curva debido a la presencia de un antioxidante. Los resultados se expresaron como equivalentes Trolox por gramo de peso fresco (Wang y col., 2002).

$$\text{Valores de ORAC} = 20K(S_{\text{muestra}} - S_{\text{blanco}}) / (S_{\text{trolox}} - S_{\text{blanco}})$$

Donde K = es el factor de dilución y S = al área bajo la curva de la caída de fluorescencia de la muestra, estándar, o blanco, la cual se calcula de la siguiente manera:

$$S = (0.5 + f_1/f_0 + f_10/f_0 + f_{15}/f_0 + f_{20}/f_0 + f_{25}/f_0 + f_{30}/f_0 + \dots + f_{60}/f_0 + f_{65}/f_0 + f_{70}/f_0) \times 5$$

f_0 = fluorescencia inicial a tiempo cero y f_i = medidas de fluorescencia a tiempo i .

Análisis estadístico

El diseño experimental fue diseño en bloques aleatorizado, donde se bloqueó el efecto del tiempo de almacenamiento para observar el efecto de cada tratamiento. Los tratamientos en cada experimentos fueron los siguientes: temperatura de almacenamiento (exp. 1), volátil antimicrobiano aplicado (exp. 2) y concentración de oxígeno en la atmósfera de almacenamiento (exp. 3). Se realizó un análisis de varianza en base al siguiente modelo:

$$\text{Respuesta} = \text{Constante} + \text{efecto bloque} + \text{efecto tratamiento} + \text{error}$$

Se realizó un análisis de medias utilizando la mínima diferencia significativa de Fischer, para los experimentos 1 y 3. Para el análisis del experimento 2 se realizó la comparación de medias por contrastes ortogonales.

Los contrastes realizados para el experimento 2 fueron:

C1 Control vs MJ + ETOH + MJ-ETOH

C2 MJ vs ETOH

C3 MJ vs MJ-ETOH

Las diferencias menores a 0.05 fueron consideradas como significantes.

CAPITULO III
EFECTO DE LA TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CALIDAD DE FRESA

Resumen

Se analizó la capacidad antioxidante (ORAC), antocianinas y fenoles totales, y la calidad postcosecha de fresa (*Fragaria ananassa* cv. Chandler) almacenada a 0, 5 y 10°C. Las fresas almacenadas a 10 y a 5°C mostraron mayor capacidad antioxidante, contenido de antocianinas y fenoles totales que aquellas almacenadas a 0°C. Sin embargo, la vida postcosecha basada en la calidad general fue mayor para las fresas almacenadas a 0°C que aquellas a 5 ó 10°C. La producción de compuestos aromáticos fue significativamente influenciada por el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Entre los compuestos presentes en el aroma de la fresa se observaron comportamientos diferentes. Por ejemplo, se observó el incremento del etil hexanoato, el hexil acetato, el metil acetato y el butil acetato, mientras que los compuestos 3-hexenil acetato y metil hexanoato disminuyeron durante el almacenamiento. En general, las fresas almacenadas a 10 y a 5°C emitieron mayor cantidad de volátiles que aquellas almacenadas a 0°C. En conclusión, las fresas almacenadas a 0°C mantuvieron una calidad general aceptable con un período de almacenamiento mayor, sin embargo, las fresas almacenadas a temperaturas mayores a 0°C mostraron mayor capacidad antioxidante y contenido de compuestos aromáticos durante el período de almacenamiento.

Resultados y Discusión

Deterioro fúngico y calidad visual

La fresa tiene una vida postcosecha muy corta, debido a su alto contenido de agua y su alta actividad metabólica, y a la incidencia de infecciones fúngicas. La **figura 5 y 6** muestran el índice de calidad de fresas almacenadas a 0, 5 y 10°C. Se observó que la calidad disminuyó con el tiempo de almacenamiento y en mayor proporción en las fresas almacenadas a 10°C que aquellas almacenadas a 5 y 0°C. La temperatura de almacenamiento de 0°C fue la más efectiva en mantener la mejor calidad durante el período de almacenamiento. Las fresas almacenadas a 5°C mantuvieron una calidad aceptable por 7 días. La temperatura de almacenamiento es el factor más importante en la conservación postcosecha de frutas y vegetales, debido a sus dramáticos efectos sobre la velocidad de las reacciones biológicas y el crecimiento microbiano (Li y Kader, 1989). La pérdida de agua durante el almacenamiento es la mayor causa del deterioro de las fresas. La reducción en la turgencia es resultado de la pérdida de agua, causa marchitamiento y una rápida disminución de nutrientes.

El deterioro fúngico se incrementó rápidamente en las fresas almacenadas a 10°C especialmente después del día 7 de almacenamiento (**Fig. 6**). Las fresas almacenadas a 5°C mostraron un ligero deterioro fúngico después de 13 días de almacenamiento. La temperatura de almacenamiento a 0°C fue la más efectiva suprimiendo el deterioro fúngico de las fresas. Por lo tanto, la temperatura es un factor importante que afecta significativamente el deterioro fúngico de las fresas. Por esta razón es común que el desarrollo de *Botrytis cinerea* se presente más frecuentemente en frutos en madurez avanzada debido a la gran cantidad de sustratos presentes en el tejido y a la mayor susceptibilidad al deterioro.

La infección causada por *Botrytis cinerea* es la enfermedad más seria de la fresa (Harvey y Pentzer, 1960). La infección con *Botrytis*, también conocida

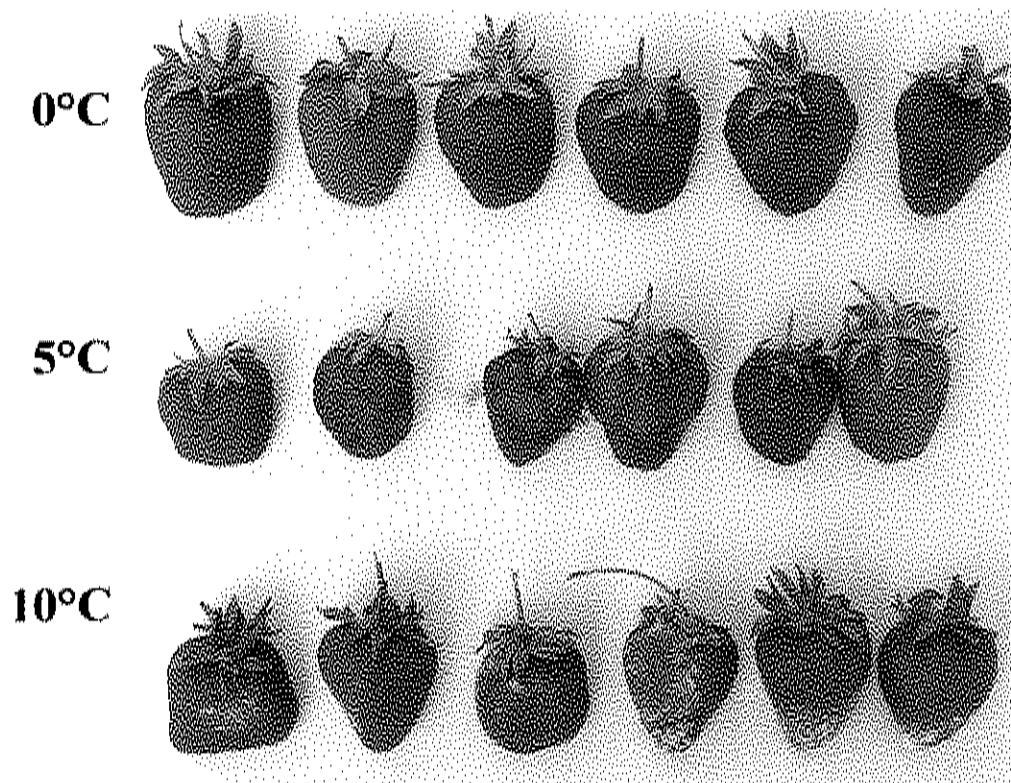


Figura 5. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la calidad visual de fresa cv. Chandler.

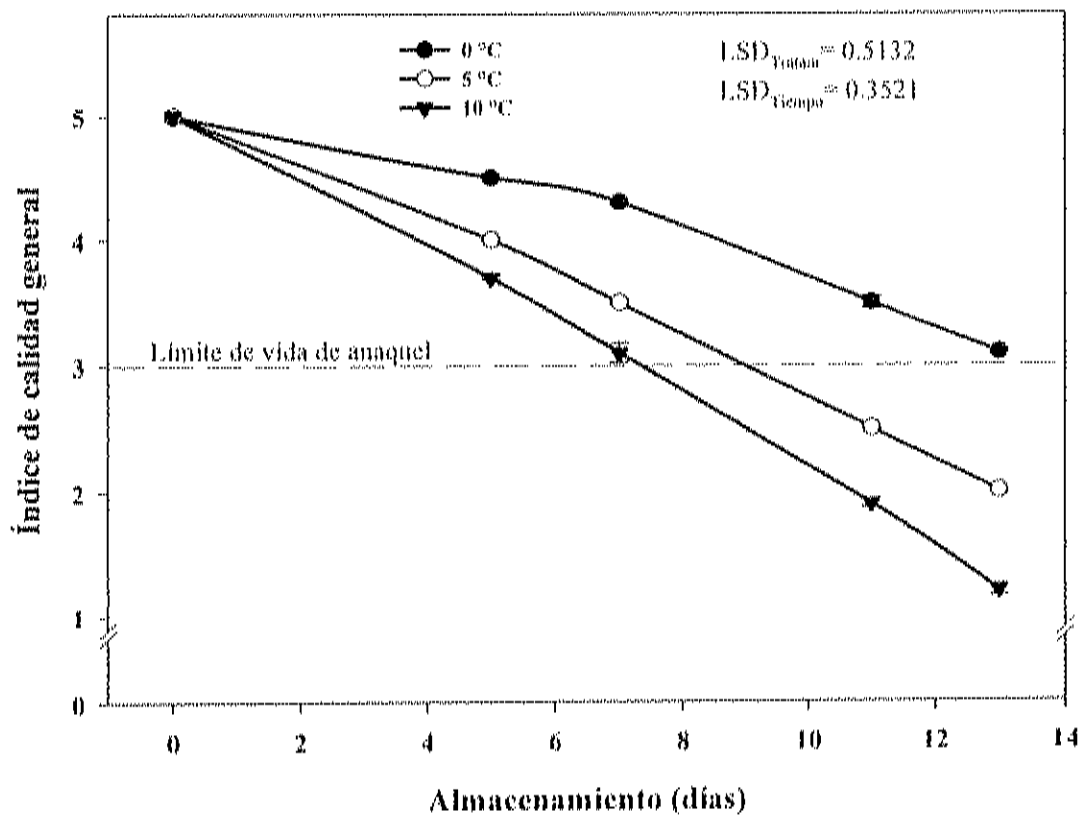


Figura 6. Disminución de la calidad visual de fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.

como mancha gris, se dispersa en el ambiente y puede infectar flores y destruirlas o permanecer en dormancia. La infección en dormancia se hace presente antes o después de la cosecha cuando las concentraciones de azúcares se incrementan y las condiciones comienzan a favorecer su desarrollo.

Sólidos solubles totales, acidez titulable y pH

La **figura 7** muestra los cambios de sólidos solubles totales (SST) en fresa almacenada a 0, 5 y 10°C. El contenido de SST disminuyó en todas las temperaturas utilizadas durante el período de almacenamiento. Las fresas almacenadas a 10°C presentaron los valores menores de SST después de 11 días de almacenamiento, mientras que en las fresas almacenadas a 0 y 5°C la disminución fue en menor grado. El tiempo y las temperaturas de almacenamiento mostraron un efecto significativo ($p < 0.05$) en el contenido de SST de fresas. Estos cambios están relacionados con una reducción en el metabolismo en las fresas almacenadas a las menores temperaturas. Durante la poscosecha los azúcares tienden a disminuir, debido a que estos son utilizados principalmente por el fruto ya que representan las principales reservas energéticas del fruto. La continuación de los procesos de respiración después de la cosecha, favorece la disminución de las reservas energéticas y la severidad esta en función de las condiciones de almacenamiento a las que es expuesto el producto vegetal. Estos procesos dan origen a una disminución de los azúcares, así como de los ácidos orgánicos presentes en el fruto (Browne y col, 1984).

Por estas razones, la mayor disminución del contenido de SST en las fresas almacenadas a 10°C puede ser explicada por las altas tasas respiratorias de este fruto. De la misma forma, las bajas tasas de respiración en las fresas a 0 y 5°C pudieron ayudar a mantener los niveles de los carbohidratos del tejido.

Para que el consumidor goce de un buen sabor, las fresas deben de contener, en general, altos niveles de azúcar y una buena relación con respecto al contenido total de ácidos. A pesar de que no todas las fresas con alto

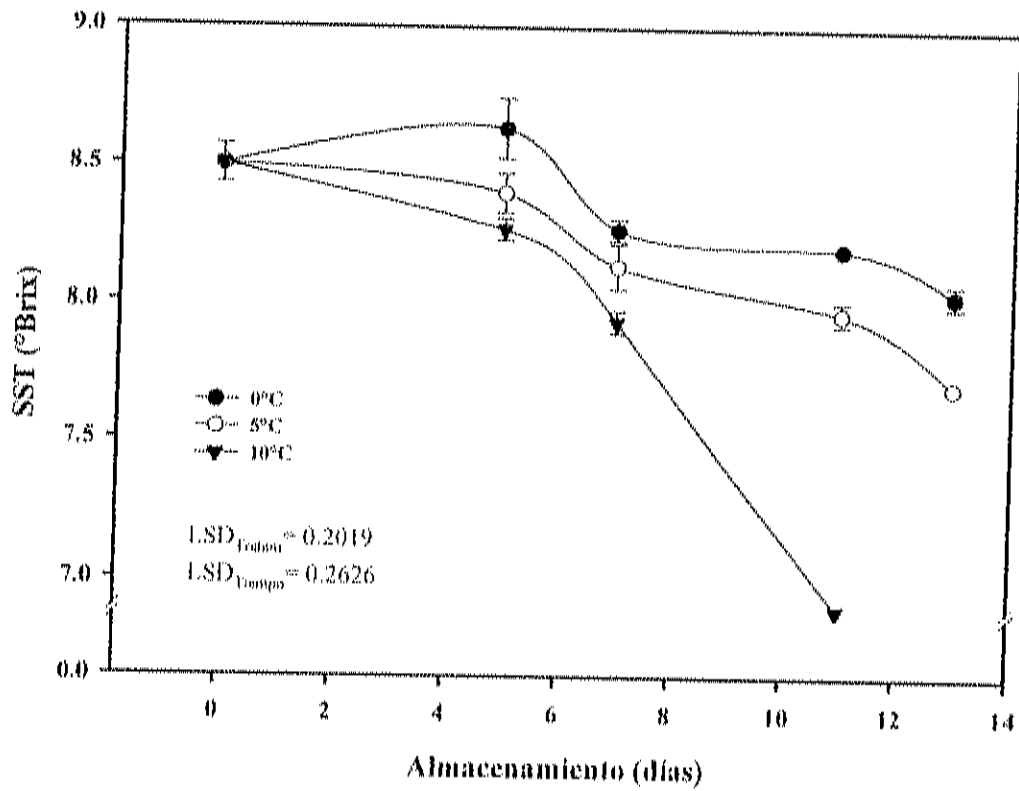


Figura 7. Cambios en el contenido de SST en fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.

contenido de SST son de alta calidad, la ausencia de un alto contenido de SST probablemente asegura una pobre calidad. Galleta y col., (1995) publicaron que el contenido de SST en fresa generalmente se encuentra entre el rango de 7-12% dependiendo del genotipo. La fructosa y glucosa fueron los azúcares encontrados en mayor concentración en fresa formando el 65% del contenido de SST (Wang y Camp, 2000).

No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en pH para las fresas almacenadas en diferentes temperaturas (**Cuadro 3**). De igual forma no se observó un efecto de las temperaturas de almacenamiento sobre la acidez titulable de las fresas. Estos cambios son similares a los reportados previamente por otros autores (Wang y col., 2001, 2002).

Color

No se encontraron diferencias significativas en el color de las fresas almacenadas a las diferentes temperaturas de almacenamiento ($p>0.05$) (**cuadro 4**). Sin embargo, se encontró que el tiempo de almacenamiento tiene un efecto significativo en los valores del color del fruto ($p<0.05$). Estos cambios podrían deberse a los procesos de maduración y senescencia que van acompañados de la pérdida o síntesis de algunos pigmentos como las antocianinas.

A pesar de que no se encontraron diferencias en el color de la piel de las fresas almacenadas a diferentes temperaturas ($p>0.05$), se puede observar que efectivamente hubo un cambio significativo ($p<0.05$) en el contenido de antocianinas totales (**Figura 8**). Esto puede reflejar un incremento interno del contenido de antocianinas en la pulpa de las fresas. Los cambios en el contenido de antocianinas en el tejido interno o externo no necesariamente se ven afectados de la misma forma por un tratamiento específico, pero sí por la temperatura. Por ejemplo, el almacenamiento de fresas en atmósferas controladas de CO_2 disminuye el contenido de antocianinas en el tejido interno de fresas, mientras que no afecta el contenido de estas en el tejido externo (Holcroft y Kader,

Cuadro 3. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el pH y la acidez titulable (mg de ácido cítrico/100g P.F.) de fresas cv. Chandler.

Almacenamiento (días)	Temperatura					
	0°C		5°C		10°C	
	pH	TA	pH	TA	pH	TA
0	3.24±0.005 ^a	0.59±0.003	3.24±0.005	0.59±0.003	3.24±0.005	0.59±0.003
5	3.19±0.017	0.68±0.001	3.17±0.023	0.73±0.002	3.15±0.012	0.71±0.002
7	3.13±0.021	0.71±0.001	3.20±0.017	0.74±0.003	3.16±0.009	0.75±0.006
11	3.20±0.010	0.69±0.003	3.19±0.009	0.68±0.002	3.21±0.020	0.68±0.002
15	3.24±0.012	0.65±0.000	3.28±0.009	0.69±0.042	FA	FA

^a Los datos expresados son las medias ± error estándar, FA final de la vida anaquel, LSDpH_{Tempe}=0.0209, LSDpH_{Tempe}=0.0220, LSDTA_{Tempe}=0.0272, LSDTA_{Tempe}=0.0220, *a p* ≤ 0.05

Cuadro 4. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el color de fresas cv. Chandler.

Almacenamiento (días)	Temperatura								
	0°C			5°C			10°C		
	L*	C*	H°	L*	C*	H°	L*	C*	H°
0	33.9±0.52 ^a	35.1±0.63	28.5±0.89	33.9±0.52	35.1±0.63	28.5±0.89	33.9±0.52	35.1±0.63	28.5±0.89
5	33.7±0.86	37.6±0.88	28.1±1.25	33.4±0.92	33.6±0.87	30.6±2.67	33.6±0.80	34.2±1.46	29.5±1.61
7	31.8±0.60	34.5±0.97	29.4±1.84	32.6±0.68	32.1±0.81	28.3±2.02	33.6±0.89	32.9±1.07	27.2±1.34
11	30.9±0.82	33.6±1.47	27.9±1.24	32.2±0.74	31.1±1.23	27.8±1.10	30.9±0.51	32.6±0.91	27.6±1.27
13	29.85±0.96	32.1±1.47	28.5±1.75	31.6±0.48	30.5±0.98	26.9±1.40	FA	FA	FA

^a Los datos expresados son las medias ± error estándar, FA final de la vida de anaquel, LSDL*_{transm}=0.8957, LSDL*_{tempo}=1.1839, LSDC*_{transm}=1.2855, LSDC*_{tempo}=1.6991, LSDH*_{transm}=1.8406, LSDH*_{tempo}=2.4328, $\alpha, p \leq 0.05$

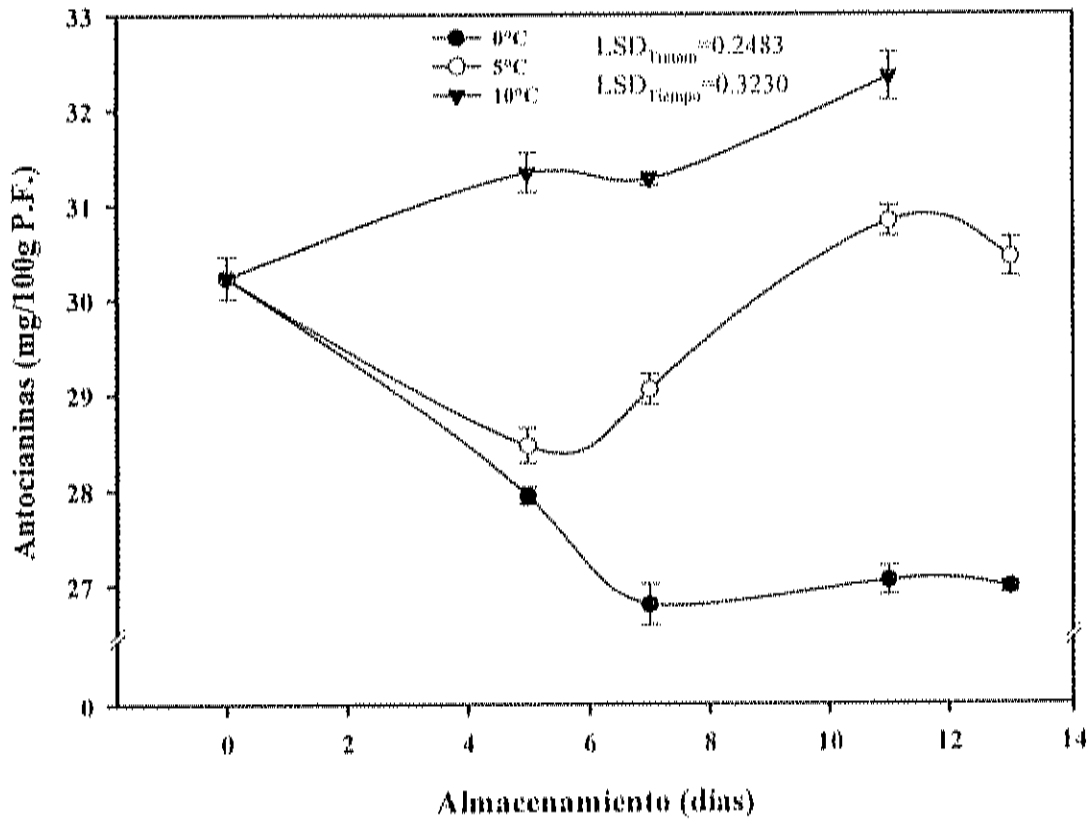


Figura 8. Cambios en el contenido de antocianinas totales de fresa cv. Chandler almacenada a 0, 5 y 10°C durante 13 días.

1999). Pelayo y col. (2003) reportaron que la distribución de las antocianinas en los diferentes tejidos de fruto no es uniforme. El color interno de las variedades de fresa 'aromas' y 'diamante' tienden a ser blancas, mientras que la variedad 'selva' es de un rojo claro. Por esta razón, es posible que exista un aumento o una disminución de los pigmentos, dependiendo de la variedad estudiada, del tratamiento aplicado y la temperatura de almacenamiento.

Contenido de antocianinas y fenoles totales

El contenido de antocianinas totales fue afectado por la temperatura y el tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$). Como se puede observar en **la figura 8**, el contenido de antocianinas disminuyó ligeramente en las fresas almacenadas a 0 y 5°C durante los primeros 5 días de almacenamiento. Posteriormente se mantuvo estable en los frutos almacenados a 0°C hasta el final del almacenamiento. Sin embargo, en los frutos almacenados a 5°C se observó un aumento alcanzando niveles inferiores a los observados al inicio del experimento. El contenido de antocianinas en las fresas almacenadas a 10°C incrementó gradualmente durante el período de almacenamiento y alcanzó los valores más altos (32.5 mg/100 g P.F.) al final del período de almacenamiento. Las antocianinas se encuentran en una amplia variedad de plantas, y son responsables en gran parte del color rojo de las fresas. En fresa encontramos 2 antocianinas que contribuyeron principalmente al color rojo pelargonidín-3-glucósido y cianidín-3-glucósido (Timberlake y Bridle, 1982). La capacidad antioxidante de las antocianinas puede ser una de sus propiedades biológicas más importantes (Wang y col., 1996). Por lo que la presencia de altos niveles de antocianinas es muy importante ya que proporciona el color característico al fruto y el cual es un parámetro importante en la aceptación del producto por parte del consumidor. Además, el alto contenido de antocianinas es importante debido a su posible actividad biológica como antioxidantes naturales y su papel en la salud humana.

La figura 9 muestra el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el contenido de fenoles totales en fresa. El contenido de fenoles totales incrementó

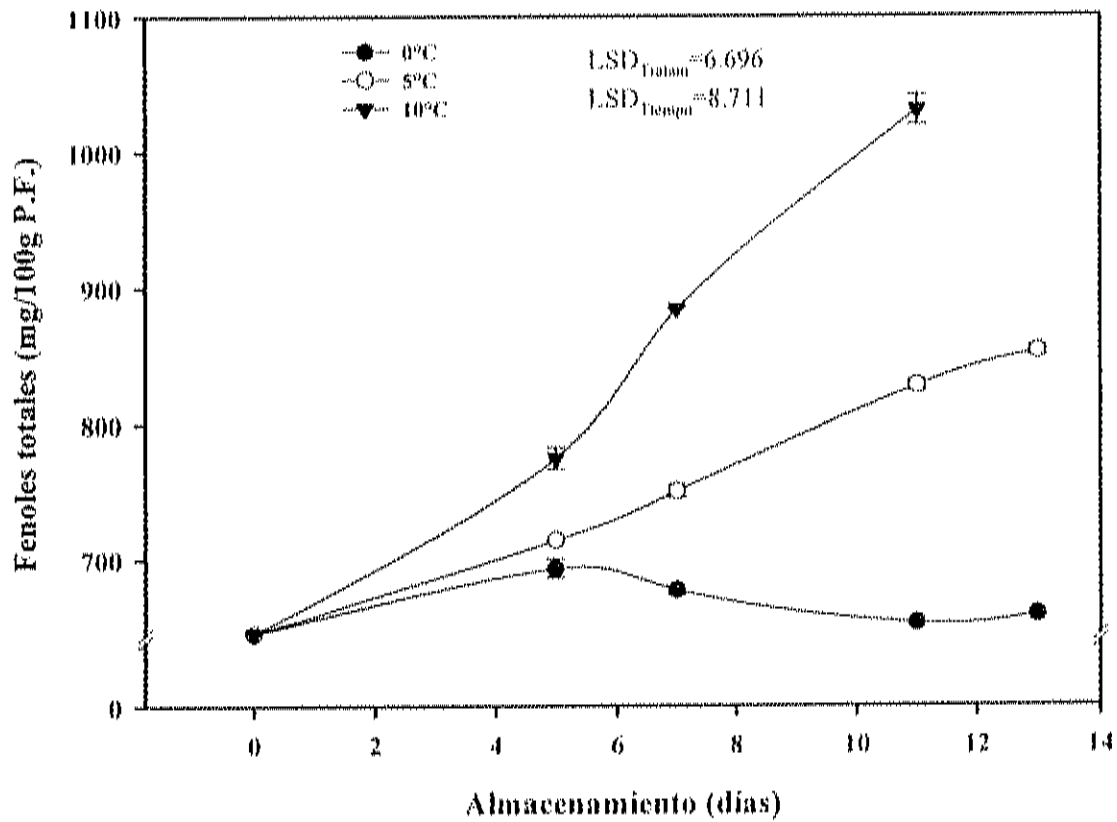


Figura 9. Cambios en el contenido de fenoles totales durante en fresa cv. Chandler almacenada a 0, 5 y 10°C durante 13 días.

continuamente hasta alcanzar niveles de 1050 y 840 mg/100 g P.F., en las fresas almacenadas a 10 y 5°C, respectivamente. Sin embargo, las fresas almacenadas a 0°C, mantuvieron sus niveles de fenoles totales (650 mg/100 g de P.F.) estables durante el período de almacenamiento. La temperatura de almacenamiento y el tiempo afectaron significativamente ($p < 0.05$) el contenido de fenoles totales en las fresas analizadas. Se ha visto que durante el proceso de maduración de la fresa ocurre la síntesis de compuestos fenólicos, los cuales pueden estar unidos a un amplio número de compuestos o ser intermediarios de diferentes rutas metabólicas y participar en diferentes reacciones que protejan al tejido contra diferentes desórdenes. Al ser los principales sustratos de la enzima polifenol oxidasa (PPO), estos pueden estar involucrados en los procesos de oscurecimiento. Es posible que al tener un alto contenido de fenoles totales en las temperaturas más altas, pueda influenciar alguna reacción de oxidación y el oscurecimiento del tejido vegetal. De la misma forma, se ha observado que algunos fenoles y flavonoides juegan un papel importante en la protección contra el ataque de diferentes microorganismos.

Capacidad antioxidante (ORAC)

En este estudio, se encontró que la temperatura de almacenamiento afectó significativamente la capacidad antioxidante de las fresas almacenadas (**Figura 10**). Los valores de ORAC se mantuvieron sin cambios apreciables en las fresas almacenadas a 0°C. Sin embargo, se observó un incremento significativo en las fresas almacenadas a 5 y 10°C. A mayor la temperatura de almacenamiento, mayor el incremento. Este aumento fue más notable en los frutos almacenados a 10°C. Los frutos almacenados a 5°C alcanzaron sus niveles más altos (16-17 $\mu\text{mol/g P.F.}$) al séptimo día de almacenamiento, sin observarse cambios notables después de este período. Una explicación para las

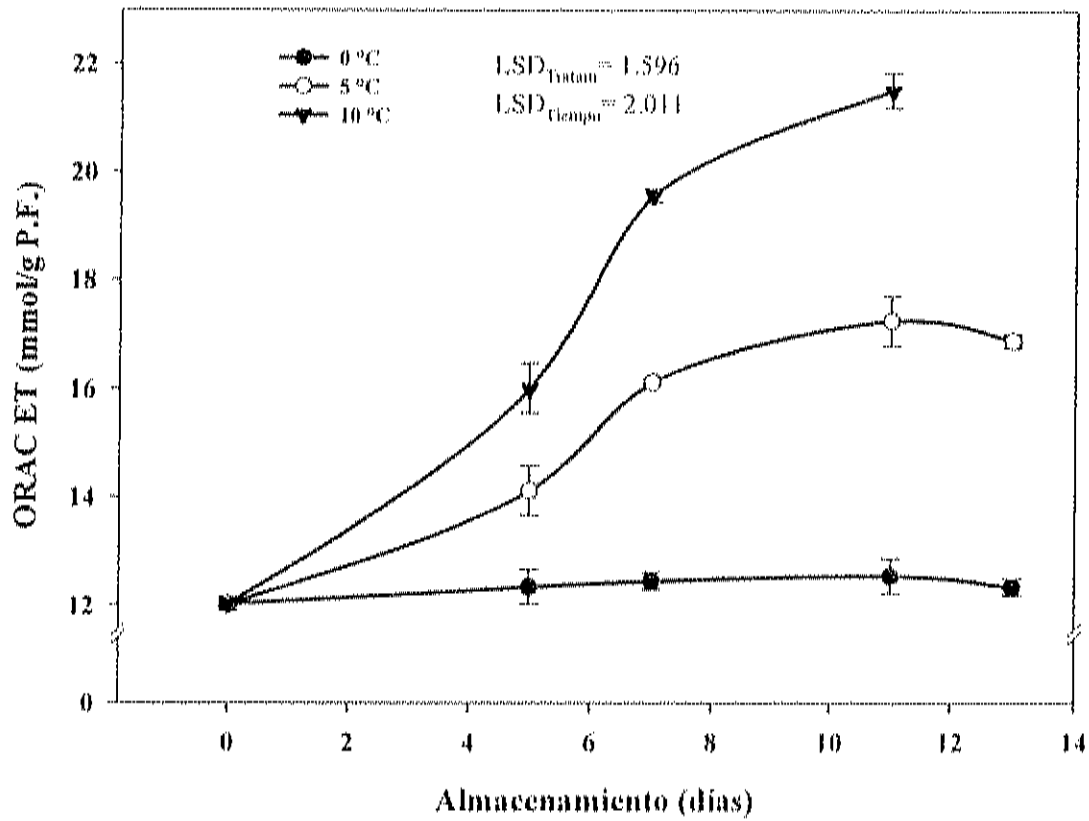


Figura 10. Cambios en la capacidad antioxidante de fresa cv. Chandler almacenada a 0, 5 y 10°C durante 13 días.

diferencias encontradas puede estar relacionada con las diferencias encontradas en el contenido de antocianinas y fenoles totales a estas temperaturas. La capacidad antioxidante podría ser utilizada como una buena medida de calidad del fruto.

Las fresas almacenadas a 10°C presentaron un incremento significativo en el contenido de antocianinas y fenoles totales (**Figuras 8 y 9**). Sin embargo, aun cuando la capacidad antioxidante haya sido mayor para las fresas almacenadas a 10°C, esta temperatura tan elevada no es la óptima para obtener la mejor calidad de la fresa (Galleta y Brighurts, 1990). Cabe mencionar que en los estudios realizados posteriormente, se pudo observar que con los diferentes tratamientos poscosecha, además de mantener la calidad del fruto, mantiene altos los niveles de antioxidantes y de su capacidad antioxidante.

Compuestos aromáticos

El aroma de las fresas fue claramente afectada por la temperatura y el tiempo de almacenamiento (**Figura 11**). Los compuestos individuales fueron afectados de forma diferente por las temperaturas de almacenamiento, de tal forma que las fresas almacenadas a 10 y 5°C emitieron niveles más altos de estos volátiles. El etil hexanoato y el etil acetato fueron los compuestos más afectados por la temperatura de almacenamiento. Sus niveles se incrementaron rápidamente durante los primeros 7 días de almacenamiento a 10°C, para luego disminuir. El metil acetato mostró un incremento en las tres temperaturas durante el período de almacenamiento y a mayor la temperatura de almacenamiento mayor el incremento observado. El metil metanoato se incrementó sólo en las fresas almacenadas a 10°C. El etil butanoato mostró un incremento a 5 y 10°C durante la última parte del período de almacenamiento. El metil hexanoato disminuyó después de 5 días de almacenamiento en las tres temperaturas utilizadas. El 3-hexenil acetato disminuyó en las tres temperaturas durante el período de almacenamiento.

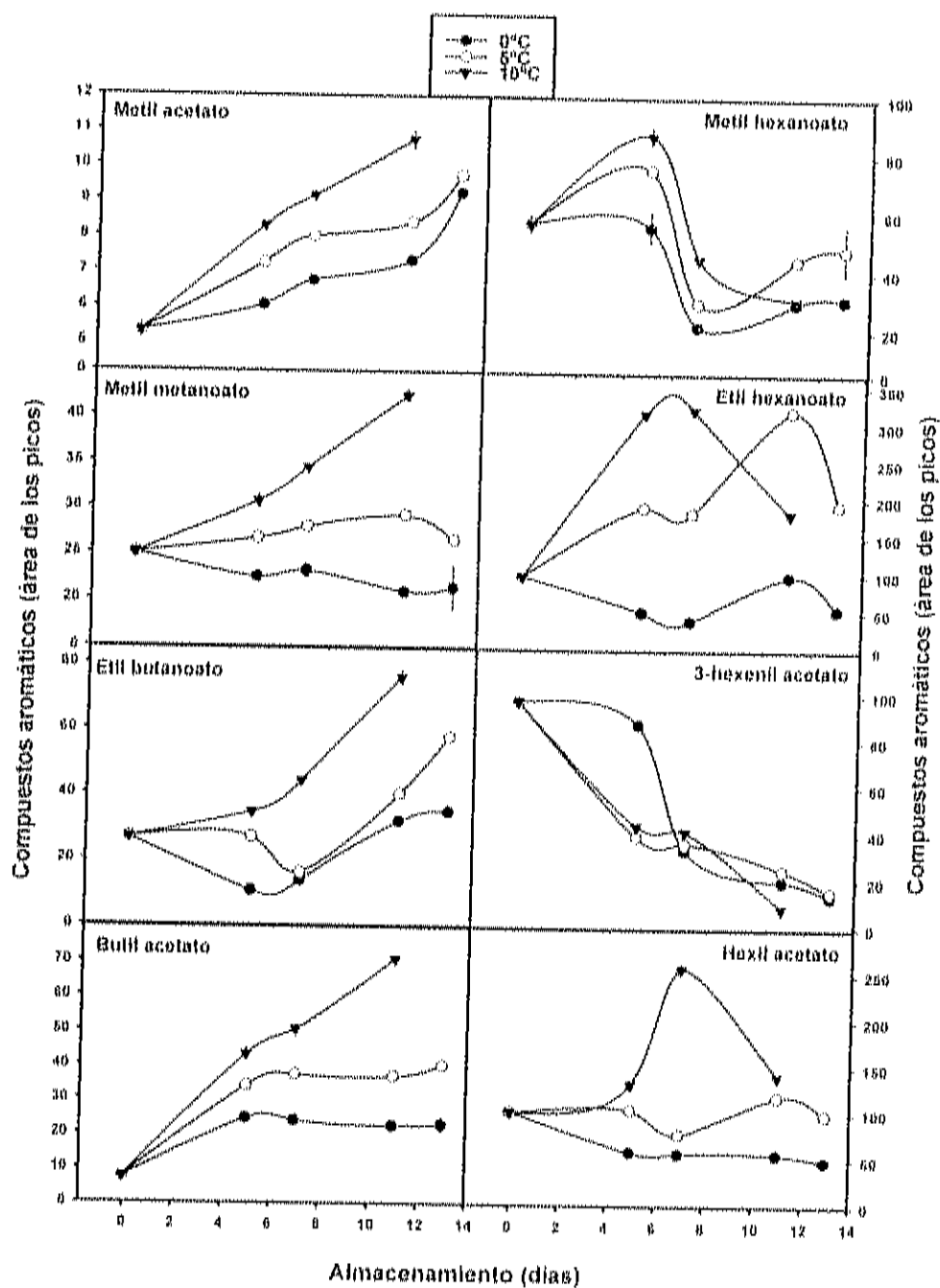


Figura 11. Cambios en los compuestos aromáticos de fresa cv. Chandler almacenada durante 13 días a 0, 5 y 10°C.

El aroma típico de las fresas no se forma por uno o pocos compuestos, sino por numerosos volátiles presentes a ciertas concentraciones y con un particular balance entre ellos. Por lo tanto, el aroma de fresa es el resultado de una percepción combinada de muchos constituyentes aromáticos (Pérez y col., 1993). Alrededor de 360 compuestos han sido identificados en el aroma de fresa (Latrasse, 1991; Zabetakis y Holden, 1997), muy pocos volátiles (principalmente metil y etil ésteres) parecen ser los más importantes contribuyentes al aroma (Sanz y col., 1997; Zabetakis y Holden, 1997). Los ésteres volátiles contribuyen al aumento del aroma durante el almacenamiento (Forney y col., 1998). Nuestro estudio revela que la temperatura de almacenamiento tiene un marcado efecto en la producción de compuestos aromáticos. La fresa parece producir altos niveles de la mayoría de los ésteres mencionados a altas temperaturas de almacenamiento. Además de la temperatura de almacenamiento, otros factores como la madurez, la atmósfera, y la luz pueden afectar la producción de compuestos aromáticos en fresa (Forney y col., 2000).

Pérez y Sanz (2001) detectaron los principales compuestos responsables del aroma de frutos de fresa cv. Camarosa utilizando el sistema de SPME. Los principales compuestos identificados fueron: metil acetato, etil acetato, etanol, metil butanoato, isobutil acetato, etil butanoato, etil 2-metilbutanoate, etil pentanoato, butil acetato, hexanal, isoamil acetato, amil acetato, metil hexanoato, E,2 hexenal, etil hexanoato, hexil acetato, 3-hexenil acetato, 2-hexenil acetato, octil acetato, linalool y mesifurane. Como se puede observar, es mayor el número de compuestos que los reportados en este trabajo, sin embargo, coinciden en el reporte de los compuestos representativos del aroma de fresa, además de las diferencias entre cultivares.

Conclusiones

Los datos presentados en este trabajo indican que la temperatura de almacenamiento afecta significativamente la capacidad antioxidante, las antocianinas, fenoles totales, compuestos aromáticos y la calidad general de fresa (cv. Chadler). La información obtenida en este estudio es nueva y detallada sobre el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante y el aroma de las fresas, lo cual sugiere que aún cuando la calidad se mantuvo mejor en las fresas almacenadas a 0°C, el almacenamiento a 10°C aumentó positivamente la capacidad antioxidante y la producción de compuestos aromáticos. Estos resultados ponen de manifiesto que a pesar de obtener una mayor capacidad antioxidante en los frutos a altas temperaturas, no necesariamente son los que mostraron tener la mejor calidad durante el almacenamiento. Por lo que es posible que otros componentes estén involucrados en el mantenimiento de la calidad de este producto.

CAPITULO IV
INCREMENTO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, COMPUESTOS
AROMÁTICOS Y LA VIDA POSTCOSECHA DE FRESA UTILIZANDO METIL
JASMONATO EN COMBINACIÓN CON ETANOL

Resumen

Se midió la capacidad antioxidante, las antocianinas y fenoles totales, los compuestos aromáticos y la vida postcosecha de fresa (*Fragaria ananassa* cv. Allstar) después de ser tratada con volátiles naturales y almacenadas a 7.5°C. Las fresas tratadas con metil jasmonato (MJ) y su combinación con etanol (MJ-ETOH) mostraron una mayor capacidad antioxidante, antocianinas y fenoles totales que aquellas fresas control o tratadas con etanol. Sin embargo, la combinación MJ-ETOH y etanol fueron los tratamientos que incrementaron la emisión de compuestos aromáticos durante el período de almacenamiento. Asimismo, la vida postcosecha basada en la calidad general fue mayor en las fresas tratadas con MJ-ETOH y MJ que aquellas tratadas con etanol o las fresas control. La producción de compuestos aromáticos fue afectada significativamente ($p < 0.05$) por el tiempo de almacenamiento y los tratamientos utilizados. El metil acetato, isonamil acetato, etil hexanoato, butil acetato y hexil acetato se incrementaron durante el almacenamiento. En general, las fresas tratadas con MJ y su combinación con etanol emitieron mayor cantidad de compuestos aromáticos que las fresas sin tratamiento. En conclusión, las fresas tratadas con MJ-ETOH mantuvieron la mejor calidad por el período de tiempo más largo; sin embargo, las fresas tratadas con MJ mostraron la mejor capacidad antioxidante durante el período de almacenamiento.

Resultados y Discusión

Deterioro fúngico y calidad visual

La figura 12a muestra el efecto de la aplicación de compuestos volátiles sobre la calidad general de fresa. La calidad disminuyó paulatinamente con el tiempo de almacenamiento, siendo más notable en las fresas control que para aquellas tratadas con etanol, MJ, y MJ-ETOH, respectivamente. La combinación de MJ-ETOH fue el tratamiento más efectivo en mantener el índice de calidad más elevado hasta los 11 días a 7.5°C. Las fresas tratadas con MJ mantuvieron una calidad aceptable hasta el día 9. Al parecer la combinación de etanol con MJ tiene un efecto aditivo e incrementa la capacidad de estos compuestos para prolongar el mantenimiento de una buena calidad del producto durante el período de almacenamiento. El límite de vida de anaquel se alcanzó a los 5, 7 y 9 días para los frutos control y tratados con etanol y MJ, respectivamente.

A partir del quinto día de almacenamiento el índice de deterioro fúngico se incrementó rápidamente en las fresas control (sin tratamiento) y aquellos tratados con etanol (Figura 12b). Mientras que las fresas tratadas con MJ mostraron una ligera infección fúngica hasta el día 7 de almacenamiento. La combinación MJ-ETOH fue muy efectiva en suprimir el deterioro fúngico de las fresas. Sin embargo, el etanol por sí solo no fue tan efectivo como su combinación con MJ. Aún así, el tratamiento con etanol mantuvo una calidad aceptable por 6 días de almacenamiento a 7.5°C. Se ha demostrado la eficacia del tratamiento con etanol en diferentes productos para inhibir el deterioro fúngico. Sin embargo en el presente estudio no arrojó los resultados esperados. Pero, al combinarse con MJ, se pudo observar una mayor eficacia en la reducción del deterioro. De la misma forma, se ha visto que el MJ por sí solo reduce el deterioro de en fresas (Moline y col., 1997).

Se han descrito algunos mecanismos de protección del MJ sobre los tejidos vegetales: inducción de la síntesis y la expresión de ciertas proteínas de defensa, como las proteínas de choque térmico y relacionadas con patogénesis, lo cual incrementa la

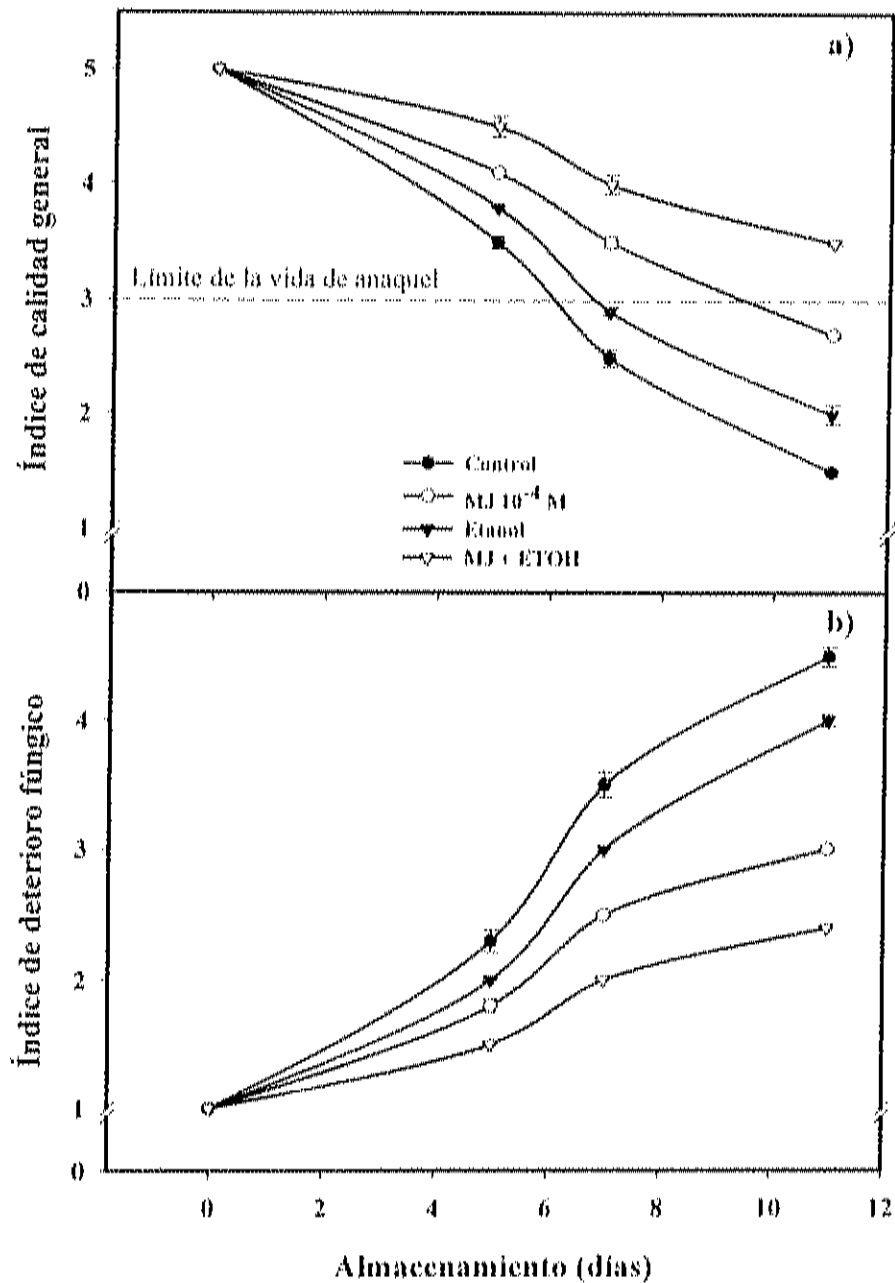


Figura 12. Efecto de la aplicación de volátiles sobre la calidad general (a) y el deterioro fúngico (b) de fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C. C1 ($p < 0.05$), C2 ($p < 0.05$), C3 ($p < 0.05$).

resistencia contra patógenos y disminuye la incidencia del deterioro y síntomas de daño por frío en tomate (Ding y col., 2001). Se ha reportado que el MJ reduce la incidencia de síntomas de daño por frío y en consecuencia el deterioro de guayaba, mango y papaya (González-Aguilar y col., 2001, 2003, 2004). Se ha visto que el posible modo de acción del MJ esta asociada en el aumento en los niveles de poliaminas y ácido abscísico, así como de la actividad de la enzima PAL y lipoxigenasa.

Ciertos estudios muestran que el etanol puede eliminar ciertas plagas como *Tetranychus urticae* Koch (Dentener y col., 1998), *E. postvittana* (Dentener y col., 2000) y *Cydia pomonella* (Rohitha y col., 1993; Tebbets y col., 1993). Estos estudios usaron la combinación de inmersiones en etanol con la exposición a altas temperaturas o vapores de etanol a temperatura ambiente. Buta y Moline (1998) mostraron que el MJ prolonga la vida de anaquel y reduce la contaminación microbiana en pimientos y apio cortados. Otros estudios muestran que la aplicación *in-vitro* de MJ inhibe el crecimiento microbiano (I. Babic, Horticultural Crops Quality Laboratory, USDA-ARS, Beltsville, MD, 1997, personal communication).

La aplicación de MJ previo almacenamiento a bajas temperaturas reduce la incidencia de daño por frío y el deterioro en frutos de toronja, pimientos y aguacates (Mier y col., 1996). Se ha encontrado que también disminuye el deterioro en chile pimientos cortados (Buta y Moline, 1998) y toronja (Droby y col., 1999). De la misma forma, reduce el desarrollo de *Botrytis cinerea* en fresa y de *Penicillium digitatum* en toronja (Moline y col., 1997; Mier y col., 1996). El tratamiento con MJ disminuye la pérdida iónica y por consecuencia protege contra posibles daños en la membrana celular, manteniendo la compartimentalización de la misma, en frutos mango almacenados a 7°C (González-Aguilar y col., 2000).

En estudios previos se incubaron ciertos tipos de bacterias, incluyendo *Listeria monocytogenes*, fueron cultivadas en presencia de MJ, ácido 1-octanoico y 2-hexanal a 37°C. El MJ así como los otros 2 compuestos, inhibieron el crecimiento bacteriano a concentraciones relativamente altas de 1×10^{-3} M. El ácido jasmonico y sus derivados como el MJ, se conocen como moléculas de señalamiento que estimulan la expresión de

genes defensa inducidos por heridas en el tejido, así como en otros procesos durante el desarrollo de los tejidos vegetales (Dang y col., 1993). La disminución del deterioro fúngico observada en la fresa tratada con MJ y MJ-ETOH sugiere que los mecanismos de defensa del tejido del ruto fueron activados por las bajas concentraciones de jasmonato y etanol aplicadas prolongando la vida postcosecha del fruto. La aplicación de estos tratamientos puede ser una forma práctica de incrementar la inocuidad de frutas y hortalizas, potenciando la resistencia al deterioro microbiano.

Sólidos solubles totales, acidez titulable y pH

El tratamiento con vapores de etanol incrementaron el contenido de SST en las fresas almacenadas a 7.5°C (**Figura 13a**). Sin embargo, los tratamientos MJ-ETOH y MJ mantuvieron el contenido inicial durante el período de almacenamiento. Las fresas control disminuyeron el contenido de SST comparadas con las fresas tratadas. La disminución de SST en las fresas control puede ser explicada por la alta tasa respiratoria (datos no mostrados). Comparativamente, las bajas tasas de respiración de las fresas tratadas con etanol o la combinación de MJ-ETOH pudieron haber ayudado a conservar los carbohidratos en el tejido.

Los azúcares, ácidos orgánicos y volátiles presentes en fresa son un importante parámetro de calidad tanto para el consumidor como para la industria. Los azúcares en mayor proporción en fresa son glucosa, fructosa y sacarosa. La relación entre estos compuestos determinan las propiedades sensoriales como el sabor y el color de la fresa y se sabe que altos niveles se ven drásticamente afectados por la etapa madurez y variedad del fruto (Browne y col, 1984). Se ha observado que el tratamiento de etanol en tomates almacenados a 5°C durante 14 días aumento el contenido de sólidos solubles totales mejorando su calidad sensorial (Yanuriati y col., 1999).

González-Aguilar y col. (2001) observaron que los valores más bajos de SST fueron encontrados en frutos control de mango, en comparación con los

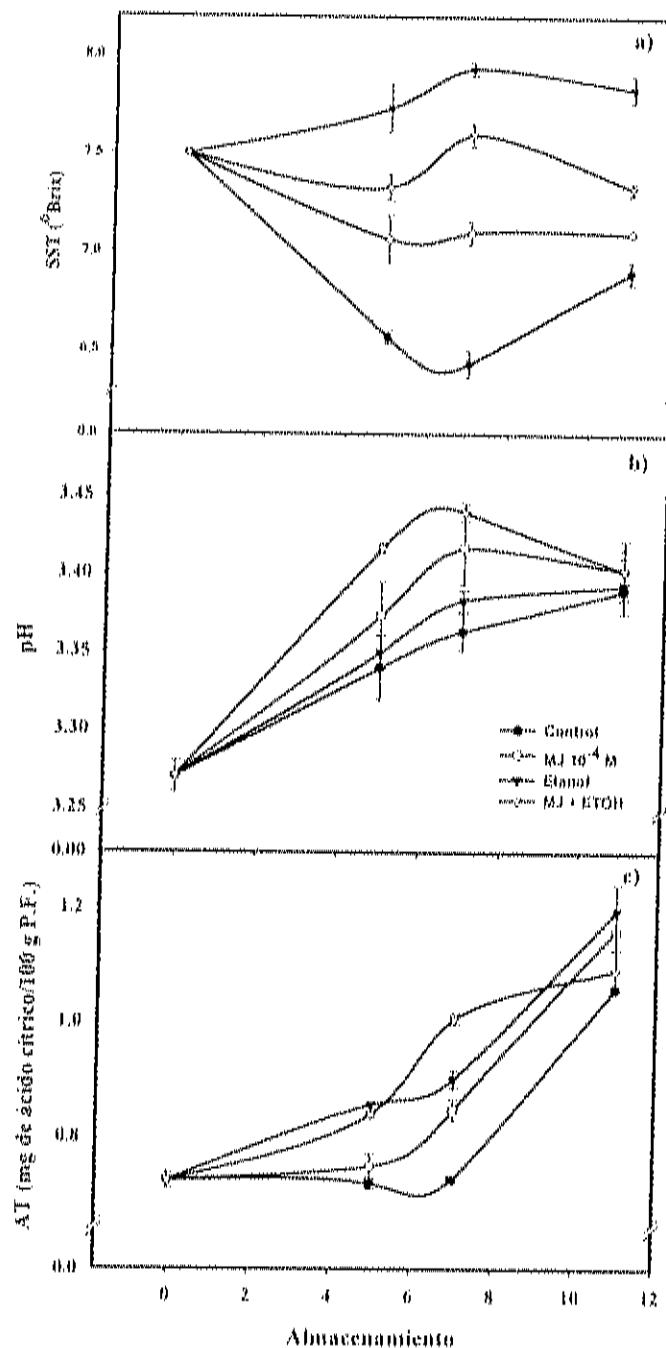


Figura 13. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el contenido de SST (a), pH (b) y acidez titulable (c) en fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C. C1_{SST} ($p < 0.05$), C2_{SST} ($p < 0.05$), C3_{SST} ($p < 0.05$); C1_{pH} ($p < 0.05$), C2_{pH} ($p > 0.05$), C3_{pH} ($p > 0.05$); C1_{AT} ($p < 0.05$), C2_{AT} ($p < 0.05$), C3_{AT} ($p < 0.05$).

frutos tratados con MJ. La aplicación de MJ en frutos tropicales se justifica por la reducción de los síntomas de daño por frío, y uno de los síntomas por frío es la alteración del proceso de maduración normal. Por lo que, el MJ al reducir el daño por frío en mangos expuestos a temperaturas por debajo de las óptimas permitió la maduración normal de los frutos y el aumento normal del contenido de SST.

Las figuras 13b y c muestran el efecto de la aplicación de compuestos volátiles sobre el pH y la acidez titulable después de 11 días. El pH se incrementó durante el período de almacenamiento, sin embargo, las fresas tratadas con MJ-ETOH y MJ incrementaron sus niveles de pH en mayor grado después del día 7 para mostrar un ligero decremento hasta el final del período de almacenamiento. Las fresas control y las tratadas con etanol mostraron los valores de pH más bajos durante 13 días a 7.5°C. Estas fresas mostraron mayores índices de deterioro fúngico durante el período de almacenamiento, lo cual puede ser relacionado con valores bajos de pH. La acidez titulable fue mayor para las fresas tratadas con etanol y MJ-ETOH, por otro lado, las fresas control mostraron los valores más bajos de AT, sin embargo, al final del período de almacenamiento no se observaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre los tratamientos.

Color

No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en la luminosidad (L^*) de la piel de las fresas (Cuadro 6). Sin embargo, se observaron diferencias significativas ($p<0.05$) en la intensidad (C^*) y el matiz (H^*) del color de las fresas. Las fresas tratadas con MJ y MJ-ETOH mostraron la mayor intensidad del color comparadas con las fresas de los otros tratamientos. Se ha reportado que el tratamiento con MJ puede afectar el color del fruto dependiendo de la variedad y grado de madurez. En frutos de mango tratados con MJ, se observó un aumento significativo en el color característico de los frutos maduros, observándose una mayor acumulación de carotenos en la piel del fruto (González-Aguilar y col., 2001).

Cuadro 6. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el color de fresa cv. Chandler almacenada durante 11 días a 7.5°C.

Tratamiento	Color		
	<i>L</i> ^a	<i>C</i> ^a	<i>H</i> ^o
Control	38.92a ^b	38.68b	33.57a
MJ x 10 ⁻⁴ M	38.67a	40.07a	32.69ab
Etanol	38.54a	38.67b	33.56a
MJ-ETOH	38.02a	40.48a	32.08b

^aLetras diferentes indican diferencias significativas entre columnas a $p=0.05$.

La aplicación de vapores de etanol disminuyó el cambio del color verde a rojo en tomates almacenados a 20°C. Los vapores de etanol inhibieron el desarrollo de la coloración roja tanto en tomates almacenados a 5 como 20°C (Yanuriati y col., 1999). Esta reducción en el cambio de color verde, puede deberse a la reducción del metabolismo y de los procesos de maduración, así mismo a la inhibición de la actividad de la ACC oxidasa, responsable de la síntesis de etileno. Una vez inhibida la síntesis de etileno, el fruto no puede activar autocatalíticamente la síntesis de este compuesto y en consecuencia su acción, reduciéndose los procesos de maduración y de senescencia.

Contenido de antocianinas y fenoles totales

El contenido de antocianinas totales fue afectado significativamente ($p < 0.05$) por la aplicación de compuestos volátiles y el periodo de almacenamiento. Como se observa en la **figura 14a**, el contenido de antocianinas disminuyó continuamente para todos los tratamientos durante el periodo de almacenamiento. Siendo más severa la disminución de antocianinas en los frutos tratados con etanol de 21 a 13 mg/100 g P.F., después de 11 días a 7.5°C. La mayor reducción se observó en los frutos tratados con MJ manteniendo niveles al final del experimento de hasta 18 y 16.5 mg/100g P.F., respectivamente. Las fresas tratadas con MJ-ETOH mostraron los valores más altos al final del almacenamiento.

La **figura 14b** muestra el efecto de los compuestos volátiles sobre el contenido de fenoles totales en frutos de fresa. Los frutos control presentaron un ligero aumento pero no mostraron cambios apreciables durante el periodo de almacenamiento. Se observó una disminución en dicho contenido para las fresas tratadas con los volátiles hasta el día 5, sin embargo después del día 5 se observó una marcada disminución. Las fresas control mostraron los niveles más bajos de compuestos fenólicos durante el periodo de almacenamiento. Tanto tratamiento como tiempo de almacenamiento tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el contenido de fenoles totales en la fresa.

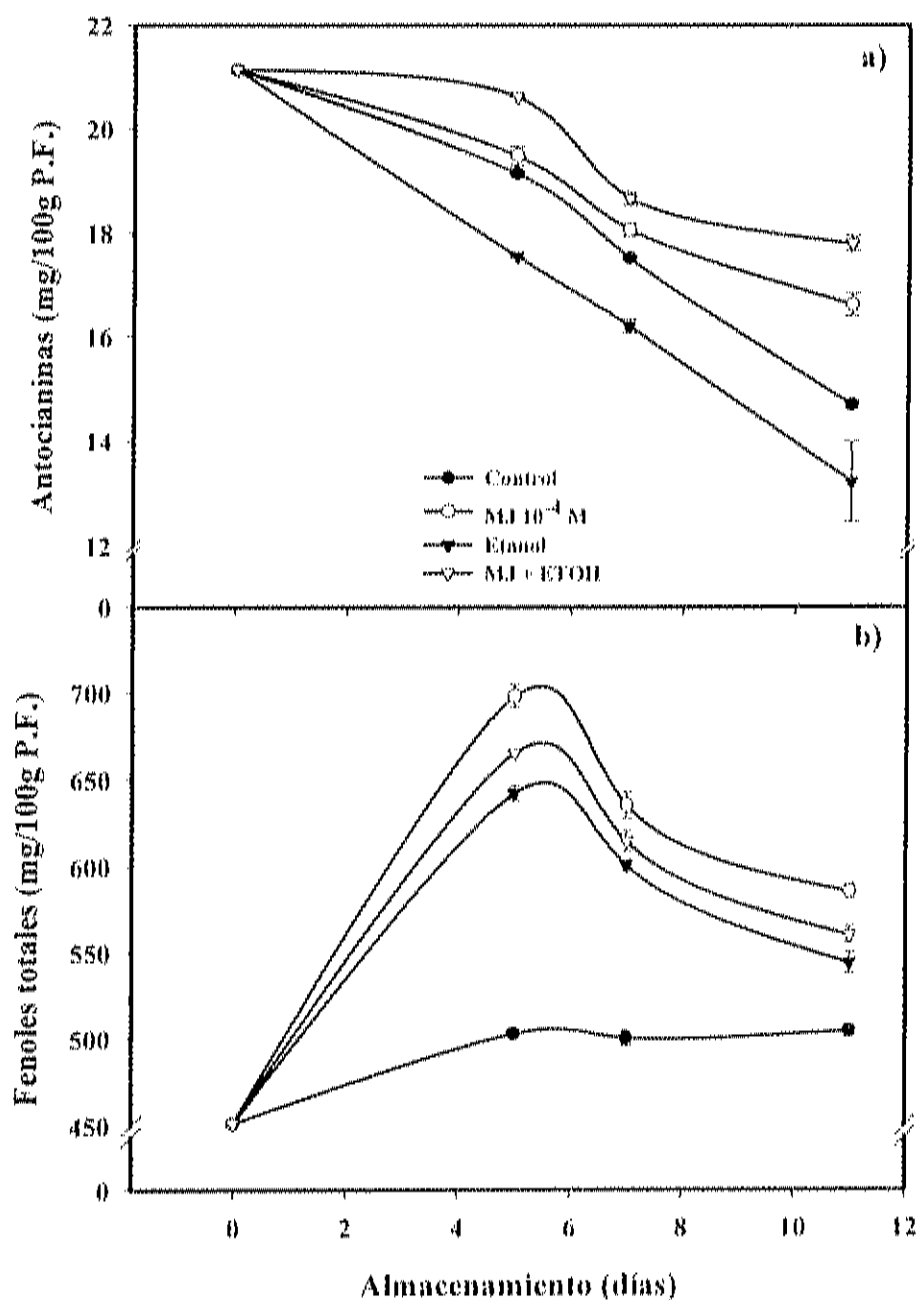


Figura 14. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el contenido de antocianinas (a) y fenoles totales (b) de fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7,5°C. C1_{Antocianinas} ($p < 0.05$), C2_{Antocianinas} ($p < 0.05$), C3_{Antocianinas} ($p < 0.05$); C1_{Fenoles} ($p < 0.05$), C2_{Fenoles} ($p < 0.05$), C3_{Fenoles} ($p < 0.05$).

La disminución en el contenido de fenoles después del cuarto día de almacenamiento a 7.5°C, puede deberse a que tales compuestos pudieron haber sido utilizados como sustrato o participar en otra serie de reacciones metabólicas asociadas a el proceso de maduración del fruto. Así como jugar un papel importante en la protección del tejido vegetal.

Capacidad antioxidante (ORAC)

Hasta el momento no existen reportes sobre el efecto del MJ y etanol sobre la capacidad antioxidante de los frutos de fresa. Este es el primer estudio donde se investiga el efecto de la aplicación de estos volátiles. Se puede observar que estos tratamientos afectaron significativamente ($p < 0.05$) la capacidad antioxidante de los frutos de fresa (**Figura 15**). Los valores de ORAC en las fresa control variaron muy poco durante el periodo de almacenamiento a 7.5°C. Es posible que el bajo contenido de antocianinas y fenoles haya influido en la disminución de los valores de ORAC. Ya que se observó una relación en la disminución de los valores de ORAC, antocianinas y fenoles, después del séptimo día de almacenamiento a 7.5°C. Sin embargo, se observó un incremento significativo en la capacidad antioxidante en las fresas tratadas con MJ, MJ-ETOH y etanol, respectivamente. El contenido de fenoles mostró el mismo patrón que la capacidad antioxidante, debido a la alta correlación entre la presencia de compuestos fenólicos y su capacidad para atrapar radicales libres.

Las fresas tratadas con MJ mostraron un incremento significativo en el contenido de fenoles totales (**Figura 13b**). Sin embargo, aun cuando la capacidad antioxidante fue mayor para las fresas tratadas con MJ, la combinación de MJ-ETOH prolongó en mayor grado la vida postcosecha que la aplicación de MJ por sí sola. Se ha reportado que el tratamiento de MJ pueda inducir la actividad de la enzima PAL, enzima clave en la biosíntesis de fenoles (González-Aguilar y col., 2004). Al parecer el aumento en el contenido de fenoles podría estar relacionado con la mayor capacidad antioxidante del fruto tratado con MJ. Por lo que se podría sugerir que la efectividad del tratamiento

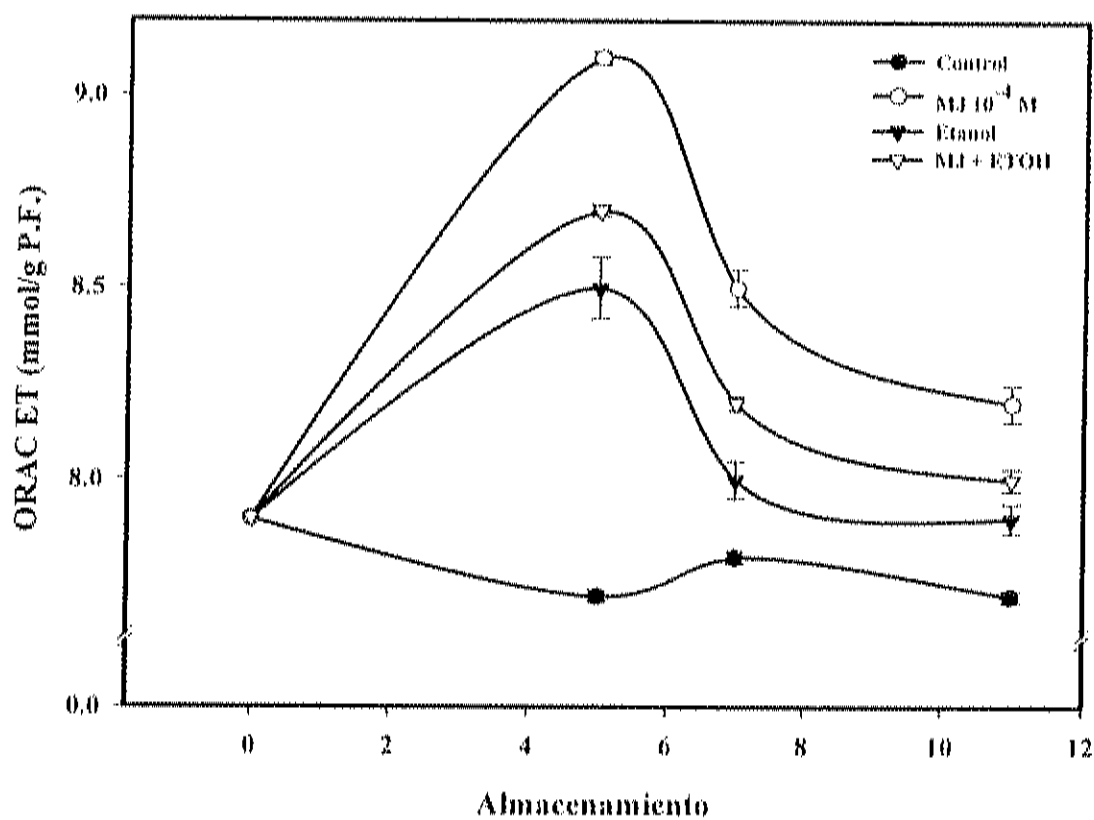


Figura 15. Efecto de la aplicación de volátiles sobre la capacidad antioxidante de fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C, C1 ($p < 0.05$), C2 ($p < 0.05$), C3 ($p < 0.05$).

de MJ-ETOH podría deberse más al efecto del MJ para incrementar el contenido de fenoles que al tratamiento con etanol.

González-Aguilar y col. (2004) observaron que la aplicación de MJ en frutos de guayaba no tuvo un efecto significativo en el contenido de fenoles totales. Sin embargo, estos resultados no concuerdan con estudios previos, donde la aplicación de MJ en manzanas indujo la acumulación de ácido clorogénico, uno de los principales compuestos fenólicos en frutos.

Compuestos aromáticos

Los tratamientos con MJ y etanol, solos o combinados, así como el tiempo de almacenamiento, afectaron significativamente los componentes aromáticos estudiados en los frutos de fresa (**Figura 16**). A pesar de que cada compuesto aromático de la fresa fue afectado de manera diferente por los tratamientos, las fresas tratadas con etanol y MJ-ETOH generalmente produjeron los niveles más altos de compuestos aromáticos. El etil hexanoato, metil acetato y butil acetato fueron los compuestos más afectados por los tratamientos antes mencionados. El metil acetato, butil acetato e isoamil acetato mostraron un incremento continuo en las fresas tratadas con etanol y MJ-ETOH durante el período de almacenamiento. El metil hexanoato y el hexil acetato mostraron los valores más altos para las fresas control. Detectándose un decremento continuo de metil hexanoato en todos los tratamientos. El 3-hexenil acetato mostró un incremento en las fresas tratadas con MJ-ETOH, MJ y etanol, respectivamente, durante la etapa final del almacenamiento. El presente trabajo muestra que la aplicación de volátiles naturales para la conservación de fresa afecta marcadamente la producción de los compuestos aromáticos del fruto. Las fresas tratadas con MJ-ETOH o etanol parecen ser las que emitieron los valores más altos de esteroides de a 7.5°C. La aplicación de MJ en frutos de guayaba aumento la actividad de la enzima lipoxigenasa (LOX) (González-Aguilar y col., 2004). Esta enzima esta relacionada con la síntesis de compuestos volátiles y es una posible explicación del aumento en el contenido de compuestos aromáticos observado los frutos tratados con MJ y MJ-ETOH.

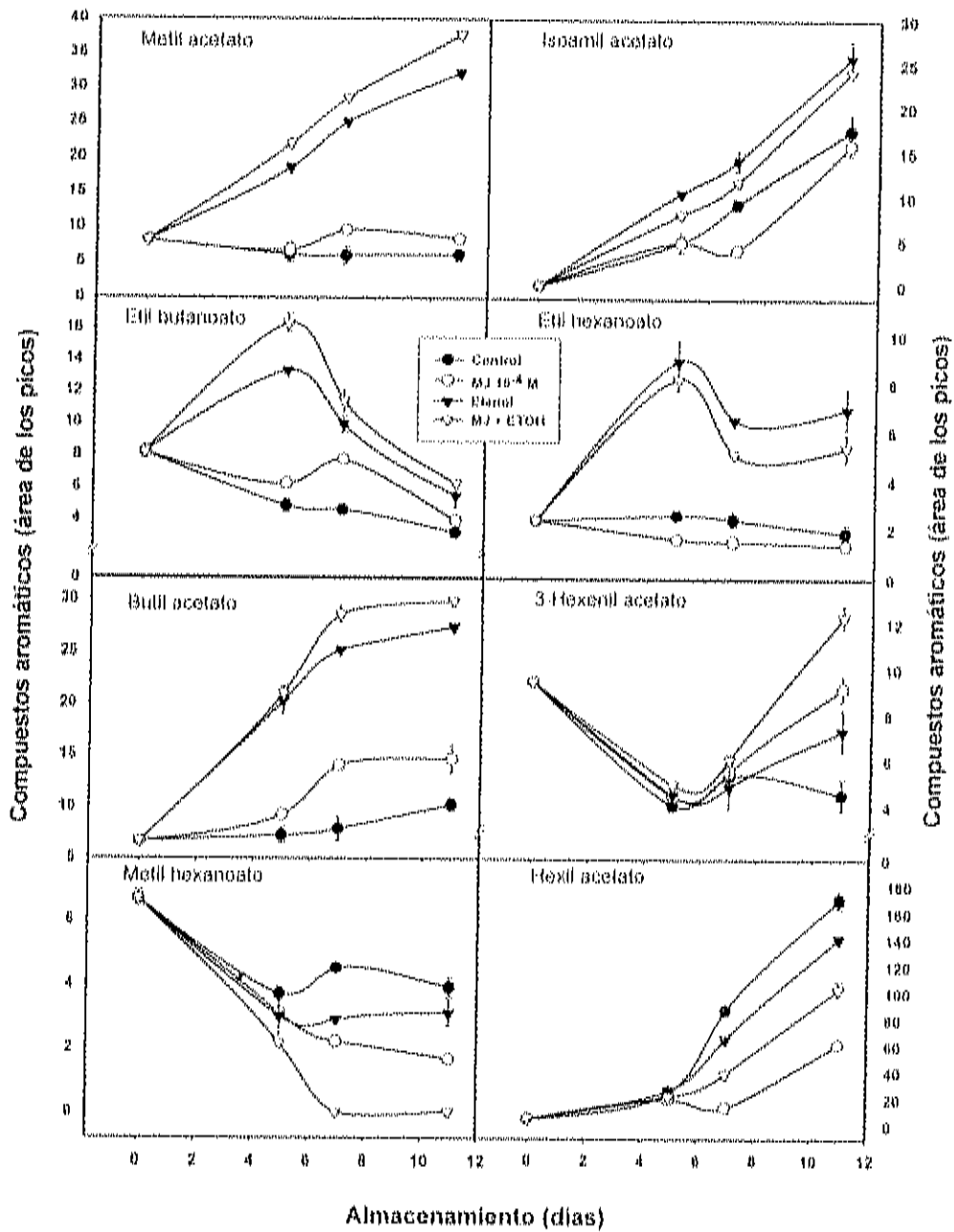


Figura 16. Efecto de la aplicación de volátiles sobre el aroma de fresa cv. Allstar almacenada durante 11 días a 7.5°C, C1 (p<0.05), C2 (p<0.05), C3 (p<0.05).

Conclusiones

Los datos presentados indican que la aplicación de volátiles naturales afectan significativamente ($p < 0.05$) la capacidad antioxidante, el contenido de antocianinas y fenoles totales, compuestos aromáticos y la calidad en general. La información presentada sobre el efecto del MJ y el MJ-ETOH sobre la capacidad antioxidante y el aroma sugiere que a pesar de que la calidad general se mantuvo mejor en aquellas fresas tratadas con MJ-ETOH, la aplicación de MJ mejoró en mayor grado la capacidad antioxidante de los frutos.

CAPITULO V
AUMENTO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE FRESA ALMACENADA
EN ATMÓSFERAS CON ALTAS CONCENTRACIONES DE OXÍGENO

Resumen

Se midió la capacidad antioxidante, antocianinas, fenoles totales, compuestos aromáticos y vida postcosecha de fresa (*Fragaria x ananassa* cv. Allstar) después de ser almacenadas en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno (20, 40, 60, 80 y 100%) durante 14 días a 5°C. Las fresas almacenadas en altas concentraciones de O₂ (>40%) mostraron una mayor capacidad antioxidante y fenoles totales que aquellas almacenadas en 20% de O₂. El aumento de la concentración de O₂ disminuyó la emisión de compuestos aromáticos. La vida postcosecha basada en la calidad general fue mayor para aquellas fresas almacenadas en altas concentraciones de O₂ que aquellas almacenadas en condiciones atmosféricas normales. La producción de compuestos aromáticos fue afectada marcadamente por el tiempo de almacenamiento y las atmósferas utilizadas. El metil acetato, etil butanoato y butil acetato se incrementaron durante el almacenamiento. En general, las fresas tratadas con altas concentraciones de O₂ (>40%) emitieron la menor cantidad de compuestos aromáticos que las fresas almacenadas en 20% de O₂. En conclusión, las fresas almacenadas en 100% de O₂ mantuvieron la mejor calidad por el período de tiempo más largo y presentaron la mejor capacidad antioxidante durante el período de almacenamiento.

Resultados

Apariencia general

Las **figuras 17 y 18** muestran el efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre la calidad de frutos de fresa (cv. Chandler) almacenadas a 5°C durante 14 días. Las altas concentraciones de oxígeno mostraron un efecto benéfico en la conservación de la calidad, a mayor concentración de oxígeno en las atmósferas, mayor el tiempo de conservación de la calidad. Siendo los frutos almacenados en concentraciones de 100% de O₂ los que mantuvieron una calidad aceptable después de 14 días a 5°C. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa ($p>0.05$) entre los frutos almacenados a 20 y 40% de O₂. Como se puede observar en la **figura 17** los frutos almacenados en concentraciones altas de O₂ (60-100%), mostraron menor deterioro fúngico y un color más brillante. Concentraciones de O₂ mayores a 21% pueden influenciar la fisiología postcosecha y mantener la calidad de productos hortícolas alterando la producción de CO₂ o C₂H₄ (Pérez y Sanz, 2001). Un incremento en la concentración de O₂ en la atmósfera externa e interna del producto resulta en altas concentraciones de radicales libres que pueden dañar el tejido (Fridovich, 1986). Sin embargo, la sensibilidad a la toxicidad del O₂ varía entre especies y etapas de desarrollo.

Biale y Young (1947) encontraron que los cambios en la coloración de limón de verde a amarillo fueron afectados marcadamente durante la exposición a altas concentraciones de O₂. Sin embargo, la exposición cercana a 100% de O₂ indujo un rápido rompimiento de la piel. Cerezas almacenadas a 18°C expuestas a 100% de oxígeno durante 10 días de almacenamiento presentaron un menor índice de maduración que las expuestas a condiciones atmosféricas de O₂.

Kidd y West (1934) mostraron que el almacenamiento de manzana en concentraciones de 100% de O₂ puede ser perjudicial para la calidad del fruto.



Figura 17. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre la calidad visual de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

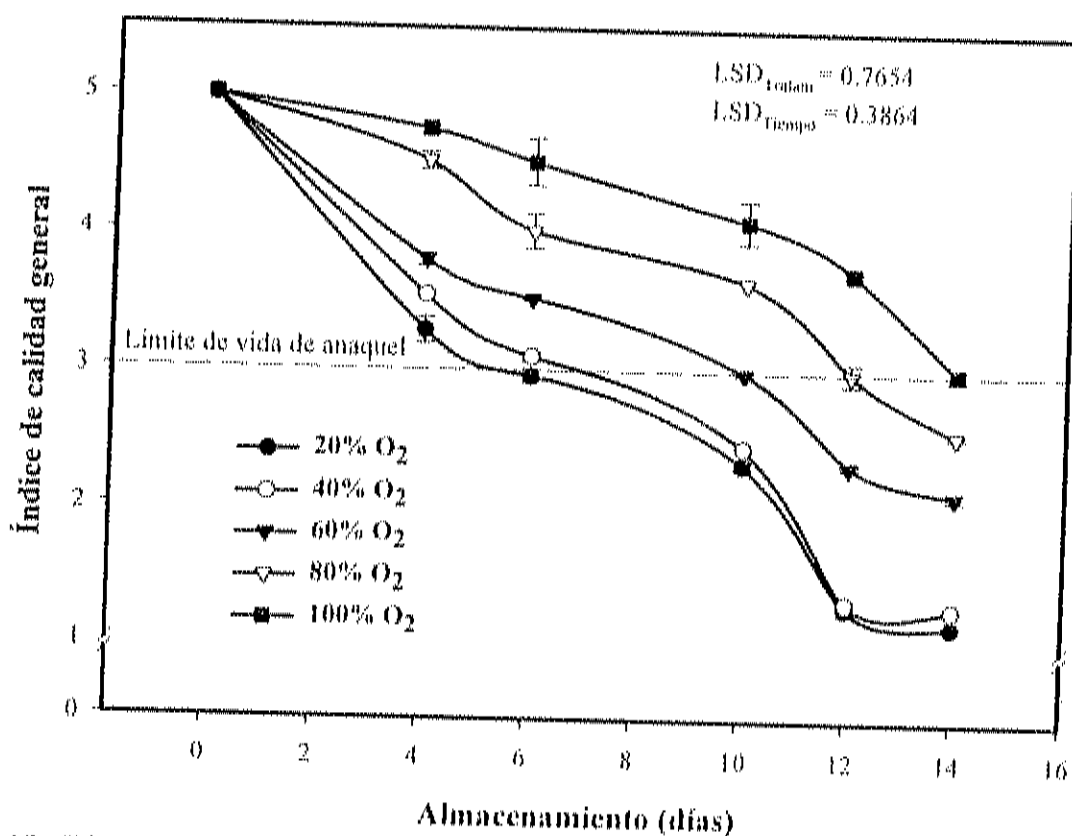


Figura 18. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el índice de calidad general de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

Los frutos de manzana Mostraron pulpa arenosa y oscurecimiento de la piel después de la exposición al alto oxígeno durante 4 meses a 4°C. Concentraciones altas de O₂ (>20%) aumentaron la producción de etileno en lechuga aumentando la incidencia de manchas rosas (Klaustermeyer y Morris, 1975). Tomates verdes-maduros expuestos a 80 o 100% de O₂ por más de 5 días exhibieron manchado en la piel, sin embargo, la severidad del manchado depende del tiempo de exposición a 20°C y del tipo de cera utilizada (Kader y Morris, 1975).

Altas concentraciones de O₂ han probado ser particularmente efectivas en la inhibición de la decoloración enzimática, prevenir las reacciones de fermentación anaeróbica e inhibir el crecimiento de microorganismos (Pérez y Sanz, 2001). Algunas respuestas de los frutos y hortalizas durante la exposición a altas concentraciones de oxígeno han sido revisadas por Kader y Ben-Yehoshua (2000).

Índice de deterioro

La vida de anaquel de la fresa está limitada principalmente por el deterioro causado por *Botrytis cinerea* que infecta por el área pedicular. El deterioro fúngico fue afectado significativamente por las altas concentraciones de O₂ durante el almacenamiento (**Figura 19**). Las fresas almacenadas en concentraciones atmosféricas de O₂ (20%) mostraron el mayor índice de deterioro fúngico durante el almacenamiento a 5°C, comparadas con las fresas almacenadas en altas concentraciones (>20-100%) que mostraron el menor índice de deterioro. A mayor la concentración de oxígeno, menor fue el índice de deterioro fúngico observado. Atmósferas con 100% fueron las más efectivas en suprimir el deterioro de las fresas que las otras atmósferas utilizadas. De la misma forma se observó en zarzamoras almacenadas en altas concentraciones de O₂, donde se inhibió el deterioro fúngico después de 35 días almacenamiento a 5°C (Wang, 2004).

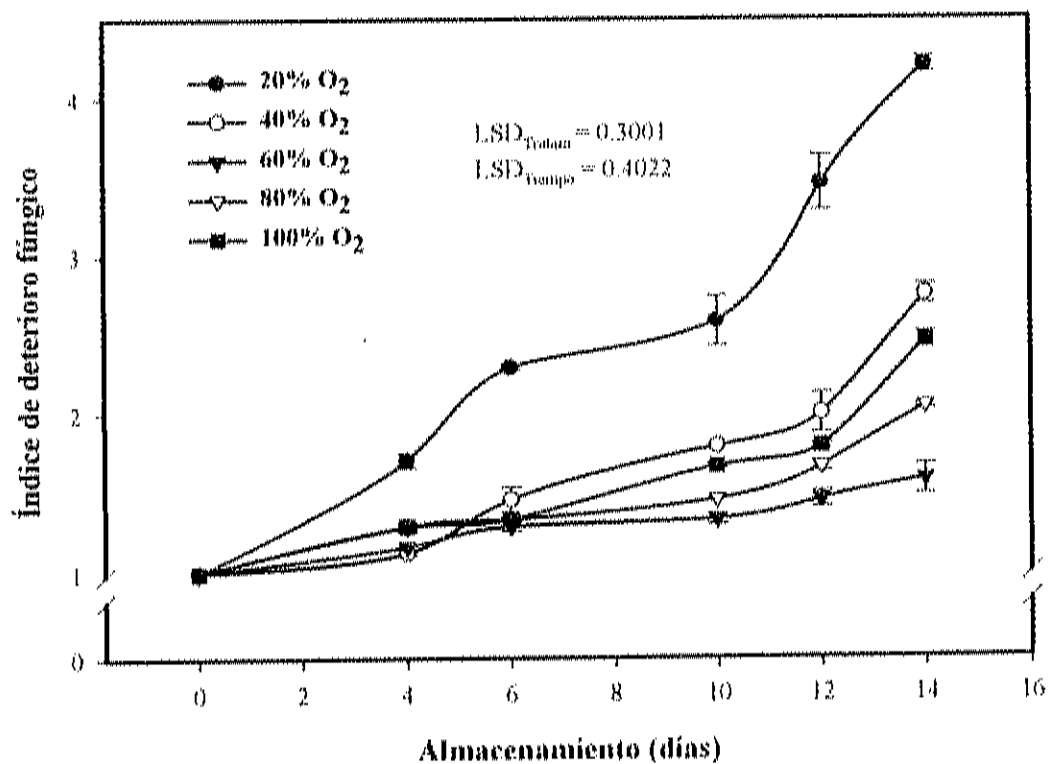


Figura 19. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el índice de deterioro fúngico de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

Altas concentraciones de O₂ solas o en combinación con CO₂ han mostrado ser efectivas en la inhibición del deterioro fúngico en otros estudios. Wszelaki y Mitcham (2000) estudiaron la disminución en el deterioro de fresa almacenada en 40, 90 y 100% de O₂ durante 14 días a 5°C, resultado muy parecido a los observados en el presente estudio. Pérez y Sanz (2001) encontraron que atmósferas con 80 y 100% de O₂, ambas concentraciones combinadas con 20% de CO₂ fueron más efectivos en controlar el deterioro fúngico de fresas, que las atmósferas convencionales a 8°C.

El mecanismo de acción de las altas concentraciones de O₂ propuesto para la inhibición del crecimiento de microorganismos puede ser explicado por los perfiles de crecimiento de microorganismos aerobios y anaerobios. De forma general, los organismos anaerobios crecen mejor a bajas concentraciones de O₂ y por lo tanto, son inhibidos bajo altas concentraciones de O₂. El crecimiento de microorganismos aerobios es óptimo en concentraciones atmosféricas de O₂, por lo que, el reducir o aumentar los niveles de O₂, pudiesen inhibir el crecimiento de microorganismos aerobios. Se ha propuesto que las especies reactivas de oxígeno dañan las macromoléculas necesarias para el desarrollo y reproducción de los microorganismos y por consiguiente, inhibir el crecimiento cuando el estrés oxidativo sobrepasa los sistemas celulares de protección antioxidante (González-Roncero y Day, 1998; Serafin, 1999).

pH, acidez titulable y SST

La **figura 20** muestra los cambios en pH y acidez titulable (AT) de fresa (cv. Chandler) almacenada en altas concentraciones de O₂ durante 14 días a 5°C. El pH mostró un incremento durante el tiempo de almacenamiento, siendo más pronunciado para las fresas almacenadas en altas concentraciones de O₂ (>40%), mientras que las fresas almacenadas en condiciones atmosféricas normales incrementaron en menor grado su pH. El aumento en el pH es un proceso normal en fresa durante su almacenamiento.

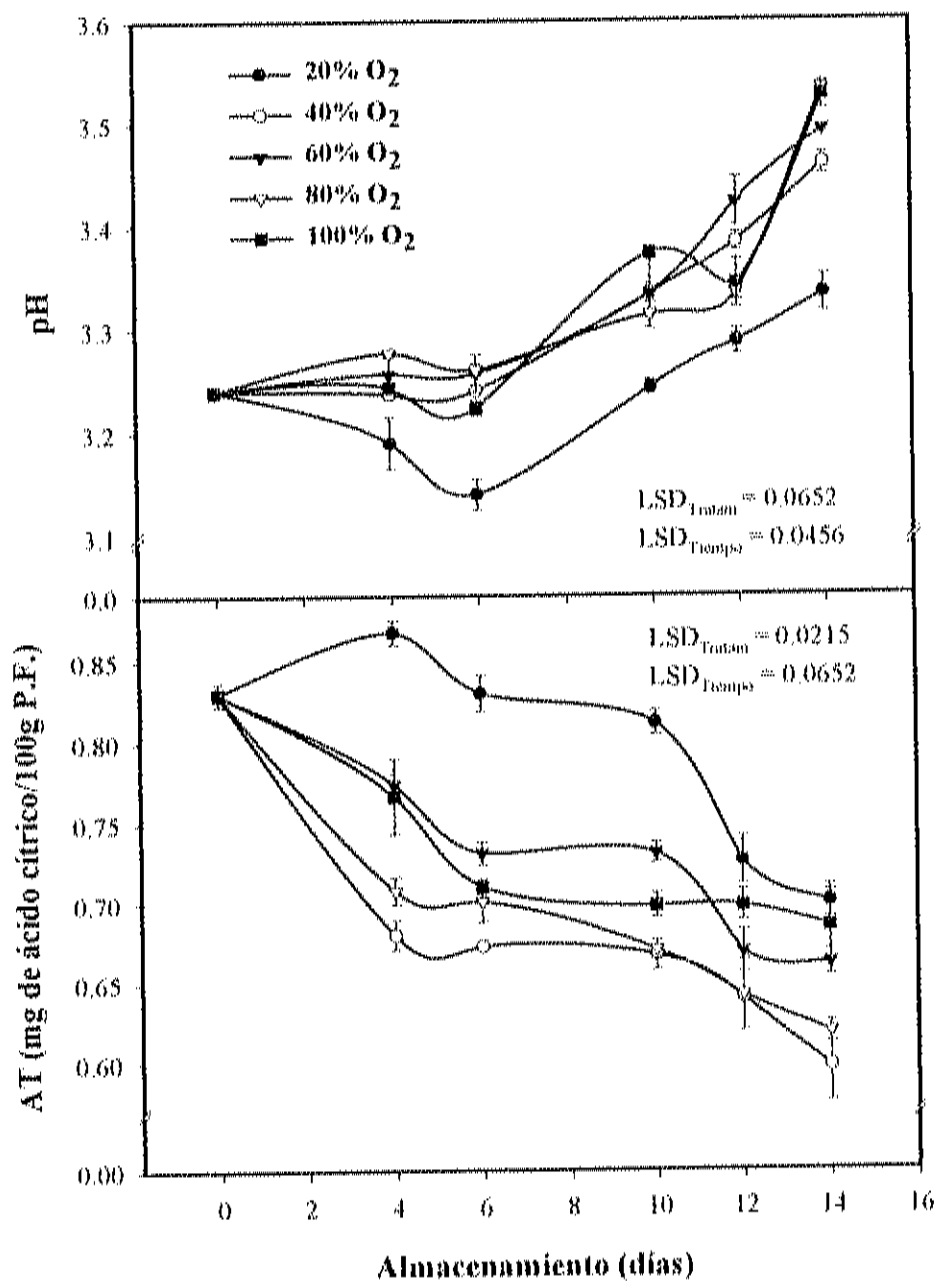


Figura 20. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el pH y acidez titulable de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

La disminución de la AT en fresa fue proporcional al aumento del pH, sin embargo, al final del almacenamiento (día 14) no se observaron diferencias significativas entre concentraciones atmosféricas normales de O₂ y altas concentraciones (80-100%). Sin embargo, Pérez y col. (2001) encontraron altos valores de AT antes del día 4 de almacenamiento y valores menores después del día 7 en fresas almacenadas en mezclas de oxígeno y CO₂ 90:10%, respectivamente, siendo mayor que las fresas almacenadas en condiciones atmosféricas normales durante 9 días de almacenamiento a 8°C.

La figura 21 muestra los cambios en el contenido de SST durante el almacenamiento. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de SST entre las atmósferas utilizadas y el tiempo de almacenamiento.

Los frutos almacenados en concentraciones de 20% de O₂ mostraron un aumento continuo en el contenido de SST hasta el día 12 para luego disminuir ligeramente. Por otra parte, los frutos almacenados en concentraciones mayores de O₂ disminuyeron el contenido de SST durante el período de almacenamiento. Pérez et al. (2001) encontraron un posible aumento de la tasa respiratoria de los frutos que podría causar la disminución en el contenido de SST en fresas almacenadas en altas concentraciones de O₂. Sin embargo, en otros frutos se ha observado que la exposición a altas concentraciones de O₂ puede aumentar, disminuir o no tener efecto sobre las tasas respiratorias, dependiendo del tipo de producto, el estado de madurez, concentración de O₂ utilizada, tiempo y temperatura de almacenamiento. Wszelaki y Mitcham (2000) también encontraron la relación entre altas tasas respiratorias y la disminución del contenido de SST en fresas expuestas a 90 y 100% de O₂ durante 14 días.

Los diferentes cambios observados en el pH, acidez titulable y el contenido de SST parecen estar asociado con el efecto del alto O₂ sobre la actividad respiratoria del fruto. Debido a que los azúcares y ácidos orgánicos son los principales sustratos energéticos del metabolismo celular vegetal, estos disminuyen durante la vida del producto.

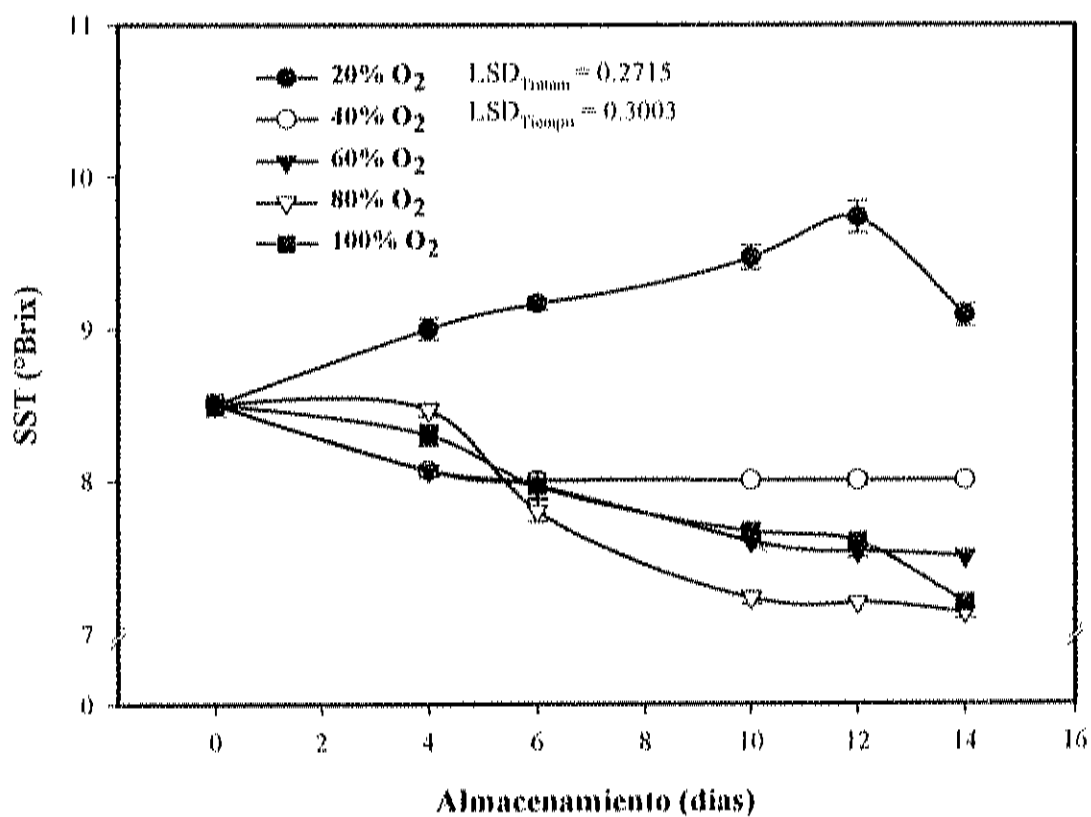


Figura 21. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el contenido de sólidos solubles totales de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

Color

El cuadro 7 muestra el efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de O₂ sobre el color de frutos de fresa. Como se puede observar los frutos almacenados en altas concentraciones de O₂ (40-80%) presentaron un color más intenso expresado por el parámetro C* y una mayor luminosidad (L*), comparados con los frutos almacenados en concentraciones del 20%. Por otra parte, se observó una disminución en la luminosidad de los frutos sin importar el tratamiento durante el período de almacenamiento (Figura 22). La cual es una característica normal en la poscosecha de los frutos de fresa. La luminosidad de zarzamoras almacenadas en altas concentraciones de O₂ disminuyó durante el período de almacenamiento (35 días) en altas concentraciones de O₂. Sin embargo no se encontraron diferencias entre los tratamientos (Zheng y col., 2003). Pérez y Sanz (2001) no encontraron un efecto significativo en el color de fresas almacenadas en altas concentraciones de O₂ a 8°C durante 9 días. Al no observarse efecto significativo ($p \geq 0.05$) de la concentración de oxígeno sobre la luminosidad del fruto, el efecto del tiempo de almacenamiento fue determinante en la disminución del parámetro L*.

Antocianinas y fenoles totales

El contenido de antocianinas fue afectado significativamente ($p < 0.05$) por la concentración de oxígeno y el tiempo de almacenamiento (Figura 23). Se puede observar una disminución en el contenido de antocianinas para todos los tratamientos durante el período de almacenamiento. Sin embargo, los frutos almacenados en altas concentraciones de O₂ disminuyeron en mayor grado su contenido de antocianinas comparados con los frutos almacenados en condiciones atmosféricas normales. Los frutos almacenados en 20% de O₂ mantuvieron por mayor tiempo el contenido de antocianinas para disminuir durante las etapas finales de almacenamiento. La aplicación de atmósferas con altas concentraciones de O₂ disminuyó el proceso de maduración de los frutos. La mayoría de los frutos cambian de color durante su maduración. Aunque este proceso es muy lento, generalmente se puede definir con exactitud durante el

Cuadro 7. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el color de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5 °C.

Tratamiento	L*	C*	°H
20%	31.51b ^a	29.55c	28.30abc
40%	32.01b	34.32a	26.84c
60%	32.29ab	34.17ab	27.92abc
80%	32.87a	33.18b	27.29abc
100%	32.85a	33.25ab	28.70a

^a Literales diferentes indican diferencias significativas entre columnas ($p < 0.05$)

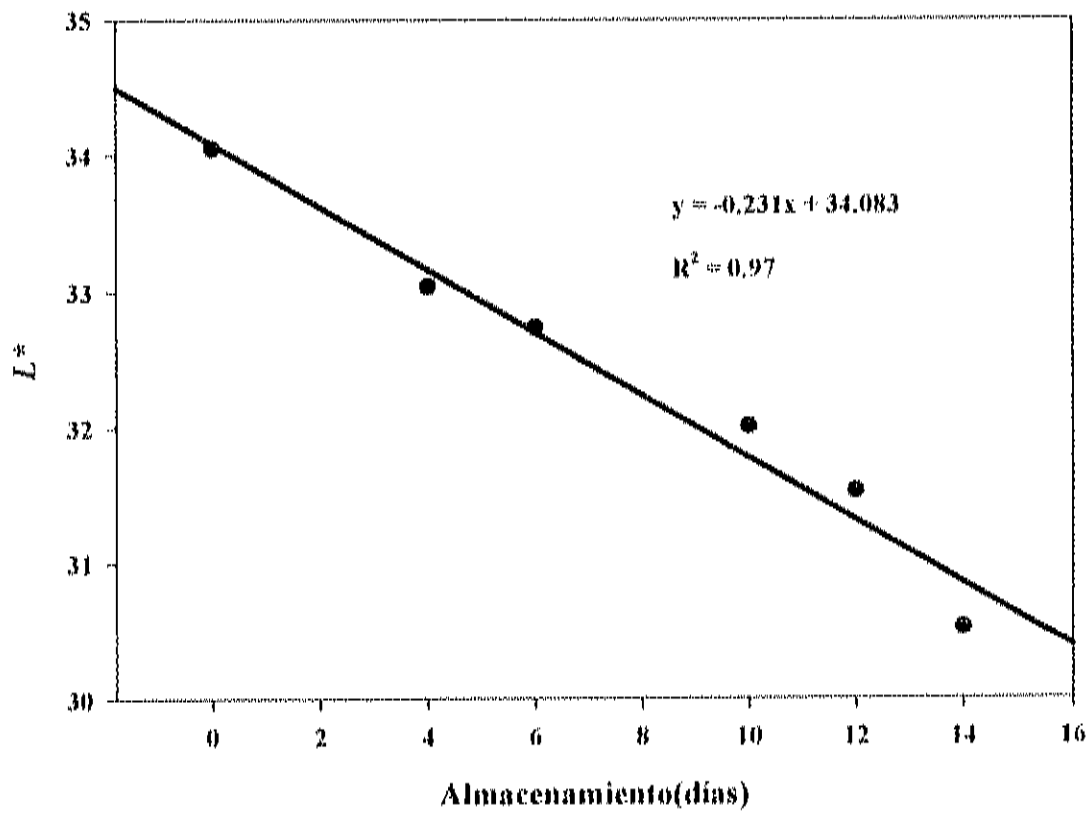


Figura 22. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la luminosidad de frutos de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C .

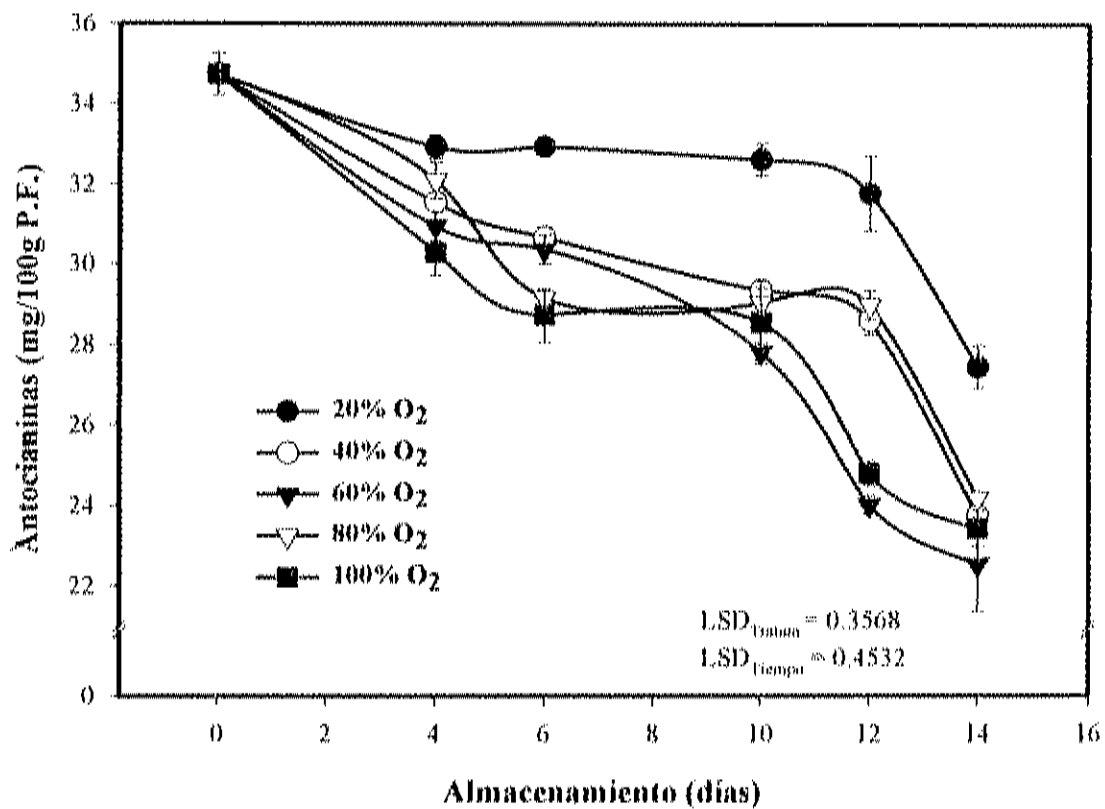


Figura 23. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el contenido de antocianinas en fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

desarrollo. Las antocianinas las cuales se localizan en las vacuolas celulares en su forma glicosilada, tienden a aumentar durante el proceso de maduración de fresa. Contrastando la aplicación de altas concentraciones de O₂ disminuye el metabolismo de los frutos y por lo tanto su maduración, lo que se ve reflejado en la inhibición de la síntesis de antocianinas, aun más en la disminución de estos pigmentos antioxidantes. Tal disminución se debe al uso de las antocianinas como compuestos antioxidantes contra el gran número de radicales libres provocados por la alta concentración de O₂ en la atmósfera y dentro del fruto.

La figura 24 muestra los cambios en el contenido de fenoles totales. Los cuales fueron afectados significativamente ($p < 0.05$) tanto por el tipo de atmósfera utilizada como por el tiempo de almacenamiento. El contenido de fenoles totales en los frutos almacenados en las concentraciones menores de oxígeno (20-40%) fue menor que los frutos almacenados en altas concentraciones. A mayor la concentración de oxígeno en la atmósfera de almacenamiento mayor el contenido de fenoles totales en los frutos. Se registro un incremento en el contenido de estos compuestos durante el período de almacenamiento para todos los tratamientos, presentando un ligero decremento al final del experimento.

La utilización de altas concentraciones de oxígeno en zarzamoras aumentó el contenido de antocianinas y fenoles totales (Zheng y col., 2003). Se ha observado que el fruto responde al estrés causado por las altas concentraciones de O₂ aumentando sus defensas, los principales compuestos de defensa en frutos son compuestos fenolicos. Por lo que el aumento en el contenido de fenoles totales puede ser una respuesta del fruto para inactivar a los radicales libres producidos por las altas concentraciones de O₂.

Capacidad antioxidante (ORAC)

La capacidad antioxidante mostró un comportamiento similar al del contenido de fenoles totales aumentando conforme aumentaba la concentración de O₂ en la atmósfera de almacenamiento (**Figura 25**). los frutos almacenados

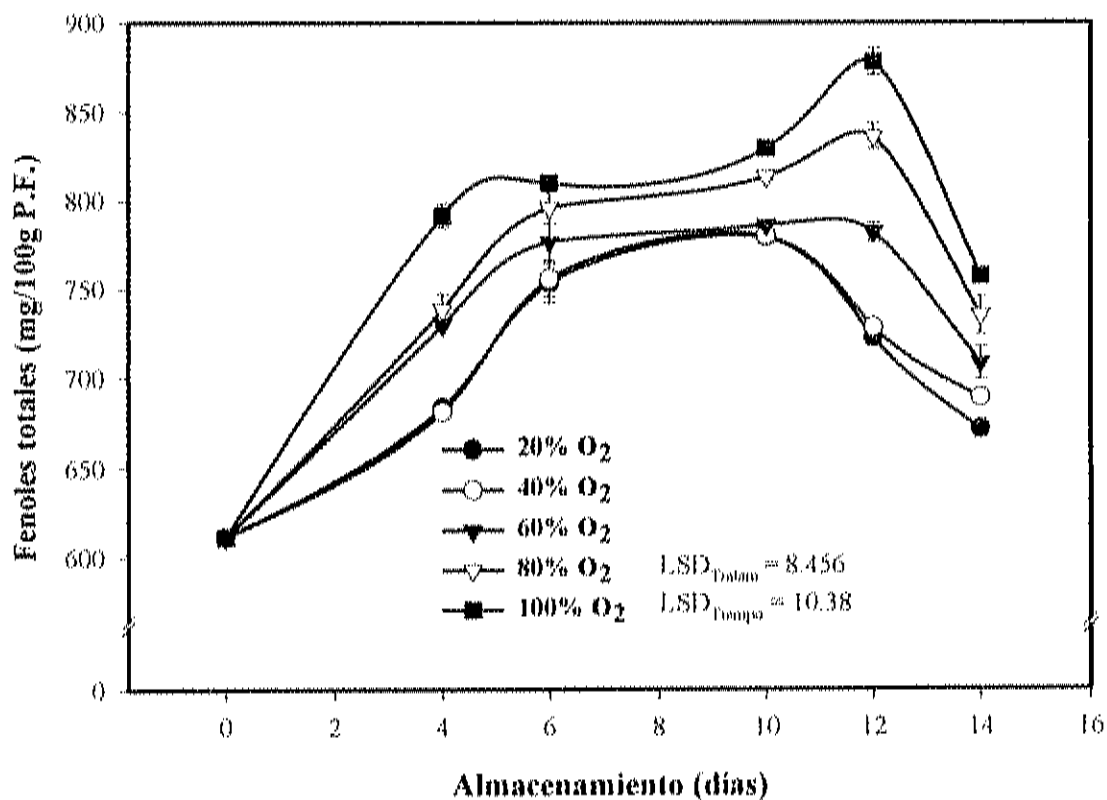


Figura 24. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el contenido de fenoles en fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

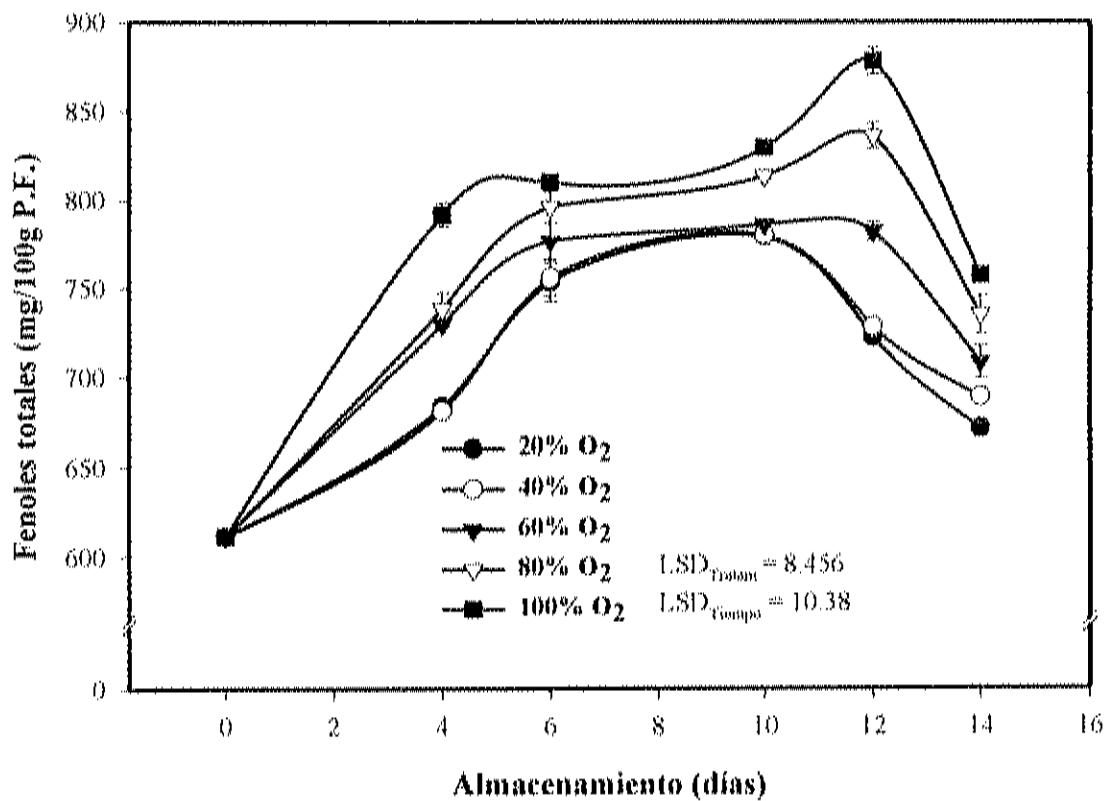


Figura 24. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el contenido de fenoles en fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

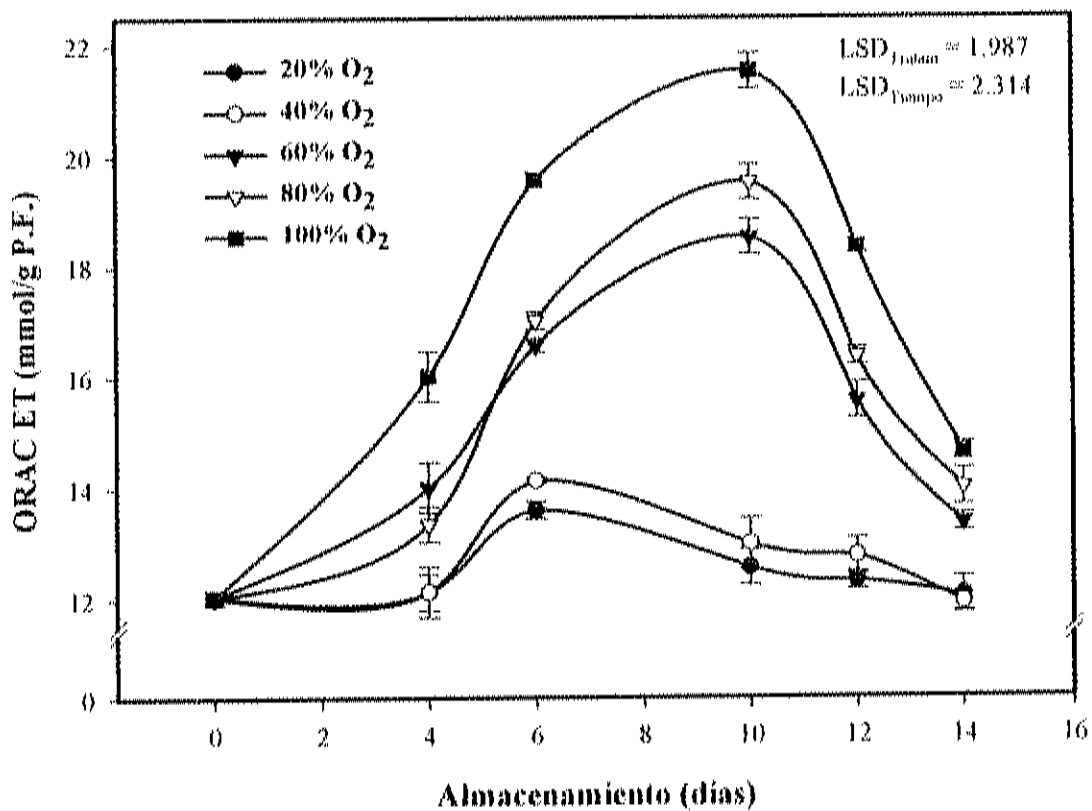


Figura 25. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre la capacidad antioxidante de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

en 100, 80 y 60% de O₂ tuvieron un comportamiento muy similar, sin embargo, en diferente orden de magnitud. Se observó un aumento paulatino hasta alcanzar los máximos valores después del décimo día a 5°C, de 21.5, 19 y 18.2 µmol/g P.F. en los frutos almacenados a 100, 80 y 60% de O₂, respectivamente. Los frutos almacenados en concentraciones de 100% de O₂ mostraron la mayor la capacidad antioxidante después de 14 días de almacenamiento a 5°C, aumentando de 12 hasta 21 µmol/g P.F. después de 9 días a 5°C. Sin embargo, no se observaron cambios muy notables en los frutos almacenados en 20 o 40% de O₂, solo una pequeña subida al quinto día de almacenamiento a 5°C. Al parecer el efecto de las altas concentraciones de oxígeno sobre las antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante puede variar dependiendo el producto, concentración de oxígeno usada, tiempo y temperatura de almacenamiento. Estos resultados sugieren que el almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno >40% mejoran la capacidad antioxidante de los frutos de fresa y por tanto los efectos benéficos que el consumo de estos frutos puede acarrear a la salud del consumidor.

Estudios previos informan una relación lineal entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de ciertas bayas (Prior y col., 1998; Zheng y col., 2003). En general, el coeficiente de correlación para compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante es mayor que aquel entre el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante (Prior y col., 1998; Zheng y col., 2003). Se ha demostrado que los compuestos fenólicos son fuertes antioxidantes (Rice-Evans y col., 1995; Rice-Evans y col., 1996; Wang y col., 1997). El incremento en la capacidad antioxidante de los frutos de fresa expuestos a altas concentraciones de oxígeno puede ser atribuido al incremento presentado en el contenido de fenoles totales.

Compuestos aromáticos

Altas concentraciones de oxígeno afectan la síntesis y acumulación de compuestos volátiles asociados con el metabolismo respiratorio, incluyendo metabolitos de la respiración anaeróbica tales como acetaldehído y etanol (Solomos y col., 1997;

Whitaker y col., 1998). Los volátiles constituyentes del aroma de los frutos de fresa Chandler fueron afectados significativamente ($p < 0.05$) por la aplicación del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno (**Figura 26**). A mayor la concentración de O_2 menor la cantidad de compuestos aromáticos emitidos. Sin embargo, el efecto del alto oxígeno fue tuvo un efecto diferente sobre los compuestos aromáticos analizados. En la **figura 27** se muestra el efecto de altas concentraciones de oxígeno sobre el perfil aromático de frutos de fresa almacenados a $5^\circ C$ durante 14 días. El aroma de los frutos de fresa no solo es afectado por la acumulación de acetaldehído y etanol, sino también por una reducción o alteración de la biosíntesis de los compuestos volátiles representativos del aroma de los frutos.

El metil acetato, metil metanoato, etil butanoato, butil acetato, metil hexanoato, etil hexanoato y hexil acetato fueron los compuestos más afectados por las altas concentraciones de oxígeno. El metil metanoato, etil butanoato, butil acetato y etil hexanoato mostraron un incremento continuo en las fresas almacenados en concentraciones de 20% de O_2 durante el período de almacenamiento. El metil acetato mostró los valores más altos para las fresas almacenadas en atmósferas con altas concentraciones de O_2 (>60%). Detectándose un decremento continuo de 3-hexenil acetato en todos los tratamientos. El presente trabajo muestra que el almacenamiento en altas concentraciones de O_2 para la conservación de fresa afecta marcadamente la producción de los compuestos aromáticos del fruto. La emisión de volátiles es un comportamiento normal del proceso de maduración del fruto, el cual se ve disminuido con la aplicación de altas concentraciones de O_2 , disminuyendo maduración y por lo tanto la emisión de volátiles.

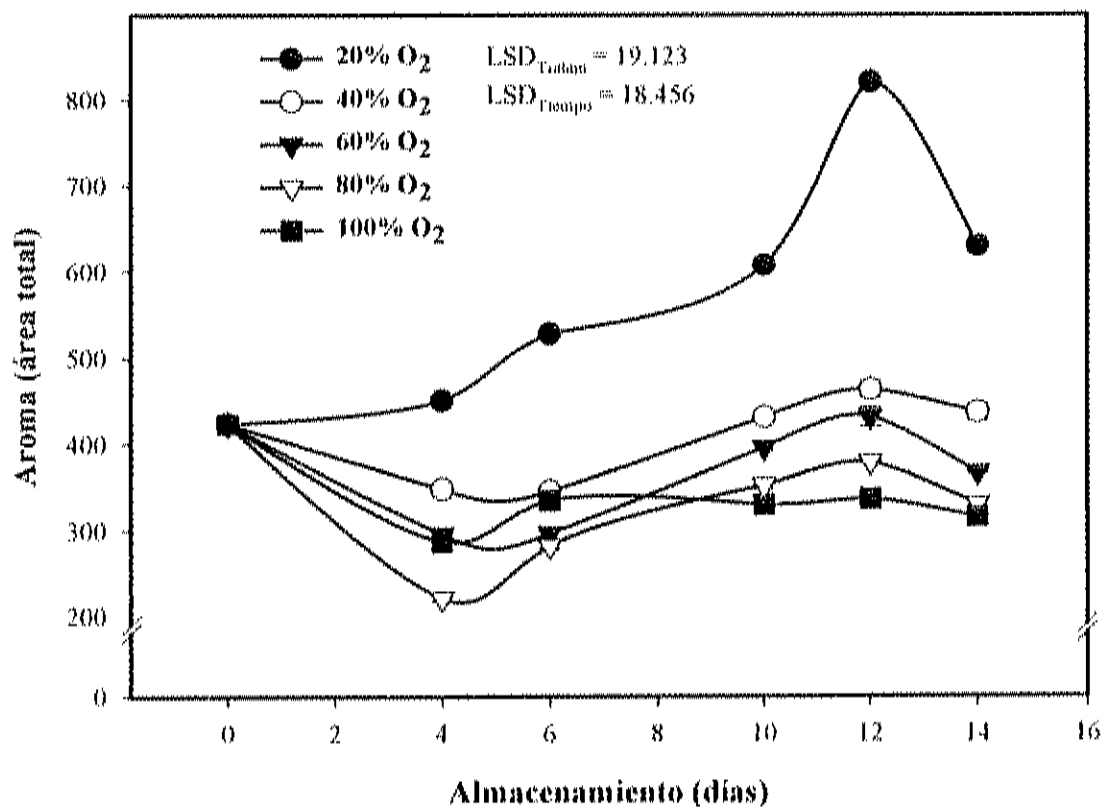


Figura 26. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el aroma de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

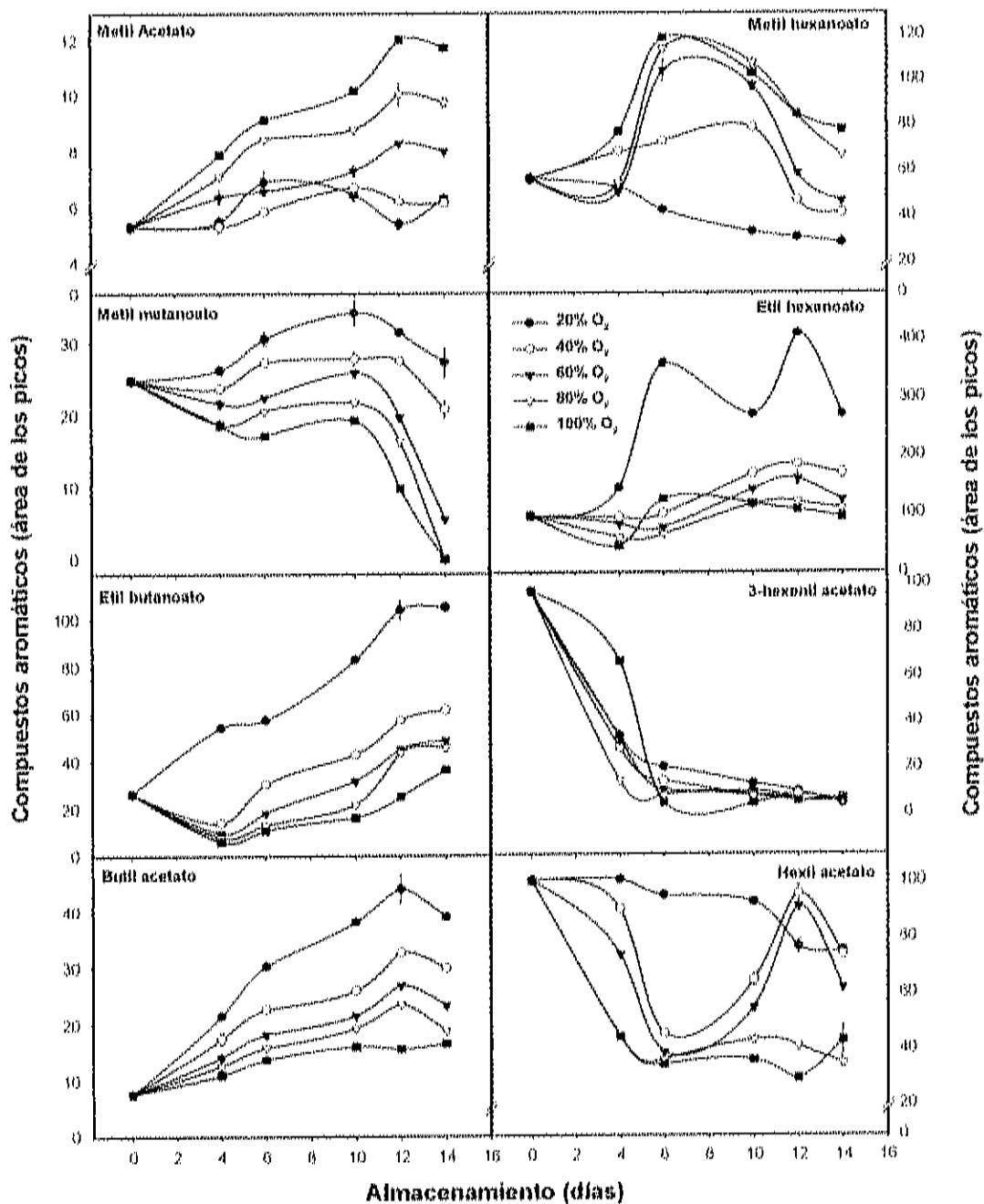


Figura 27. Efecto del almacenamiento en atmósferas con altas concentraciones de oxígeno sobre el perfil de compuestos aromáticos de fresa (cv. Chandler) durante 14 días a 5°C.

Conclusiones

El almacenamiento de frutos de fresa en altas concentraciones de oxígeno afecta significativamente ($p < 0.05$) la capacidad antioxidante, el contenido de antocianinas y fenoles totales, compuestos aromáticos y la calidad en general. La información presentada sobre el efecto del almacenamiento de frutos de fresa en altas concentraciones de oxígeno la capacidad antioxidante y el aroma sugiere que a pesar de que la calidad general se mantuvo mejor y se aumento la capacidad antioxidante en aquellas fresas almacenadas en altas concentraciones de O_2 , la aplicación de este tipo de atmósferas disminuyó la maduración y la emisión de compuestos aromáticos de los frutos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Institute for Cancer Research. 1997. Food Nutrition and the Prevention of Cancer: a Global Perspective.
- Ames BM, Shigena MK, Hagen TM. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 7915-7922.
- Baka M, Mercier J, Corcuff R, Castaigne F, Arul J. 1999. Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. *J. Food Sci.* 64: 1068-1072.
- Beggs CJ, Stolzer-Jehle A, Wellman E. 1985. Isoflavonoid formation as an indicator of UV stress in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves: The significance of photo-repair in assessing potential damage by increased solar UV-B radiation. *Plant Physiol.* 79: 630-634.
- Bennet RC, Wallsgrove RM. 1994. Secondary metabolites in plant defense mechanisms, Tansley Review No. 72. *New Phytol.* 127: 617-633.
- Ben-Yehoshua S, Rodov V, Kim JJ, Carmeli S. 1992. Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1217-1221.
- Biale JB, Young RE. 1947. Critical oxygen concentrations for the respiration of lemons. *Am. J. Bot.* 34: 301 - 309.
- Bors W, Heller W, Michel C, Saran M. 1990. Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol.* 186: 343-355.
- Britton G. The Biochemistry of Natural Pigments. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1983.
- Buta IT, Moline HE. 1998. Methyl jasmonate extends shelf life and reduces microbial contamination of fresh-cut celery and peppers. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1253-1256.
- Caldwell J. 1965. Effects of high partial pressures of oxygen on fungi and bacteria. *Nature.* 206, 323-323.
- Cao G, Sofie E, Prior RL. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3426-3441.

- CCFRA. 2000. www.campden.co.uk. Accesada en Enero del 2004.
- Cheng GW, Breen PJ. 1991. Activity of phenylalanine ammonialyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *J. Am. Soc. Hortie. Sci.* 116: 865-869.
- Civello PM, Martínez GA, Chavez AR, Añón MC. 1997. Heat treatments delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4589-4594.
- Couey HM, Wells JM. 1970. Low-oxygen or high-carbon dioxide atmospheres to control postharvest decay of strawberries. *Phytopathology.* 60, 47-49.
- Day BPF. 1996. High oxygen modified atmosphere packaging for fresh prepared produce. *Postharv. News Info.* 7: 31N-34N.
- Dentener PR, Lewthwaite SE, Maindonald JH, Connolly PG. 1998. Mortality of Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae) after Exposure to Ethanol at Elevated Temperatures. *J. Econ. Entomol.* 91: 767-772.
- Dentener PR, Lewthwaite SE, Bennett KV, Maindonald JH, Connolly PG. 2000. Effect of temperature and treatment conditions on the mortality of *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera: tortricidae) exposed to ethanol. *J. econ entomology.* 93: 519-525.
- Dillard CJ, German JB. 2000. Phytochemicals; nutraceuticals and human health. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1744-1756.
- Ding CK, Wang CY, Gross KC, Smith DL. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Plant Science* 161: 1153-1159.
- Dixon RA, Paiva NL. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell.* 1995; 7: 1085-1097.
- Droby S, Porat R, Cohen L, Weiss B, Shapiro B, Philosophi-Hadas S, Meir S. 1999. Suppressing green mold decay in grapefruit with postharvest jasmonate application. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124, 184-188.
- Farmer EE, Ryan CA. 1992. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *Plant Cell*, Rockville, v. 4, n. 2, p. 129-134, Feb.

- Fridovich I, 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophysics* 247, 1-11.
- Forney CF, Kalt W, Jordan MA. 2000. The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. *HortScience*. 35, 1022-1026.
- Galletta GJ, Bringhurst RS. 1990. Strawberry management, In *Small Fruit Crop Management*; Galletta GJ, Bringhurst RS, Eds.; Prentice-Hall: Englewood Cliffs, NJ, pp 83-156.
- Galletta GJ, Maas JL, Enns JM, Draper AD, Swartz HJ. 1995. 'Mohawk' strawberry. *HortScience* 30, 631-634.
- García-Closas M, Kelsey KT, Hankinson SE. 1999. Glutathione S-transferase Mu and Theta polymorphisms and breast cancer susceptibility. *J Natl Cancer Inst* 91: 1960 - 1964.
- García JM, Aguilera C, Jiménez AM. 1996. Gray mold in and quality of strawberry fruit following postharvest heat treatment. *HortScience*. 31: 255-257.
- Gil MI, Holcroft DM, Kader AA. 1997. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1662-1667.
- González-Aguilar GA, Buta JG, Wang CY. 2001. Methyl jasmonate reduces chilling injury symptoms and enhances colour development of 'kent' mangoes. *J. Sci. Food Agric.* 81: 1244-1249.
- González-Aguilar GA, Buta JG, Wang CY. 2003. Methyl jasmonate and modified atmosphere packaging (MAP) reduce decay and maintain postharvest quality of papaya 'sunrise'. *Postharvest Biol. Technol.* 28: 361-370.
- González-Aguilar GA, Tiznado-Hernández ME, Zavaleta-Gatica R, Martínez-Tellez M A. 2004. Methyl jasmonate treatments reduces chilling injury and activate the defense response of guava fruits. *Biochemical and Biophysical Communications*. 313: 704-711.
- González-Roncero MI, Day BPF. 1998. The effect of elevated oxygen and carbon dioxide modified atmosphere on psychotropic pathogens and spoilage microorganisms associated with fresh prepared produce. *Campden and*

- Chorleywood Food Research Association, Chipping Campden, UK Research Summary Sheet 98.
- Halliwell B, Aeschbach R, Lörliger J, Arnoma, O.J. 1995. The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxic.* 33: 601-617.
- Hardenburg RE, Watada AE, Wang CY. 1990. *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables and Florist and Nursery Stocks*. USDA Agricultural Handbook, No. 66. Washington, DC: USDA, Agricultural Research Service
- Harvey JM, Pentzer WT. 1960. Market diseases of grapes and other small fruits. U.S. Dept. Agr., Agr. Handb. 189, 37p.
- Holcroft DM, Kader AA. 1999. Carbon dioxide-induced changes in color and anthocyanins synthesis of stored strawberry fruits. *HortScience.* 34, 1244_ 1248.
- Infoagro. El cultivo de la fresa. http://www.laverdad.es/canalagro/datos/frutas/frutas_tradicionales/fresas.htm, accesada, en junio de 2003.
- Jennings P, Saltveit ME. 1994. Temperature and chemical shocks induce chilling tolerance in germinating *Cucumis sativus* (cv. Poinsett 76) seeds. *Physiol Plant* 91: 703-707.
- Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA. 1998. Long-strawberry, spinach, or vitamin E supplementation retards age-related neuronal signal-transduction and cognitive deficits. *J Neuroscience.*;18: 8047-8055.
- Kalathenos P, Sutherland JP, Roberts TA. 1995. Resistance of some wine spoilage yeasts to combinations of ethanol and acids present in wine. *J. Appl. Bacteriol.* 78, 245-250.
- Kaur C, Kapoor HC. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *Int J Food Sci Tech.* 36:703-25
- Kader AA. 1990. Quality and its maintenance to the postharvest physiology of strawberry. In *The Strawberry into the 21st Century*, (A. Dale and J.J. Luby, eds.) pp. 145-152.; Proceedings of the Third North American Strawberry Conference, Houston, TX; Timber Press; Portland, OR.

- Kader K, Ben-Yehoshua S. 2000. Review: Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharv. Biol. Technol.* 20: 1-3.
- Kader AA, Morris LL. 1975. Amelioration of chilling injury symptoms on tomato fruits. *HortScience*, 10: 324 (resumen).
- Kelly MO, Saltveit ME. 1988. Effect of endogenously synthesized and exogenously applied ethanol on tomato fruit ripening. *Plant Physiol.* 88: 143-147.
- Klaustermeyer JA, Morris LL. 1975. The effects of ethylene and carbon monoxide on the induction of russet spotting on crisphead lettuce. *Plant Physiol.* 56 (Suppl.), 63 resumen
- Kidd F, West C, 1934. Injurious effects of atmospheres of pure O₂ upon apples and pears at low temperatures. In: Report of the Food Investigation Board, London, UK, for 1933, pp. 74 – 77.
- Kramer GF, Wang CY. 1989. Correlation of reduced chilling injury with increased spermine and spermidine levels in zucchini squash. *Physiol Plant.* 76: 479–484
- Kühnau J. 1976. The flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. In: Bourne GII, ed, World Rev Nutr Diet. Basel, Switzerland: S. Karger, Vol 24, p. 117–120.
- Latrasse A. 1991. Fruit III. In *Volatile compounds in foods and beverages*, (II. Maarse, ed.) pp. 329-387, Marcel Dekker, New York.
- Lee TM, Lur HS, Lin YH, Chu C.1996. Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate-induced chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant, Cell and Environment* 19, 65-74.
- Li C, Kader AA. 1989. Residual effects of controlled atmospheres on postharvest physiology and quality of strawberries. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114, 629_ 634.
- Lichter A, Zutkhy Y, Songeo L. 2002. Ethanol controls postharvest decay of table grapes. *Postharvest Biology and Technology.* 24, 301-308.
- Lu JY, Stevens C, Yakuber P, Loretan PA. 1987. Gamma, electron beam, and UV radiation on control of storage rots and quality of Walla Walla onions. *J. Food Proc. Preserv.* 1 ; 53-62.

- Lurie S, 1998. Postharvest heat treatments of horticultural crops. *Hort. Rev.* 22, 91-121
- Maas JL, Galletta GJ, Stoner GD. 1991. Ellagic acid, an anticarcinogen in fruits, especially in strawberries: a review. *HortScience* 26, 10-14.
- Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J. 1990. *Fruit Phenolics*; CRC Press: Boca Raton, FL.
- Mencarelli P, Savarese P, Saltveit ME Jr. 1991. Ripening of kiwifruit exposed to ethanol and acetaldehyde vapors. *HortScience*. 26: 566-569.
- Mier N, Canete S, Kläbe A, Chavant L, Fournier D. 1996. Insecticidal properties of mushroom and toadstool carpophores. *Phytochemistry*. 41, 1293-1299.
- Mitcham EJ, Crisosto CH, Kader AA, 1996. Produce facts. Strawberry. Recommendations for maintaining postharvest quality. *Perish. Handl. Newslett.* 87, 21-22.
- Mercier J, Arul J, Julien C. 1993. Effect of UV-C on phytoalexin accumulation and resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrots. *J. Phytopathol.* 139: 17-25.
- Mercado-Silva E, Rubatzky V, Heredia-Zepeda A, Catwell ML. 1998. Variation in chilling susceptibility of jicama roots. *Acta Hort.* 467: 357-362.
- Mitchell RJ. 1992. Testing evolutionary and ecological hypotheses using path analysis and structural equation modeling. *Functional Ecology*. 6:123-129.
- Moline HE, Buta JG, Saffner RA, Maas JL. 1997. Comparison of three volatile natural products for the reduction of postharvest decay in strawberries. *Advances in Strawberry Research*. 16, 13-17.
- Okuda T, Yoshida T, Hatano T. 1991. Chemistry and Biological Activity of Tannins in Medicinal Plants. In *Economic and Medicinal Plant Research, Vol 5*, (Wagner H. and Farnsworth N. R. eds.), Academic Press, London, 129-165.
- Paz O, Janes HW, Prevost BA, Frenkel C. 1981. Enhancement of fruit sensory quality by post-harvest applications of acetaldehyde and ethanol. *J. Food Sci.* 47:270-273, 276.
- Pelayo C, Ebeler SE, Kader AA. 2003. Postharvest life and flavor quality of three strawberry cultivars kept at 5°C in air or air-20 kPa CO₂. *Postharv Biol Technol.* 27: 171-183.

- Pérez AG, Sanz C. Effect of high-oxygen and high-carbon-dioxide atmosphere on strawberry flavor and other quality traits. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 2370-2375.
- Pérez AG, Sanz C, Rios JJ, Olias JM. 1993. Estudio comparativo de los perfiles aromaticos de manzana, platano y fresa. *Rev. Españ. Cien. Tecnol. Aliment.* 33, 665- 677.
- Prior RL, Cao G, Martin A. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J Agric Food Chem*, 46: 2686-2693.
- Rice-Evans CA, Miller NJ. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem. Soc. Trans.* 24, 790-795.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res.* 22: 375-383.
- Riov J, Monsefise P, Kahan RS. 1968. Effect of gamma radiation on phenylalanine ammonialyase activity and accumulation of phenolic compounds in citrus fruit peel. *Radiat. Botany*. 8: 463-466.
- Saltveit ME, Mencarelli F. 1988. Inhibition of ethylene synthesis and action in ripening tomato fruit by ethanol vapors. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 113: 572-576.
- Saltveit ME, Morris LL. 1990. Overview on chilling injury of horticultural crops. In C.Y. Wang (ed.), *Chilling injury of Horticultural Crops*. CRC Press, Boca Raton, Fla., pp. 3-15.
- Sanz C, Olias JM, Pérez AG., 1997. Aroma biochemistry of fruits and vegetable. In *Phytochemistry of fruits and vegetables*, (F. Tomas-Barberan y R.J. Robins, eds.) pp. 125-155, Oxford Univ. Press, Oxford.
- Sargeant LA, Khaw KT, Bingham S. 2001. Fruit and vegetable intake and population glycosylated haemoglobin levels: the EPIC-Norfolk study. *Eur J Clin Nutrition.*; 55:342-348.

- Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Vitic.* 28, 49-55.
- Strack D. Phenolic metabolism. In: Dey PM, Harborne JB, eds. *Plant Biochemistry*. London, UK: Academic Press, 1997, p. 387-416.
- Solomos T, Whitaker B, Lu C, 1997. Deleterious effects of pure oxygen on 'Gala' and 'Granny Smith' apples. *HortScience.* 32, 458 resumen.
- Timberlake CF, Bridle P. 1982. Distribution of anthocyanins in food plant. In *Anthocyanins as Food Colors*; Academic Press: New York; 137 pp.
- Talcott ST. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1713-1720.
- Tsao R, Zhou T. 2000. Interaction of monoterpenoids, methyl jasmonate, and Ca^{2+} in controlling postharvest brown rot of sweet cherry. *HortScience.* 35, 1304-1307.
- Vaughn SF, Spencer GF, Shasha BS, 1993. Volatile compounds from raspberry and strawberry fruit inhibit postharvest decay fungi. *J. Food Sci.* 58, 793-796.
- Wallace G, Fry SC. 1994. Phenolic components of the plant cell wall. *Int Rev Cytol.* 151: 229-267.
- Wang CY. 1994. Combined treatment of the heat shock and low temperature conditioning reduces chilling injury in zucchini squash. *Postharv. Biol. and Technol.*, 4:65-73.
- Wang CY. 2003. Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds. *International Journal of Food Science & Technology.* 38:869-875.
- Wang CY, Buta JG. 1994. Methyl jasmonate reduces chilling injury in *Cucurbita pepo* through its regulation of abscisic acid and polyamine levels. *Environ. Exp. Bot.* 34:427-432.
- Wang CY, Buta JG. 2003. Maintaining quality of fresh-cut kiwifruit with volatile compounds. *Postharvest Biology and Technology.* 28:181-186.
- Wang H, Cao G, Prior RL. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45: 304-309.

- Wang H, Cao G, Prior RL. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701-705.
- Wang SY, Lin HS. 2000. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48: 140-146.
- Wang SY, Camp MJ. 2000. Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. *Sci. Hort.* 85: 183-199.
- Wang SY, Zheng W, Galletta GJ. 2002. Cultural system affects quality and antioxidant capacity in strawberries. *J. Agr. Food Chem.* 50: 6534-6542.
- Whitaker BD, Solomos T, Harrison DJ. 1998. Synthesis and oxidation of α -farnesene during high and low O₂ storage of apple cultivars differing in scald susceptibility. *Acta Hort.* 464: 165- 170.
- Woodward JR. 1972. Physical and chemical changes in developing strawberry fruits. *J. Sci. Food Agric.* 23: 465-473.
- Wszelaki AL, Mitcham EJ. 2000. Effects of superatmospheric oxygen on strawberry fruit quality and decay. *Postharv Biol Technol.* 20: 125-133.
- Yanuriati A, Savage GP, Rowe RN. 1999. The effects of ethanol treatment on the metabolism, shelf life and quality of stored tomatoes at different maturities and temperatures. *J. Sci Food Agric.* 79: 995-1002.
- Zabetakis I, Holden MA. 1997 Strawberry flavour: analysis and biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.* 74: 421-434.
- Zheng W, Wang SY. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem.* 51: 502-509.

- Wang H, Cao G, Prior RL. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701-705.
- Wang SY, Lin HS. 2000. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48: 140-146.
- Wang SY, Camp MJ. 2000. Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. *Sci. Hort.* 85: 183-199.
- Wang SY, Zheng W, Galletta GJ. 2002. Cultural system affects quality and antioxidant capacity in strawberries. *J. Agr. Food Chem.* 50: 6534-6542.
- Whitaker BD, Solomos T, Harrison DJ. 1998. Synthesis and oxidation of α -farnesene during high and low O₂ storage of apple cultivars differing in scald susceptibility. *Acta Hort.* 464: 165-170.
- Woodward JR. 1972. Physical and chemical changes in developing strawberry fruits. *J. Sci. Food Agric.* 23: 465-473.
- Wszelaki AL, Mitcham EJ. 2000. Effects of superatmospheric oxygen on strawberry fruit quality and decay. *Postharv Biol Technol.* 20: 125-133.
- Yanuriati A, Savage GP, Rowe RN. 1999. The effects of ethanol treatment on the metabolism, shelf life and quality of stored tomatoes at different maturities and temperatures. *J. Sci Food Agric.* 79: 995-1002.
- Zabetakis I, Holden MA. 1997 Strawberry flavour: analysis and biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.* 74: 421-434.
- Zheng W, Wang SY. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem.* 51: 502-509.