

**Centro de investigación en
Alimentación y Desarrollo, A.C.**

EFFECTO DEL ENFRIADO EN LA CALIDAD DE UVA DE
MESA (*Vitis Vinifera* L.) VARIEDAD 'PRINCESS'

POR

EDMUNDO CERVANTES VALENZUELA

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE
ORIGEN VEGETAL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

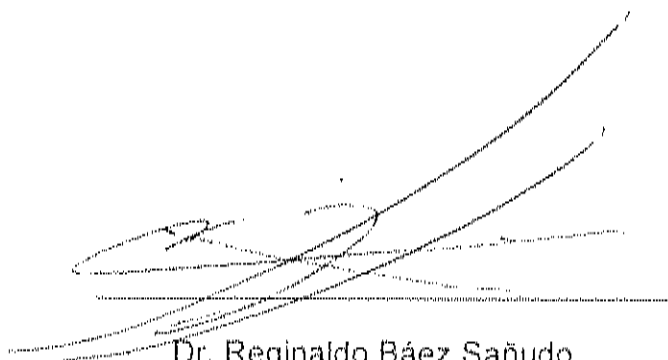
MAESTRÍA EN CIENCIAS

HERMOSILLO, SONORA

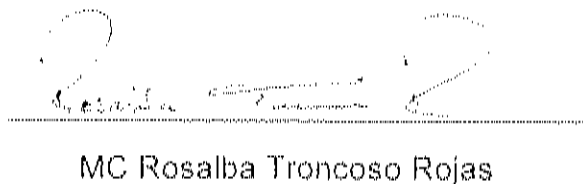
DICIEMBRE DE 2003

APROBACIÓN

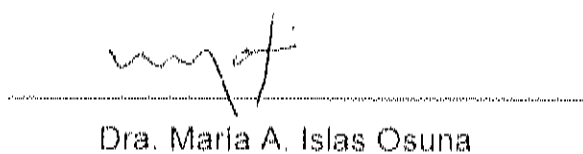
Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Edmundo Cervantes Valenzuela, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dr. Reginaldo Báez Sañudo



MC Rosalba Troncoso Rojas



Dra. María A. Islas Osuna



Dr. Rogerio R. Sotelo Mundo

AGRADECIMIENTOS

Al Todopoderoso por permitirme cumplir una meta más en el camino.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. por ser mi casa durante este tiempo, y a todo el personal que en él labora. Del mismo modo agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su apoyo para la realización de esta maestría.

Por supuesto, al Dr. Reginaldo Báez Sañudo "Regis", mi asesor y amigo, por invitarme, e insistir, desde hace tiempo, a dar este paso en mi carrera. Por señalarme el camino, por sus consejos y apoyo.

A los miembros de mi comité de tesis, por su apoyo e invaluable asesoría: M.C. Rosalba Troncoso Rojas, Dra. María Auxiliadora Islas Osuna, Dr. Rogerio Rafael Sotelo Mundo. Muchas gracias.

A Elsa Bringas por todo su apoyo en el trabajo de laboratorio y a Jesús Manuel por estar pendiente de mi progreso en este tiempo.

A mis compañeros del equipo de "vegetales": Deysi, Mildred, Amparo, Jorge y Francisco, por los buenos momentos que compartimos (y también los no tanto), y a los demás compañeros de la generación que siempre fuimos como una familia. Muchas gracias Citla y Javier por ayudarme con la parte técnica del escrito.

A mis amigos que siempre están ahí para dar ese empujoncito a veces tan necesario en este proceso. Es difícil mencionar a todos, e incluyo a aquellos de formación reciente pero que parece como si los conociera de toda la vida. Ustedes saben quienes son.

DEDICATORIA

A Yayita, Edmundo, Raquel y Elenita, por la enorme paciencia que me brindaron al estar realizando esta maestría, por todo el tiempo que no les dediqué.

También quiero dedicarla a mis padres por su apoyo en todos los aspectos.

A mi abuela, mi nana Ele, siempre al tanto de mi caminar, y a toda la gran familia a la cual tengo la dicha de pertenecer.

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE CUADROS.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
General.....	3
Específicos.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
Composición Física de la Uva.....	4
Composición Química de la Uva.....	5
Azúcares.....	5
Ácidos.....	5
Proteínas.....	6
Taninos.....	6
Compuestos fenólicos.....	6
Pectinas.....	7
Cambios en la Baya de la Uva Durante su Desarrollo.....	8
Cambios en la Baya de la Uva en Poscosecha.....	9
Respiración.....	9
Pérdida de agua.....	10
Pardeamiento Enzimático.....	11
Compuestos fenólicos como sustratos para el pardeamiento en uva.....	12
Polifenoloxidasa (PPO).....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
Técnicas.....	16
Tratamiento 1.....	16

Técnicas	16
Tratamiento 1	16
Tratamiento 2	17
Tratamiento 3	17
Análisis de calidad en uva de mesa	17
Diámetro transversal y longitudinal de la baya	17
Acidez titulable y pH	17
°Brix (SST)	18
Firmeza	18
Pardeamiento o manchado	18
Pérdida de Peso (tasa de deshidratación)	18
Comportamiento respiratorio	19
Contenido de fenoles totales y actividad de la polifenoloxidasa (PPO) ..	20
Análisis Estadístico	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
Diámetros de las bayas	23
Acidez Titulable y pH	26
Textura	26
Pardeamiento	30
Porcentaje de Pérdida de Peso	31
Tasa de Respiración	38
Etileno	46
Fenoles	46
Polifenoloxidasa	49
CONCLUSIONES	56
BIBLIOGRAFÍA	57

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
1	Diferentes tipos de polifenoloxidasas.....	14
2	Diagrama de flujo para determinación de contenido de fenoles totales en uva.....	22
3.	Comportamiento de la temperatura de las bayas en el preenfriado a 0° C (T1), a 5° C mas traslado a cuarto frío (0° C) (T2), y en el cuarto frío sin preenfriado(T3).....	24
4.	Promedios de pH de uva 'Princess' de los distintos tiempos de almacenamiento en frío y de los diferentes estados de madurez de los tres tratamientos de preenfriado.....	27
5.	Firmeza (Newtons) de uva 'Princess' durante el almacenamiento en frío independientemente del grado de madurez.....	29
6.1	Firmeza de uva 'Princess' de 14-15° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 0 (A) y 15 (B) días.....	32
6.2	Firmeza de uva 'Princess' de 14-15° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 30 (C) y 45 (D) días.....	33
6.3	Firmeza de uva 'Princess' de 22-23° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 0 (A) y 15 (B) días.....	34
6.4	Firmeza de uva 'Princess' de 22-23° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 30 (C) y 45 (D) días.....	35
7.1	Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 14-15° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 0 (A) y 15 (B) días.....	40
7.2	Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 14-15° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 30 (C) y 45 (D) días.....	41
7.3	Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 18-19° Brix,	

	después de almacenarse a 0° C durante 0 (A) y 15 (B) días.....	42
7.4	Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 18-19° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 30 (C) y 45 (D) días.....	43
7.5	Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 22-23° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 0 (A) y 15 (B) días.....	44
7.6	Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 18-19° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 30 (C) y 45 (D) días.....	45
8	Concentración de fenoles totales en uva 'Princess' de diferentes estados de madurez.....	47
9	Concentración de fenoles totales en uva 'Princess' durante el almacenamiento a 0° C.....	48
10	Actividad de PPO durante el almacenamiento de uva 'Princess' en frío.....	50
11	Actividad de polifenoloxidasa en uva 'Princess' a diferentes estados de madurez.....	53
12	Actividad de polifenoloxidasa en uva 'Princess' durante el almacenamiento en frío. La actividad de PPO es en base a peso fresco	54
13	Actividad de polifenoloxidasa en uva 'Princess' a diferentes estados de madurez. La actividad de PPO es en base a peso fresco.....	55

LISTA DE CUADROS

	Pág.
1	Tamaños de uva 'Princess' en relación a su estado de madurez..... 25
2	Parámetros de calidad de uva 'Princess', 'Flame' y 'Thompson'..... 28
3	Porcentaje de pérdida de peso diario en racimos de uva 'Princess' a diferentes rangos de madurez sin tomar en cuenta el tiempo de almacenamiento en frío..... 36
4	Porcentaje de pérdida de peso diario en racimos de uva 'Princess' a diferentes días de almacenamiento en frío a 0° C sin tomar en cuenta el grado de madurez..... 37
5	Tasa de respiración en racimos de uva 'Princess' a diferentes días de almacenamiento en frío a 0° C sin tomar en cuenta el grado de madurez..... 39

RESUMEN

La variedad de uva de mesa 'Princess' es de reciente introducción, presenta excelentes características de calidad, es semitardía, blanca y presenta sabor a moscatel. En Sonora, México, se introdujo durante 1999, y en la primera cosecha durante el 2001 se observó que gran parte de la producción presentó un pardeamiento que se manifiesta tanto al exterior como al interior de la baya. El origen del pardeamiento no se conoce, pero es probable que este problema se deba a que el origen de la variedad es la cruce de 'Crimson Seedless' x 'B40-208', y ésta última proviene de 'Italia' y otras variedades que presentan susceptibilidad al frío. Por lo anterior, durante el ciclo 2002 se probaron diferentes tipos de preenfriado para determinar si el desorden fisiológico está influenciado por la temperatura. Fruta con distintos estados de madurez se empacó en cajas comerciales y se sometieron a condiciones de enfriado forzado comercial (0° C), enfriado forzado hasta 5° C, y sin preenfriado. Todos los tratamientos se sometieron a condiciones de almacenamiento a 0° C, 90-95% de humedad relativa (HR). Los parámetros de calidad y fisiológicos se determinaron en condiciones de mercadeo (20° C, 60-65% HR). No se desarrolló pardeamiento interno en ninguno de los tratamientos, pero el externo se vio incrementado a medida que aumentaba la madurez y el período de almacenamiento y mercadeo. Las variables textura, pérdida de peso, respiración, fenoles totales y actividad de la polifenoloxidasa, no presentaron diferencias significativas entre los diferentes tipos de preenfriado. Sin embargo si hubo diferencias en la mayoría de los casos en relación al grado de madurez de la fruta y el tiempo de almacenamiento a 0° C.

ABSTRACT

Princess table grapes have an excellent quality regarding presentation and flavor (like muscatel). It is a mid-season variety with white oblong berries and it was introduced to Sonora since 1999. During its first harvest in 2001, serious problems were observed in relation with browning, both external and internal. This could be due to the genetic makeup since this new variety comes from 'Crimson Seedless' x 'B40-208', the latter related with 'Italy' and some others sensitive to browning by cold storage. For this reason, during the 2002 season several pre-cooling methods were tested with grapes at different maturity states to evaluate if the physiological disorder was due to temperature and if it was influenced by grape maturity. Treatments were pre-cooled at 0° C, 5° C, and no pre-cooling. Quality and physiological changes were determined at marketing conditions (20° C and 60-65 % RH) before and after cold storage at 0° C. No internal browning occurred in any treatment, but external browning increased with grape maturity and time of storage. There were no significant differences between the pre-cooling methods in relation to texture, percentage of weight loss, respiration, total phenols and polyphenoloxidase activity. But there were significant differences in relation to state of maturity and time of storage at 0° C, in most of the cases.

INTRODUCCIÓN

El estado de Sonora es el principal productor de uva a nivel nacional. Posee una superficie plantada de uva de mesa de 13,000 ha, las cuales producen 16 millones de cajas de 10 Kg, destinándose alrededor del 85 % de éstas (13.6 millones) al mercado de exportación y 2.5 millones al mercado nacional. En el año 2002 se generaron 180 millones de dólares en el mercado externo, promediando cada caja en 13.24 dólares (AALPUM, 2003).

Sonora se caracteriza por producir racimos de uva de excelente calidad, abarcando la mayor parte de la superficie plantada 4 variedades principales. Éstas son 'Perlette Seedless', 'Flame Seedless', 'Sugraone' y 'Red Globe'; las primeras tres apirénicas (sin semilla) y la última con semilla.

Buscando otras alternativas de sabor, algunos agricultores de la región introdujeron la variedad 'Princess' (anteriormente 'Melissa'). Esta variedad fue liberada al productor, por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, en la primavera de 1999. Esta uva proviene de la cruce de 'Crimson Seedless' y 'B40-208'. Produce uvas grandes de color verde, alargadas, sin semilla, con un agradable sabor a moscatel (Dokoozlian *et al.*, 2000).

Por su época de madurez, sería otra opción a la variedad 'Sugraone', ya que esta última es insípida por contar con poca acidez. Sin embargo, por su origen, la uva 'Princess' presenta el problema de pardeamiento durante poscosecha. Este desorden puede deberse a las prácticas culturales aplicadas en precosecha (anillado o uso de ácido giberélico) (Pool y Weaver, 1970) o a la sensibilidad al frío durante el almacenamiento. Actualmente, en nuestra región se encuentran plantadas alrededor de 200 hectáreas de esta variedad y durante el ciclo 2001 más del 50 % de la fruta en el mercado terminal presentaba el problema de manchado (Castelo, *et al.*, 2001).

Por todo lo anterior, en este trabajo se pretende evaluar el pardeamiento en uva de mesa variedad 'Princess', y si es producido por el almacenamiento en frío o está influenciado por la temperatura y velocidad de preenfriado, así como por el estado de madurez de la fruta al momento de la cosecha.

OBJETIVOS

General

“Caracterizar el manejo poscosecha que se proporciona a la uva variedad ‘Princess’ e identificar los cambios que se producen en la baya que puedan inducir el manchado al someter la fruta a diferentes temperaturas de preenfriado, tiempos de almacenamiento en frío y grados de madurez”.

Específicos

1.- Determinar los parámetros de calidad en bayas de diferentes grados de madurez como diámetro transversal y longitudinal, acidez titulable, pH, grados Brix, firmeza y manchado durante poscosecha, a 20° C, y después de someterse a diferentes tipos de almacenamiento en frío a 0° C.

2.- Cuantificar tasas de deshidratación de racimos y evaluar su comportamiento respiratorio.

3.- Determinar la concentración de fenoles totales y la actividad de la enzima polifenol oxidasa.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Composición Física de la Uva

Los racimos de uva están formados por el raquis (pedúnculo, laterales y pedicelos) y las bayas. En la madurez, el raquis representa del 2 al 6 % del peso fresco total del racimo, dependiendo de la variedad, y el resto lo constituyen las bayas (Gardea *et al.*, 1994; Winkler *et al.*, 1984).

Las bayas están formadas por las semillas, la cáscara y la pulpa. Las semillas constituyen hasta el 10 % del peso del fruto. Son ricas en taninos (5 al 8 %) y aceite (10 al 20 %), con cantidades menores de materiales resinosos. La cáscara constituye del 5 al 12 % del peso total. Contribuye con la mayor parte del color, sabor y aroma de la uva; además contiene más vitamina C que la pulpa. En uvas rojas, la cáscara contiene grandes cantidades de taninos (del 3 al 6 %). Está cubierta con una capa delgada y cerosa, llamada cutícula, la cual protege a la baya de la pérdida de agua y del ataque de patógenos. El grosor y dureza de la cáscara difiere entre variedades, y estos parámetros determinan el grado de resistencia de las uvas al daño por manejo en el empaque, transporte y almacenamiento (Murga *et al.*, 2000; Winkler *et al.*, 1984).

Composición Química de la Uva

La composición química de las uvas varía de acuerdo a la variedad y al medio ambiente en que se desarrollan. Entre los diferentes factores ambientales que influyen en ella se encuentran la temperatura, fertilidad del suelo, humedad e incidencia de luz.

Azúcares

Los principales azúcares de las uvas son las hexosas glucosa y fructosa (Coombe, 1992; Famiani *et al.*, 2000), contribuyendo con un 12 al 27 % del peso del fruto maduro. En mucho menor cantidad se presentan la sacarosa, rafinosa, estaquiosa, metibiosa, maltosa y galactosa. La sacarosa se produce en las hojas como producto de la fotosíntesis (aunque se puede producir en pequeñas cantidades en el fruto verde). Posteriormente se transloca al fruto donde es hidrolizada por la invertasa para transformarse en glucosa y fructosa, más o menos en las mismas proporciones (Patil *et al.*, 1995).

Ácidos

El ácido tartárico y el málico constituyen el 90 % o más de la acidez total de la uva (Coombe, 1992; Patil *et al.*, 1995). El ácido cítrico ocupa el tercer lugar con sólo 0.02-0.03 %. Otros ácidos presentes en pequeñas cantidades son el succínico, el fumárico, el pirúvico, el α -oxoglutarico, el glicérico, glicólico, dimetil-succínico, siquímico, quínico, entre otros (Hulme, 1971).

Proteínas

En las uvas, los compuestos nitrogenados se encuentran como cationes de amonio y compuestos orgánicos como aminoácidos, péptidos, aminas, ácidos nucleicos y proteínas. El nitrógeno total en el mosto de la uva oscila entre 10 y 200 mg/100 mL. La cantidad de aminoácidos varía considerablemente dependiendo del cultivar, locación, madurez, prácticas culturales, etc. (Hulme, 1971; Patil *et al.*, 1995).

Taninos

Los taninos son ésteres complejos de ácidos fenólicos y azúcares. Se encuentran principalmente en la cáscara, tallos y semillas de las uvas. El contenido de taninos influye sobre la palatabilidad de las uvas y sus productos. Le proporcionan un sabor astringente (Patil *et al.*, 1995; Winkler *et al.*, 1984).

Compuestos fenólicos

Probablemente, los fenoles de las uvas y el vino han sido los más ampliamente estudiados, al igual que los de las manzanas (Macheix *et al.*, 1991; Robards *et al.*, 1999). En la uva madura se encuentran cinco clases de compuestos fenólicos: ácidos fenólicos, flavonoles, flavanoles, flavononoles y antocianinas. Las antocianinas son los fenoles más abundantes en las uvas rojas y los flavonoles en las blancas (Robards *et al.*, 1999). Otros autores los subdividen en flavonoides como las antocianinas, flaván-3-oles (flavanoles o catequinas), flavonoles y taninos polifenólicos; y compuestos no flavonoides como los ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzóicos y los estilbenos. Los

flavonoides, los hidroxicinamatos libres y los ácidos hidroxibenzóicos se originan principalmente de la cáscara y de las semillas de la uva, mientras que los hidroxicinamatos, especialmente aquellos esterificados con ácido tartárico, y algunos ácidos benzóicos monoméricos, proceden generalmente de la pulpa (Frankel *et al.*, 1998; Macheix *et al.*, 1991).

Las uvas constituyen una de las mayores fuentes de compuestos fenólicos, y la mayoría de ellos tienen efectos benéficos a la salud humana, especialmente como cardioprotectores por su actividad antioxidante (inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad -LDL) (Frankel, 1998; Macheix *et al.*, 1991). También se han asociado con una tasa baja de incidencia de cáncer, osteoporosis (Scalbert y Williamson, 2000; Vinson, *et al.*, 1998), trombosis (Frankel *et al.*, 1995). Otros autores les han encontrado propiedades antiinflamatorias, estrogénicas y hasta los consideran inhibidores de la replicación del virus del herpes simple (Cantos *et al.*, 2001).

Pectinas

Las sustancias pécticas son derivados del ácido poligalacturónico. Éstas se dividen en protopectina, pectina y ácido péctico, constituyentes normales en la vid y su fruto. La protopectina se encuentra más abundantemente en la pared primaria de la célula; en la lamela media encontramos mezclas de pectatos de calcio y magnesio. Durante la maduración, la protopectina se transforma en pectina y las bayas se ablandan debido a la remoción de los pectatos de la lamela media. Estos cambios influyen sobre la textura del fruto, el cual se vuelve muy blando al llegar a la sobremadurez. Las uvas de la especie *Vitis vinifera* contienen menores cantidades de pectinas que las de las especies

americanas, como la Concord. Esto hace que las últimas sean adecuadas para la fabricación de jaleas (Patil *et al.*, 1995; Winkler *et al.*, 1984).

Cambios en la Baya de Uva Durante su Desarrollo

La baya de la uva es un fruto no climatérico que muestra una curva de crecimiento doble sigmoide. Al principio de la primera fase se da una división celular, seguida por una elongación de las células formadas. Posteriormente, la baya pasa por una etapa de poco o nulo crecimiento; en la segunda fase de crecimiento, el incremento en volumen es debido exclusivamente a la expansión celular (Davies y Robinson, 1996; Nunan *et al.*, 1998; Nii y Coombe, 1983; Winkler *et al.*, 1984).

El desarrollo de las bayas de uva, como muchas otras frutas, va acompañado de grandes cambios en el contenido de azúcares y ácidos orgánicos, además del cambio en tamaño y textura. Antes de la maduración existe una elevada cantidad de ácidos orgánicos (málico y tartárico) y pocos azúcares, permaneciendo casi constantes. La glucosa se encuentra en mayores cantidades que la fructosa y el fruto permanece duro. El comienzo de la segunda etapa de crecimiento se le conoce como "veraison", término francés para designar la serie de eventos repentinos que se presentan en la baya de la uva. Por ejemplo, el cambio de color y su ablandamiento, así como la disminución de ácidos y el incremento en azúcares y aminoácidos libres. En México, a este cambio se le conoce como "envero" (Coombe, 1992; Famiani *et al.*, 2000; Patil *et al.*, 1995; Winkler *et al.*, 1984).

Durante la maduración, el color rojo se vuelve más intenso y el verde empieza a opacarse. La textura continúa ablandándose y los cambios en acidez, dulzura, y otros constituyentes se presentan de una manera mucho más rápida. A medida que se alcanza la maduración, estos cambios disminuyen en intensidad (Coombe, 1992; Famiani *et al.*, 2000; Patil *et al.*, 1995; Winkler *et al.*, 1984)

Cambios en la Baya de Uva en Poscosecha

La uva no madura después de la cosecha. Una vez cortado el racimo de la planta, los cambios continuos que se realizaban durante la maduración se detienen, y empieza un deterioro gradual del producto. La senescencia es la etapa final del desarrollo hasta llegar a su muerte (Winkler *et al.*, 1984).

Respiración

La respiración es el proceso por el cual los compuestos orgánicos almacenados (carbohidratos, proteínas, grasas) son descompuestos a productos más simples con la consiguiente liberación de energía (calor), dióxido de carbono y agua. Se utiliza oxígeno en el proceso. El calor producido debe de eliminarse por medio de refrigeración para evitar un incremento en la temperatura que pudiera acelerar el deterioro de los productos cosechados.

La uva tiene una tasa de respiración baja en relación a otros frutos (5–10 mg CO₂/Kg-hr a 5° C.) (Kader, 2002; Nelson, 1985). Durante las primeras 24 horas en el cuarto frío, el racimo presenta una disminución notable en su tasa

de respiración. Esto es debido al gran cambio de temperatura que se presenta en las uvas al pasar del calor de campo a preenfriado y refrigeración. Existe una gran diferencia entre la tasa de respiración del racimo completo, o las bayas, y el raquis. Éste último respira más rápidamente, por lo que se deteriora en menor tiempo que los primeros, observándose una decoloración café que afecta su calidad. Sin embargo esta reacción no es enzimática, es debida a su deshidratación (García-Robles *et al.* 2003; Gardea *et al.*, 1994).

Pérdida de agua

La pérdida de agua es la causa principal de deterioro de los productos hortícolas ya que no sólo produce pérdidas cuantitativas directas, sino que también produce pérdidas en la apariencia (marchitamiento), textura (ablandamiento, flacidez, jugosidad) y calidad nutricional (Kader, 2002). Un racimo de uvas tiene una gran cantidad de superficie (cáscara) por número de bayas que contiene en relación a su volumen. Esta alta relación superficie-volumen las hace susceptibles a la deshidratación cuando se demora su preenfriado y son expuestas a altas temperaturas y bajo nivel de humedad. La temperatura ideal de conservación en cámaras refrigeradas y en el transporte es de -1 a 0° C, y de 90 a 95 % de humedad relativa (Wills *et al.*, 1998; Winkler, *et al.*, 1984, Yahia e Higuera, 1992).

Existen al menos tres síntomas de pérdida de agua en los racimos de uvas. El primero es el marchitamiento del raquis, el cual se vuelve frágil y quebradizo. El segundo es su pardeamiento (encafecimiento), lo cual demerita la calidad visual del racimo. El tercero es el marchitamiento de las bayas, las cuales no muestran estos síntomas hasta que son bastante evidentes en el raquis. Aproximadamente con el 3 % de pérdida de peso, la cáscara pierde su

la calidad visual del racimo. El tercero es el marchitamiento de las bayas, las cuales no muestran estos síntomas hasta que son bastante evidentes en el raquis. Aproximadamente con el 3 % de pérdida de peso, la cáscara pierde su firmeza; de 4 a 5 %, las bayas se sienten definitivamente blandas; y con más del 5 % de pérdida de peso empiezan a aparecer pequeñas arrugas que se irradian del pedicelo hacia el centro de ésta. La calidad de mercadeo se ve seriamente afectada cuando las bayas se ablandan, y son prácticamente inaceptables cuando presentan arrugas (Nelson, 1985).

Pardeamiento Enzimático

El pardeamiento enzimático es una decoloración que se produce cuando los compuestos monofenólicos de plantas o animales son hidroxilados a o-difenoles en presencia del oxígeno atmosférico, para después ser oxidados a o-quinonas. Estas quinonas son altamente reactivas y se polimerizan con ellas mismas o con aminoácidos, proteínas u otros compuestos fenólicos para producir pigmentos de estructura indeterminada. Normalmente éstos son de color café, pero también pueden ser rojos, negros, azules o combinaciones (Sapers, 1993, Sapis *et al.*, 1983a, b; Walker y Ferrar, 1998).

Los compuestos fenólicos actúan como sustratos para una gran cantidad de oxidorreductasas, principalmente polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasas (POD) (López-Serrano y Ros-Barceló, 2001; Macheix *et al.*, 1991; Robards *et al.*, 1999, Sapis *et al.*, 1983a,b; Walker y Ferrar, 1998). El pardeamiento enzimático es un problema grave en un gran número de frutas como las manzanas, peras, duraznos, plátanos y uvas; y en vegetales como papas, champiñones y lechugas. También en productos marinos como camarón,

langostas y cangrejos. Esta decoloración limita la vida poscosecha de muchos alimentos mínimamente procesados. Influye también en los procesos de producción de frutas y vegetales deshidratados y congelados (Sapers, 1993; Walker y Ferrar, 1998). De igual modo, demerita la calidad en los vinos de mesa, ya que además del color, afecta otras cualidades sensoriales por la eliminación de ciertos compuestos fenólicos (Macheix *et al.*, 1991). Pero no siempre sus efectos son indeseables. Es importante en la producción de té negro, café, pasas y ciruelas (Sapers, 1983).

Compuestos fenólicos como sustratos para el pardeamiento en uva

Entre los numerosos compuestos fenólicos de la uva, algunos de los derivados hidroxicinámicos juegan un papel importante, en cantidad y capacidad, en las reacciones de pardeamiento. Los ácidos fenólicos se combinan con el ácido tartárico para formar los ésteres del ácido hidroxicinamoil tartárico. Entre ellos se encuentran el ácido cafeoil tartárico, el ácido p-cumaroil tartárico y el ácido feruloil tartárico. La proporción del primero en relación con los otros dos, es un factor que puede explicar las grandes diferencias en el potencial de pardeamiento de las distintas variedades. Así mismo lo es el contenido total de estos tres derivados hidroxicinámicos, ya que a una cantidad mayor se presenta un pardeamiento más intenso. El ácido cafeoil tartárico es el mejor sustrato para la PPO (Macheix *et al.*, 1991; Romeyer *et al.*, 1983).

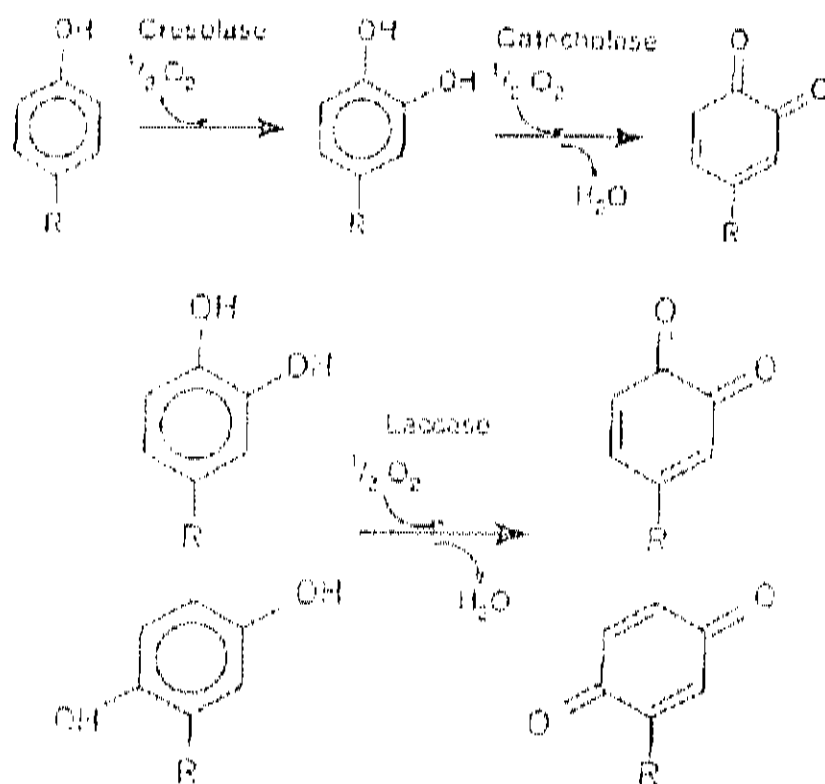
Polifenoloxidasas (PPO)

Polifenoloxidasas es el nombre genérico para designar al grupo de enzimas que catalizan la oxidación de compuestos fenólicos para producir el

designado como monofenol monooxigenasa, cresolasa o tirosinasa a la PPO que hidroxila los compuestos monofenólicos: EC 1.14.18.1; y como difenol oxidasa, catecol oxidasa, catecolasa, difenol oxígeno oxidoreductasa, a la PPO que oxida los o-difenoles a o-quinonas: EC 1.10.3.1. También se menciona la lacasa o para-difenol oxígeno oxidoreductasa: EC 1.10.3.2, la cual cataliza la oxidación de orto y para-dihidroxifenoles, pero no es capaz de hidroxilar monofenoles (Figura 1). Además no es muy común en frutos (Robards *et al.*, 1999; Vámos-Vigyazo, 1981; Walker, 1995; Whitaker y Lee, 1995).

Las catecolasas o polifenoloxidasas contienen cobre como grupo prostético, el cual tiene que ser reducido de Cu^{2+} a Cu^+ para que estas enzimas puedan tener actividad sobre los sustratos. En este estado, las PPO pueden atrapar al O_2 y de este modo se unen los fenoles a la parte oxi-difenoloxidasa. Como consecuencia de esto, se lleva a cabo la hidroxilación de los monofenoles o la oxidación de los difenoles para producir las orto-quinonas y posteriormente los pigmentos.

El primer paso de esta reacción es reversible, y por esta razón, el ácido ascórbico y otros agentes reductores previenen el pardeamiento enzimático reduciendo las ortoquinonas (sin color) a los fenoles originales. Desafortunadamente una vez que se oxida todo el ácido ascórbico, la o-quinona ya no se reduce y por polimerización oxidativa se producen pigmentos de melanina de colores café-negros principalmente. Sin embargo, el uso de ácido ascórbico es la forma más segura para el control comercial del pardeamiento en jugos de frutas y otros productos (Walker, 1995; Walker y Ferrar, 1998). Hicks *et al.* (1996) mencionan además el uso de sulfitos, cisteína y sus derivados, la



Robards *et al.*, 1999.

Figura 1. Diferentes tipos de polifenoloxidasas.

miel, proteasas y las ciclodextrinas para combatir este problema. La mayoría de estos inhibidores de la PPO actúan como inhibidores directos de la enzima o como reductores químicos de α -quinonas a compuestos α -difenólicos; sólo las ciclodextrinas funcionan de un modo distinto: intervienen en la manipulación o eliminación de sustratos fenólicos formando complejos de inclusión con ellos.

Los sustratos más importantes para la PPO son las catequinas, los ésteres del ácido cinámico, la 3,4-dihidroxifeniletamina (DOPA) y la tirosina. El pH óptimo para su actividad varía entre 5 y 7. La enzima es relativamente sensible al calor (Sapers, 1993). Lee *et al.* (1983) reportan que la actividad máxima de la enzima en uvas de la variedad 'De Chaunac' fue a pH de 6.0 y la temperatura óptima de 20° C. A temperaturas menores, su actividad disminuyó gradualmente y a temperaturas mayores de 25° C, su actividad disminuyó dramáticamente. Wakayama (1995) establece que la temperatura óptima para la máxima actividad de PPO en manzana es de 30° C; de igual modo, Lamikaura (1995) menciona esta temperatura como la óptima para la PPO de uvas variedad 'Muscadine'.

MATERIALES Y MÉTODOS

Técnicas

Se cosechó y empacó de manera comercial, uva de la variedad 'Princess' en el viñedo Rancho Sonora, ubicado en Pesqueira, Sonora, con 5 diferentes estados de madurez, tomando como base la concentración de sólidos solubles totales (grados Brix). Se tomaron 4 cajas de 10 kg de cada uno de los siguientes rangos de concentraciones: 14-15, 16-17, 18-19, 20-21 y 22-23 grados Brix, por cada tratamiento a realizar, los cuales fueron los siguientes:

Tratamiento 1

Se preenfriaron las cajas de uva con aire forzado a 0° C, registrando la temperatura interna del fruto durante cada hora hasta llegar a los 0° C (Figura 2). Se dejaron 3 cajas en el cuarto frío de la empresa (a 0° C) por cada estado de madurez (15 en total) y una por cada tratamiento se transportaron al laboratorio del CIAD y se almacenaron a 20° C, 60-65 % HR para realizar las diferentes pruebas de calidad.

Tratamiento 2

Se realizó el mismo procedimiento que en el tratamiento 1, con la única diferencia que al preenfriar la fruta se bajó la temperatura hasta 5° C, y posteriormente se transfirió a la cámara de almacenamiento de 0° C (Figura 2). Aquí se almacenó hasta que se cumplieron los tiempos de cada uno de los muestreos a los 15, 30 y 45 días para transferirse a condiciones de mercadeo (20° C).

Tratamiento 3

Aquí no se realizó un preenfriado forzado, sino que se introdujeron las cajas en el cuarto frío a 0° C para que disminuyera gradualmente la temperatura (Figura 2) y ésta se registró cada hora en la pulpa de la fruta.

A los 15, 30 y 45 días de almacenamiento a 0° C se retiraron las cajas de uva correspondientes a los distintos tratamientos o muestreos y se sometieron a las condiciones de mercadeo.

Análisis de calidad en uva de mesa

Diámetro transversal y longitudinal de la baya. Se tomaron medidas con un vernier digital marca Traceable (Friendswood, TX), reportando los valores en milímetros. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento.

Acidez titulable y pH. Se exprimieron varias bayas a través de una malla para obtener jugo de uva libre de partículas sólidas. Se utilizaron 5 mL de este jugo

diluidos en 50 mL de agua destilada, a los cuales se les midió el pH y la acidez titulable, por triplicado, mediante un titulador automático Mettler DL 67 Tritator (Suiza). El resultado se expresó como % de ácido tartárico y el pH lo proporcionó el mismo aparato al principio de la lectura (AOAC, 1990).

°Brix (SST). Se determinaron extrayendo unas gotas del jugo de 5 bayas, colocándolas en un refractómetro portátil (Milton Roy Co. USA). Las mediciones se hicieron por triplicado (AOAC, 1990).

Firmeza. Se midió a la baya sin pedicelo con un penetrómetro digital (Chatillon, Greensboro, NC 27409) con punzón de punta cónica de 8 mm de diámetro, obteniéndose resultados en newtons (N). Se ejerció la fuerza con el punzón a un costado de la baya hasta que rompió la cáscara y penetró la pulpa. Se hicieron 5 repeticiones por tratamiento (Bourne, 1980).

Pardeamiento o manchado. Se tomaron 100 bayas de cada tratamiento al terminar el almacenamiento en frío y se cortaron transversalmente con una navaja para determinar visualmente la presencia de manchas en el fruto y así evaluar el porcentaje de fruta con pardeamiento interno (Pool y Weaver, 1970).

Pérdida de Peso (tasa de deshidratación). Se evaluó diariamente y por triplicado el peso de racimos almacenados en una balanza Ohaus Voyager 2,100g \pm 0.01g (Ohaus Corporation, Suiza). Se utilizó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de pérdida de peso (Diaz-Pérez y Araiza, 1997):

$$PP = (P_i - P_f) / P_i \times 100$$

donde:

PP = Porcentaje de pérdida de peso

Pi = Peso inicial

Pf = Peso final

Comportamiento respiratorio. Se determinó la producción de CO₂ y etileno de los racimos completos por medio de cromatografía de gases, basándose en el método descrito por Saltveit y Sharaf (1992). Se incubó un racimo por recipiente de 4 L durante una hora, sellando bien la tapa con parafilm para evitar fugas. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento. Se tomaron muestras del aire de los recipientes mediante una jeringa hipodérmica de 1 mL. Se inyectaron a un cromatógrafo de gases Varian Star 3400, (Walnut Creek, CA) equipado con detectores de ionización de flama (FID) para el CO₂, y de conductividad térmica (TCD) para el etileno, una columna (Supelco) metálica de 2 m de largo y 1/8" de diámetro interno, empacada con Hayesep N 80/100. Las pruebas se realizaron hasta que los racimos de uva perdieron su calidad comercial (desde 5 hasta 10 días).

Las condiciones del equipo fueron: temperatura de columna 80° C, inyector 100° C, detectores a 120° C para el FID y 170° C para el TCD. Se utilizó nitrógeno UAP como gas acarreador a un flujo de 25 mL/min. y la concentración de los estándares fue de 0.5 ó 5% para el CO₂ y 10.2 ppm para el etileno. La cuantificación se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{mL CO}_2/\text{Kg-h}=(A1 \times C \times V)/(A2 \times P \times T)$$

$$\mu\text{L C}_2\text{H}_2/\text{Kg-h}=(A1 \times C \times V)/(A2 \times P \times T)$$

donde:

A1= área de la muestra

- C= concentración del estándar
- V= volumen del espacio de cabeza
- A2= área del estándar
- P= peso del fruto
- T= tiempo de incubación

Contenido de fenoles totales y actividad de la polifenoloxidasasa (PPO). Se determinó el contenido de fenoles totales por el método de Singleton-Rossi (1965)(Figura 2) y la PPO por los métodos reportados por Pool y Weaver (1970) y Martínez Téllez (1993). Se definió una unidad de PPO como el aumento en 0.1 unidades de absorbancia a 420 nm en un minuto (Flurkey y Jen, 1978; Siriphanich y Kader, 1985).

Se realizó un extracto a partir de 30 g de bayas de uva congeladas y fueron licuadas con 30 mL de solución buffer de fosfato 0.2 M, pH 6.8 en un homogenizador Janke and Kunkel modelo T 25 (Alemania). Se añadió polivinil pirrolidona (PVP) para llevarlo al 5 % (p/v), el cual se realizó a una temperatura de 0 a 4° C. El homogenizado se filtró con dos capas de tela de manta y se centrifugó por 20 minutos a 6,125 g y 4° C. El sobrenadante se mantuvo a 0° C hasta el momento de medir a 410 nm de absorbancia en un espectrofotómetro Cary 50 (Varian).

Se utilizó ácido caféico como sustrato a una concentración de 5 mM en buffer de fosfato 0.2 M, pH 6.0. La reacción se llevó a cabo colocando 1.25 mL de este sustrato en una cuveta de cuarzo y se le agregaron 100 µL del extracto enzimático diluido 1:10 en agua destilada. Se determinó posteriormente la concentración de proteína en los homogenizados por el método BCA. De este modo, la actividad de la PPO se expresó en unidades de PPO por minuto por miligramo de proteína.

Se determinó la concentración de proteína por el método del Ácido Bicinchonínico (BCA) adaptado para microplaca, utilizando el kit de MicroBCA (PIERCE 23235). Se incubaron 25 μ L de muestra con 200 μ L de una mezcla de 10 mL del reactivo A (BCA en condiciones alcalinas) con 0.2 mL del reactivo B (4% de sulfato de cobre), durante 30 minutos a 37° C. La absorbancia se midió en un lector de microplacas (BioRad) a 562 nm. Se utilizó una curva estándar con albúmina sérica bovina (BSA) como estándar (Smith *et al.*, 1985).

Análisis Estadístico.

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial donde se incluyen los tres tratamientos de temperatura (preenfriado), los cinco estados de madurez y las cuatro diferentes fechas de almacenamiento. Se utilizó el programa Number Cruncher Statistical System (NCSS) 2000. Se realizó el análisis de varianza y comparación de medias por Tukey con un nivel de significancia del 5 %.

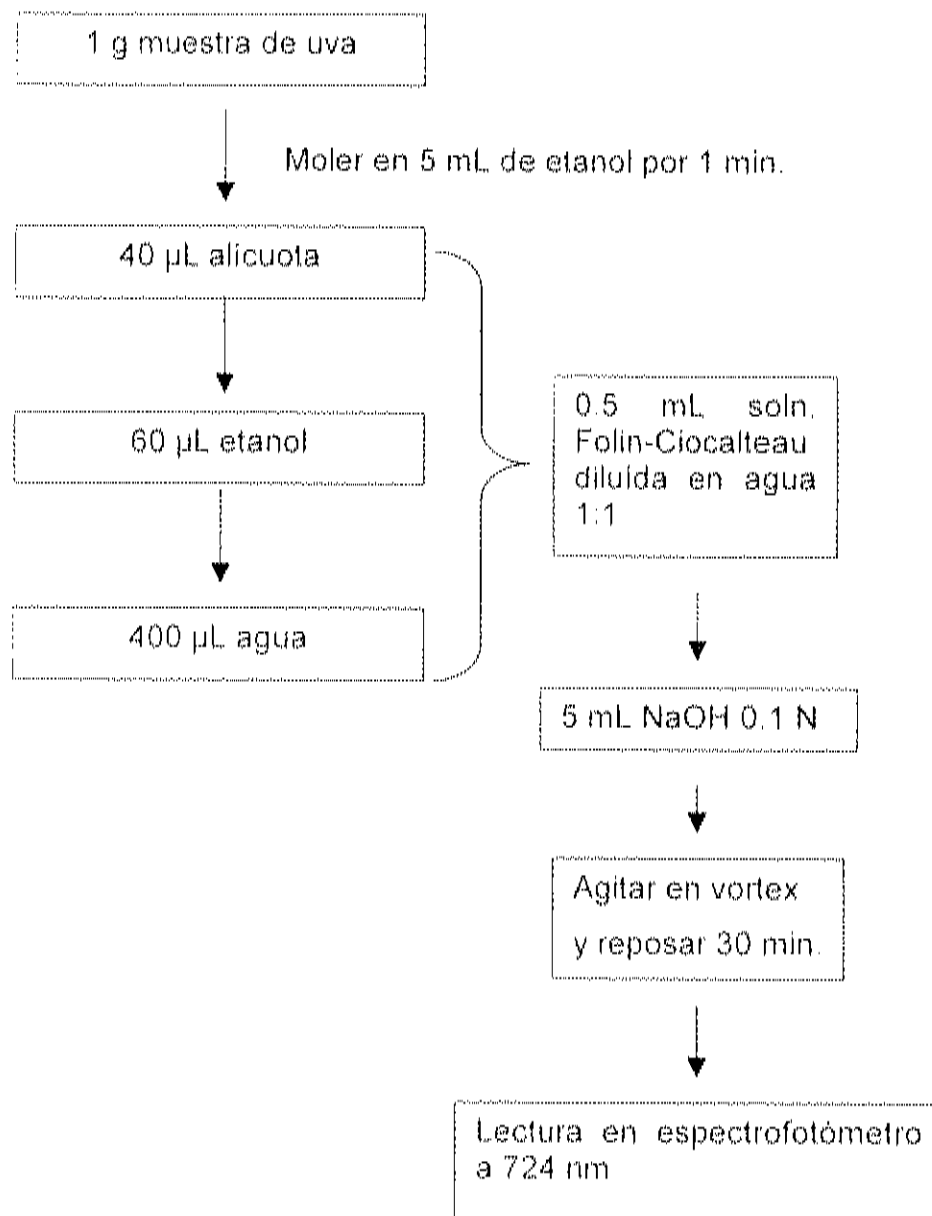


Figura 2. Diagrama de flujo para determinación del contenido de fenoles totales en uva (Singleton y Rossi, 1965).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se cosechó la uva y se transportó a la cámara de preenfriado y de refrigeración, la temperatura de la pulpa se encontraba alrededor de los 35° C. A las 3 horas de preenfriado, su temperatura descendió hasta los 5° C y se llegó a los 0° C alrededor de las 4 horas.

Las uvas preenfriadas a 5° C se pasaron al cuarto frío a 0° C y en 10 horas descendió su temperatura hasta los 2° C. La fruta que no se preenfrió, se transfirió directamente al cuarto frío y se llegó a bajar su temperatura hasta 3° C en aproximadamente 15 horas (Figura 3).

Diámetros de las bayas

Por los diámetros transversal (DT) y longitudinal (DL) de las bayas de uva 'Princess', se puede considerar como una variedad de bayas grandes, ovoides, alargadas. La fluctuación de los tamaños en general fue de la siguiente manera: DT desde 16.1 a 24.0 mm, con una media de 19.2 mm. DL desde 20.2 a 28.4 mm, con una media de 23.8 mm

En el Cuadro 1 podemos observar las medias de los diámetros con su desviación estándar para los diferentes rangos de madurez:

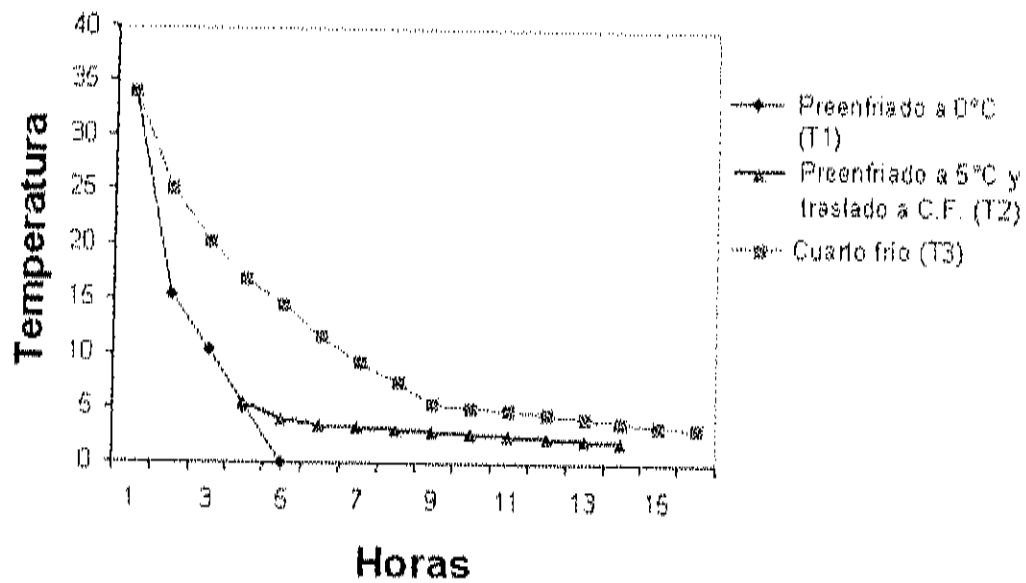


Figura. 3. Comportamiento de la temperatura de las bayas en el preenfriado a 0° C (T1), a 5° C mas traslado a cuarto frío (0° C) (T2), y en el cuarto frío sin preenfriado(T3).

Cuadro 1. Tamaños de uva 'Princess' en relación a su estado de madurez

Grados Brix	Diámetro Transversal (mm)	Diámetro Longitudinal (mm)
14-15	19.1 ± 1.2	22.5 ± 1.3
16-17	19.3 ± 1.5	23.9 ± 1.9
18-19	19.5 ± 1.0	24.1 ± 1.8
20-21	19.6 ± 1.5	24.2 ± 2.1
22-23	18.8 ± 2.0	23.4 ± 1.8

Acidez Titulable y pH

La variación de los valores de pH de uva 'Princess' se encontraron entre 3.4 y 4.6, y de acidez entre 0.8 a 1.1 %, para un rango de madurez entre 14 y 20° Brix. A medida que se incrementó la madurez disminuyó la acidez y se incrementó el pH (Figura 4). En comparación con otras uvas de mesa como 'Flame Seedless' y 'Thompson Seedless', esta variedad es un poco más ácida y su pH más elevado (Cuadro 2). La uva 'Flame' presenta una acidez de 0.6 % a los 18° B y la 'Thompson' de 0.6 % a los 20.3° B (Peacock y Simpson, 1998).

No hubo diferencias significativas en acidez titulable ni en pH en relación a los tratamientos de preenfriado, ni en el tiempo de almacenamiento en frío. Esto se debe a que la uva es un fruto no climatérico y estos parámetros no cambian después de la cosecha.

Textura

En relación a la textura del fruto, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (preenfriado a 0° C, preenfriado a 5° C y sin preenfriado), pero sí en el tiempo de almacenamiento en frío (Figura 5), sin tomar en cuenta el estado de madurez. A los 0 y 15 días de almacenamiento, las bayas promediaron 17 newtons, mientras que a los 30 y 45 días, la textura disminuyó hasta los 15 newtons. Como es de suponerse, a medida que transcurre el tiempo, la fruta va perdiendo agua, lo que provoca un ablandamiento de la misma. Shewfelt y Prussia (1992) afirman que la firmeza de los frutos se debe a la combinación de turgor e integridad de la pared celular. Nelson (1985) establece que cualquier ablandamiento del tejido en uva se debe a la flacidez que resulta de la pérdida de agua, y que si acaso existe algo de hidrólisis de sustancias pécticas intracelulares, ésta es mínima.

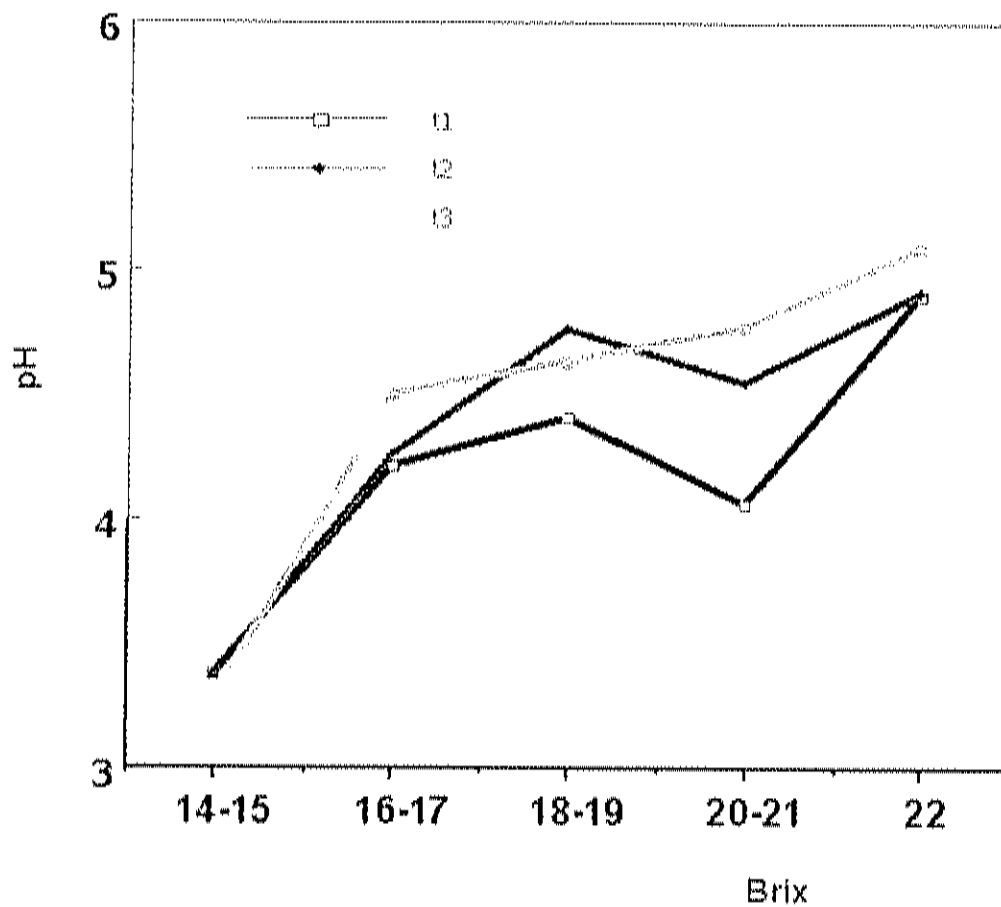


Figura 4. Promedios de pH de uva 'Princess' de los distintos tiempos de almacenamiento en frío y de los diferentes estados de madurez de los tres tratamientos de preenfriado.

Cuadro 2. Parámetros de calidad de uva 'Princess', 'Flame' y 'Thompson'

	Princess	Flame	Thompson
Dímetros	*T = 19.2 mm *L = 23.8 mm	*T = 19.9 mm *L = 19.9 mm	*T = 17.0 mm *L = 25.0 mm
Acidez	0.8 – 1.1 % (20 a 14° B)	0.6 % (18° B)	0.6 % (20.3° B)
pH	4.6-3.4 (20 a 14° B)		3.31 (20.3° B)

* T= Transversal L= longitudinal

Fuente: Striegler *et al.*, 1997; Peacock and Simpson, 1998.

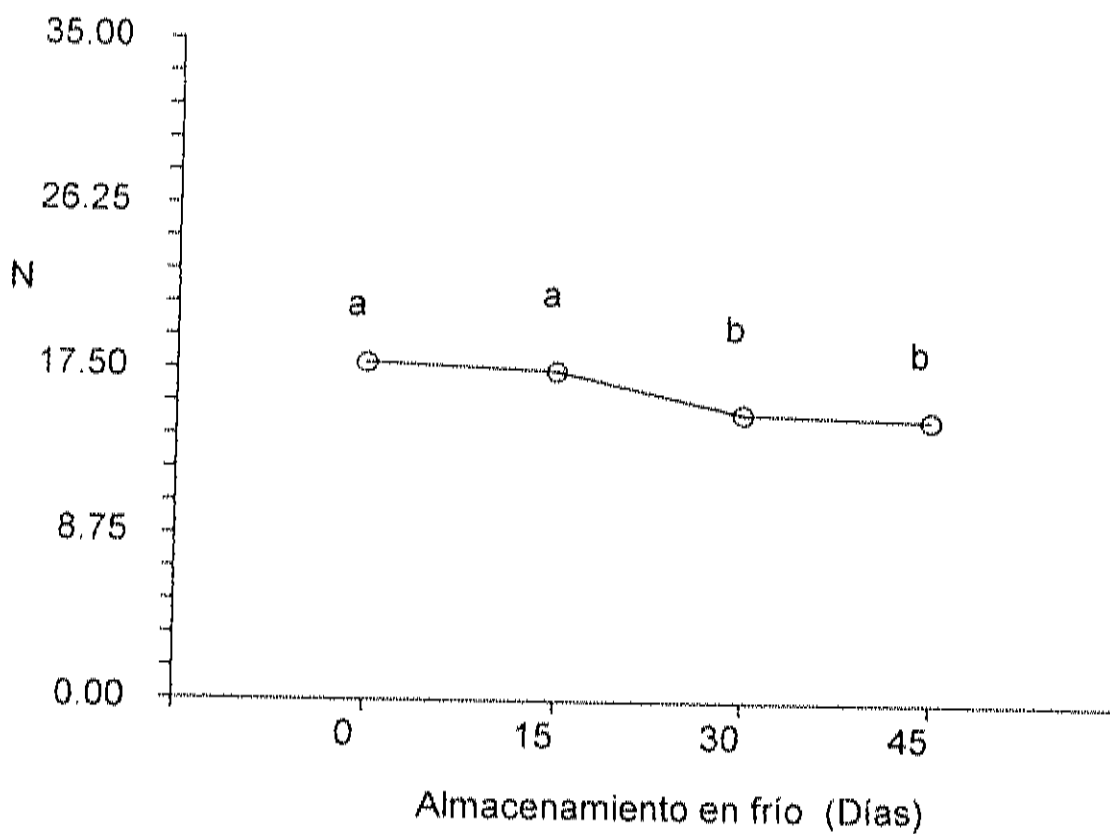


Figura 5. Firmeza (Newtons) de uva Princess durante el almacenamiento en frío independientemente del grado de madurez. Separación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$).

En relación al grado de madurez no se encontró una tendencia en la textura de uva 'Princess'. Vargas *et al.* (1997) reporta que no existe un alto nivel de relación entre el contenido de sólidos solubles totales y la textura de la uva.

Lo anterior se puede notar en las Figuras 6.1, 6.2, 6.3 y 6.4 al comparar el tiempo de almacenamiento en frío a 0° C para uvas en los diferentes grados de madurez probados (Aquí se muestran los rangos de madurez de 14-15 y 22-23° Brix). También se puede observar que la textura no tiene mucha variación en los días transcurridos a 20° C después del almacenamiento, y que casi no se observan diferencias entre los tipos de preenfriado. En este último caso se observa más variación entre los tratamientos a los 30 y 45 días de almacenamiento en frío en uvas de 22-23° Brix, sin observarse una tendencia definida (Figura 6.2).

Pardeamiento

No se produjo pardeamiento interno en ninguno de los tratamientos en ningún estado de madurez. Sin embargo, se observó pardeamiento externo a medida que se incrementó el grado de madurez (grados Brix). Como se dijo anteriormente, el contenido de fenoles aumenta con la madurez y éste es un factor muy importante para el desarrollo del pardeamiento. Por otro lado, Lee *et al.* (1983) y Weemaes *et al.* (1998), mencionan que el pH óptimo en el cual la PPO de la uva tiene la mayor actividad es alrededor de 6.0, lo cual nos hace pensar que el manchado es producido por la activación de la PPO al incrementarse el pH del fruto a medida que va madurando (ver Figura 3).

Porcentaje de Pérdida de Peso

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al porcentaje de pérdida de peso. Sin embargo, si hubo diferencia significativa entre los diferentes estados de madurez y almacenamiento en frío (Cuadros 3 y 4). En los rangos de 16-17° B y 14-15° B, los porcentajes de pérdida de peso diario son mayores de 1, mientras que en las uvas más maduras se observa un porcentaje menor a 1. Las uvas maduras contienen mayor cantidad de sólidos solubles totales y por lo tanto menor agua que perder. Además se reporta que existe una gran pérdida de humedad en raquis inmaduros por el alto contenido de agua y su menor lignificación (Carvajal-Millan *et al.*, 2001), lo cual concuerda con las observaciones anteriores.

Así mismo, al aumentar el tiempo de almacenamiento a 0° C en las cámaras de refrigeración, el porcentaje de pérdida de humedad diaria disminuye gradualmente ya que la uva almacenada contiene menor cantidad de agua porque ya ha utilizado parte de sus sustratos debido a su metabolismo. La uva continúa respirando, aunque a una tasa muy baja, utilizando carbohidratos y oxígeno para producir dióxido de carbono, calor y vapor de agua (Nelson, 1985).

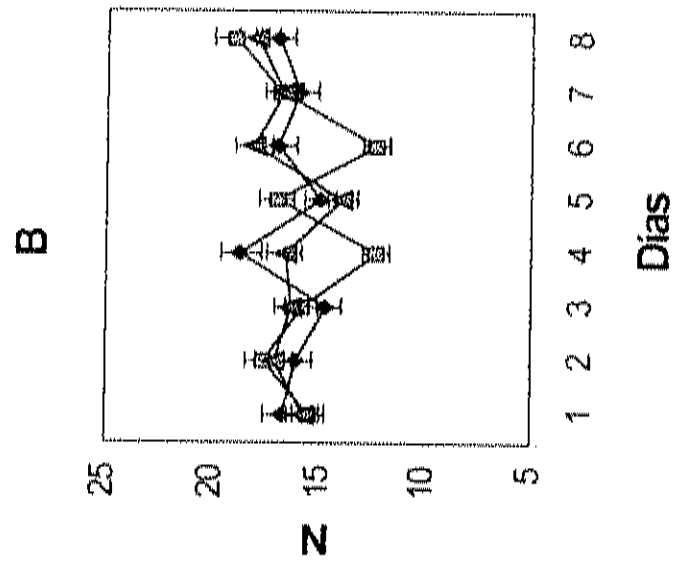
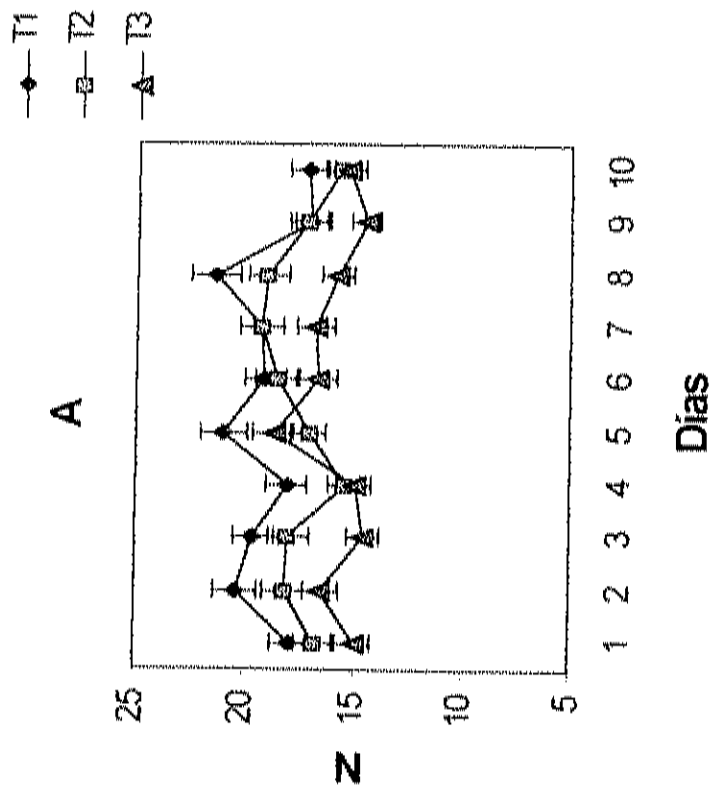


Figura 6.1. Firmeza de uva 'Princess' de 14-15° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 0 (A) y 15 (B) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

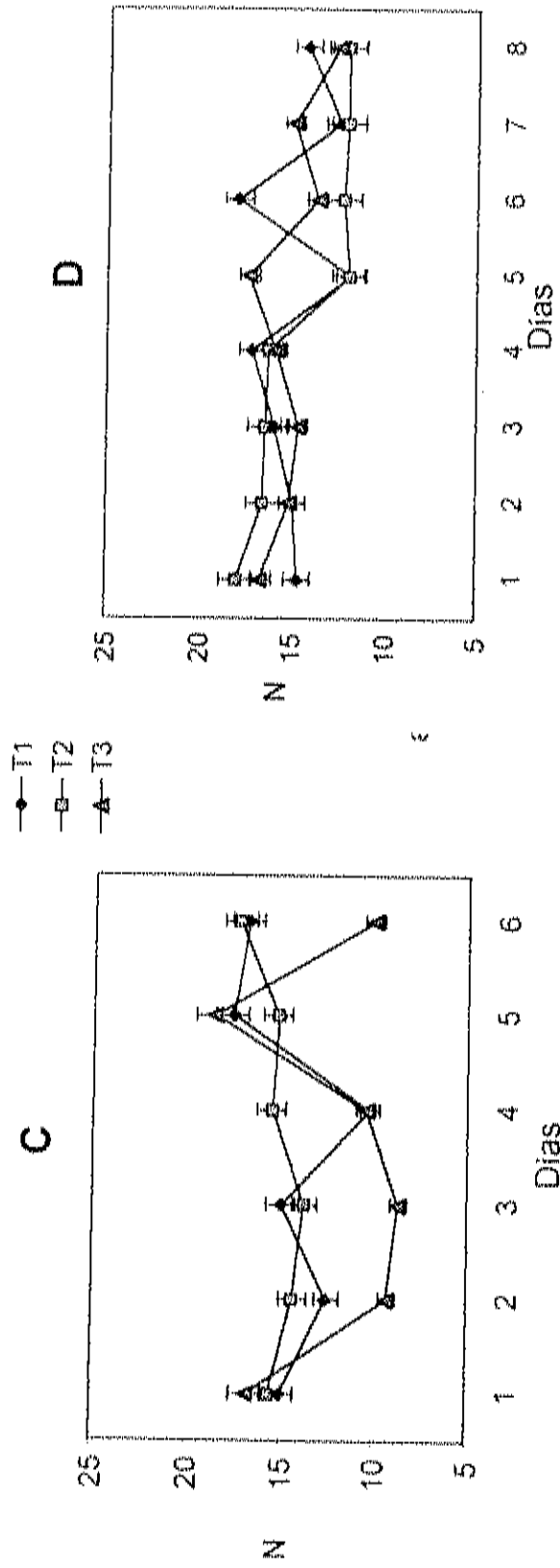


Figura 6.2. Firmeza de uva 'Princess' de 14-15° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 30 (C) y 45 (D) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

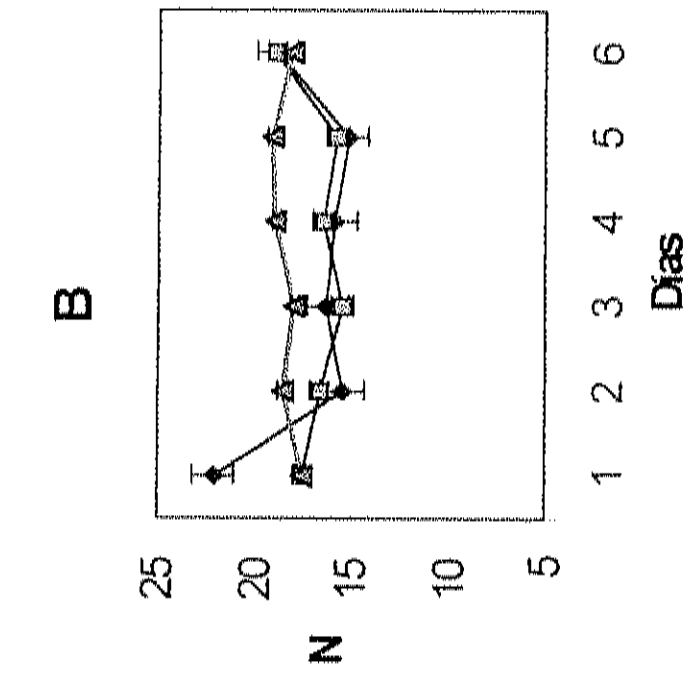
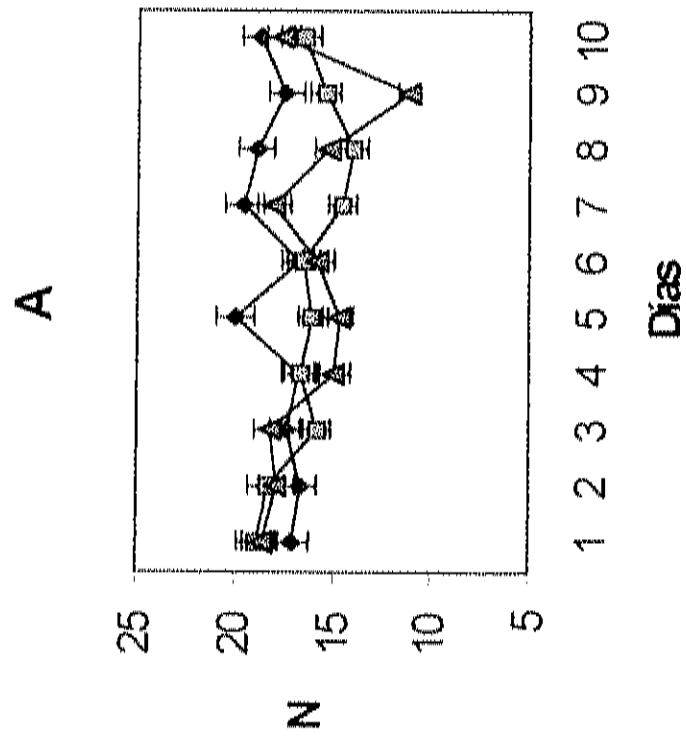
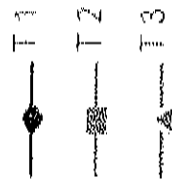


Figura 6.3. Firmeza de uva 'Princess' de 22-23° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 0 (A) y 15 (B) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

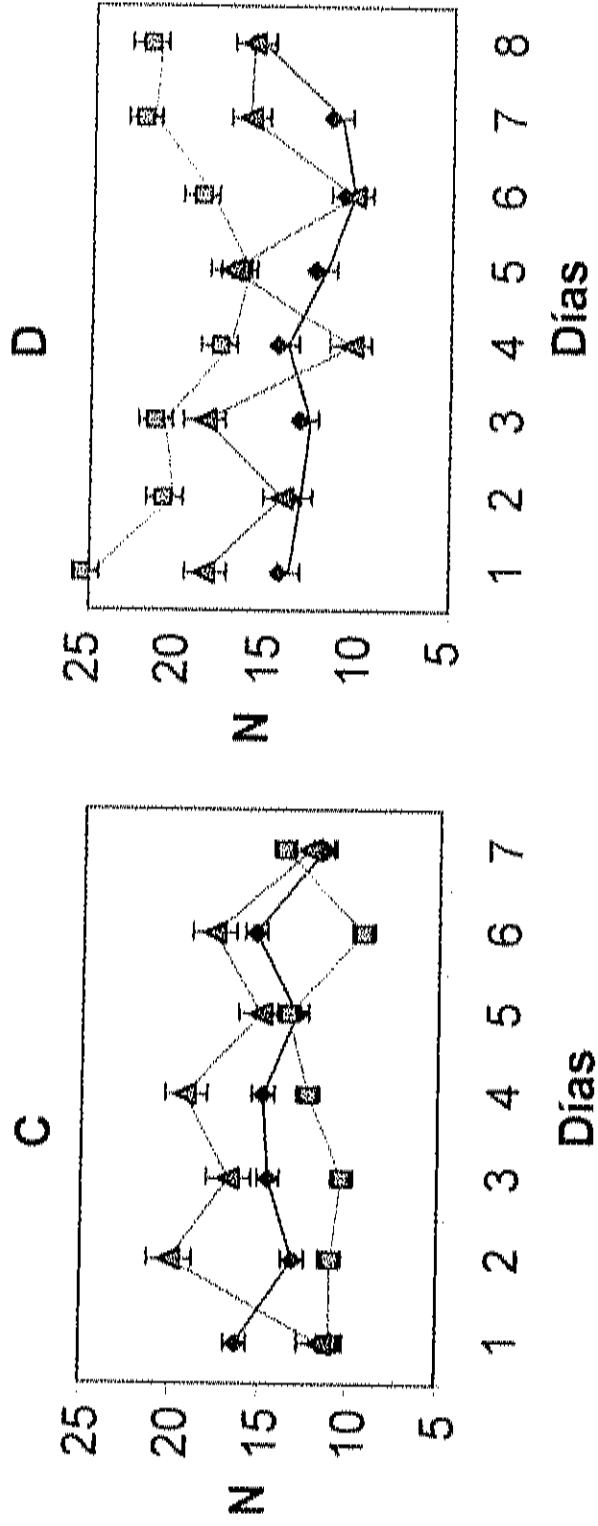
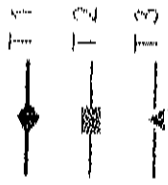


Figura 6.4. Firmeza de uva 'Princess' de 22-23° Brix evaluada a 20° C después de almacenarse a 0° C por 30 (C) y 45 (D) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

Cuadro 3. Porcentaje de pérdida de peso diario en racimos de uva 'Princess' a diferentes rangos de madurez, sin tomar en cuenta el tiempo de almacenamiento en frío.

Grados Brix	% Pérdida Peso*
16-17	1.14 ^b
14-15	1.06 ^a
18-19	0.85 ^c
20-21	0.82 ^c
22-23	0.72 ^d

Valores con distinta letra son estadísticamente diferentes. Separación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$)

Cuadro 4. Porcentaje de pérdida de peso diario en racimos de uva 'Princess' a diferentes días de almacenamiento en frío a 0° C. sin tomar en cuenta el grado de madurez.

Almacenamiento en frío	% Pérdida Peso*
0 Días	1.18 ^a
15 Días	0.93 ^b
30 Días	0.91 ^b
45 Días	0.67 ^c

* Valores con distinta letra son estadísticamente diferentes. Separación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$)

Tasa de Respiración

Las medias de las tasas de respiración de los racimos fueron mayores a los 0 y 15 días de almacenamiento (43 y 46 mL CO₂ / kg-h) que a los 30 y 45 días (38 y 23 mL CO₂ / kg-h respectivamente) sin tomar en cuenta el estado de madurez (Cuadro 5). Sin embargo, se puede observar en las uvas de todos los rangos de madurez que al principio (uvas sin refrigerar) las tasas de respiración son altas (hasta 65 mL CO₂ / kg-h) y en las últimas etapas (45 días de refrigeración) las tasas disminuyen hasta alrededor de 20 mL CO₂ / kg-h (Figuras 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5 y 7.6). Es de suponerse que disminuyan las tasas de respiración a medida que los frutos avancen en el proceso de senescencia. La uva es un ser vivo, y como tal está utilizando los compuestos orgánicos, disminuyendo así los sustratos para la generación de dióxido de carbono. No se encontraron diferencias entre los diferentes estados de madurez en su tasa de respiración.

Cuadro 5. Tasa de respiración en racimos de uva 'Princess' a diferentes días de almacenamiento en frío a 0° C, sin tomar en cuenta el grado de madurez.

Almacenamiento en frío	mL CO ₂ / kg-h *
0 Días	42.62 a
15 Días	46.46 a
30 Días	38.05 b
45 Días	22.91 c

* Valores con distinta letra son estadísticamente diferentes. Separación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$).

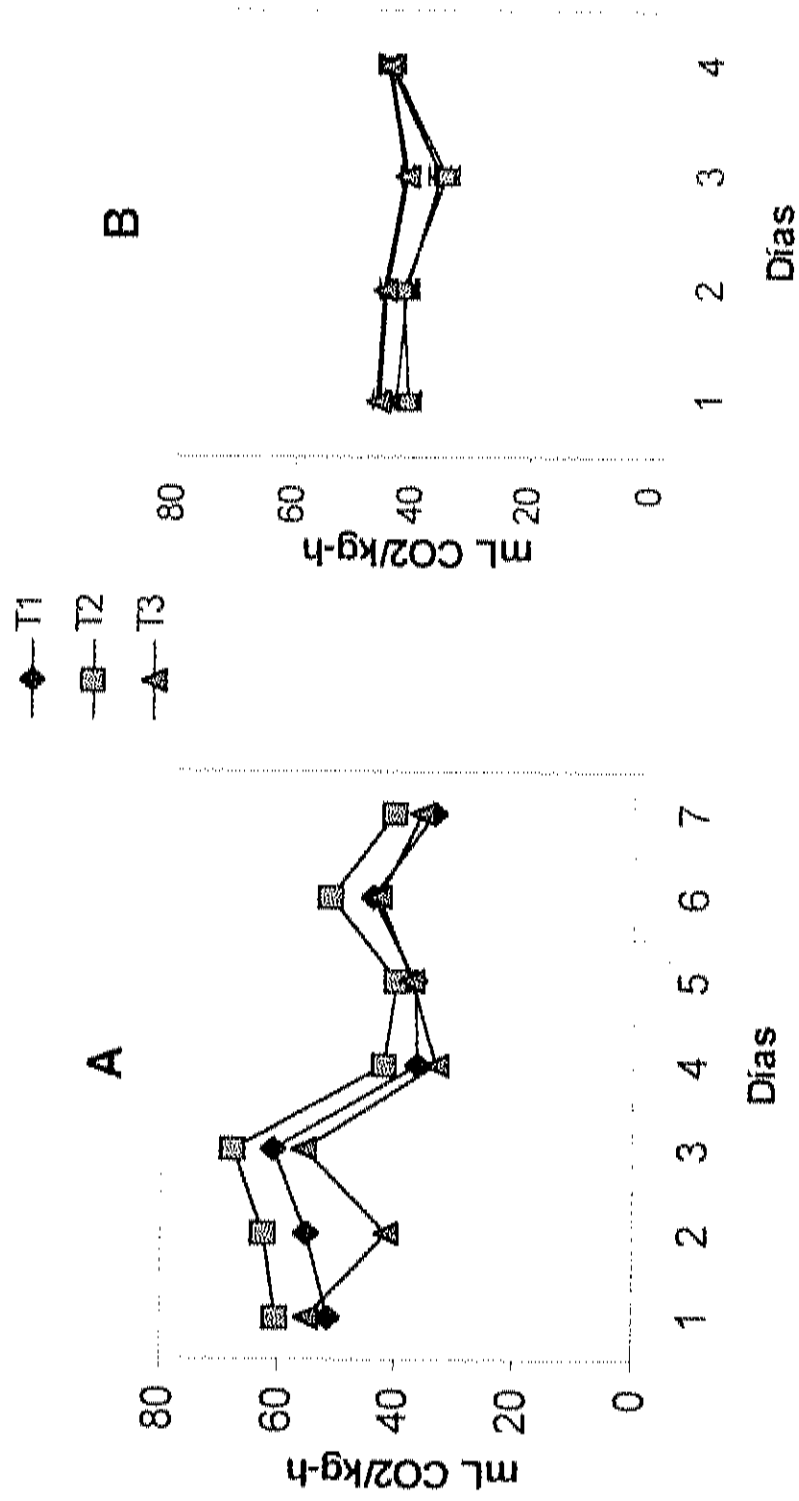


Figura 7.1. Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 14-15° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 0 (A) y 15 (B) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

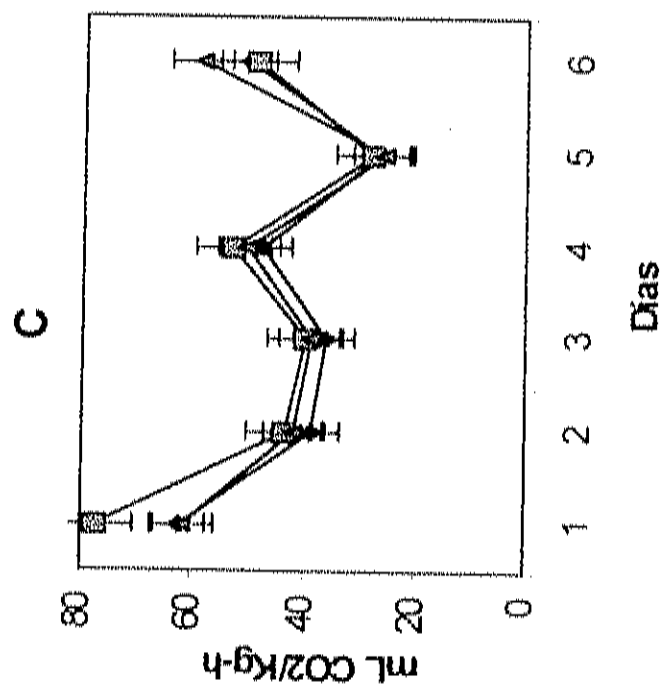
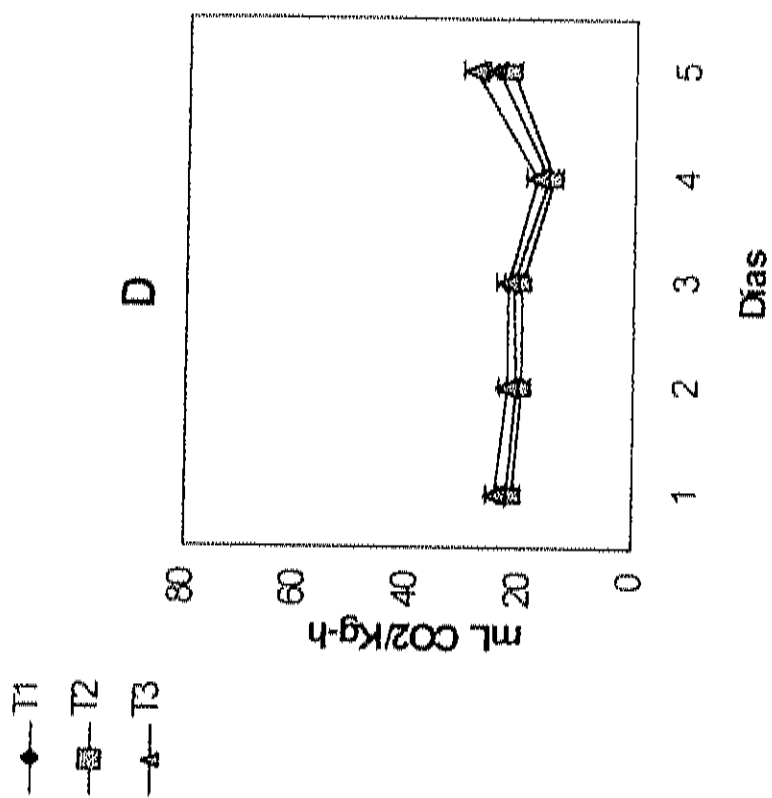


Figura 7.2. Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 14-15° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 30 (C) y 45 (D) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

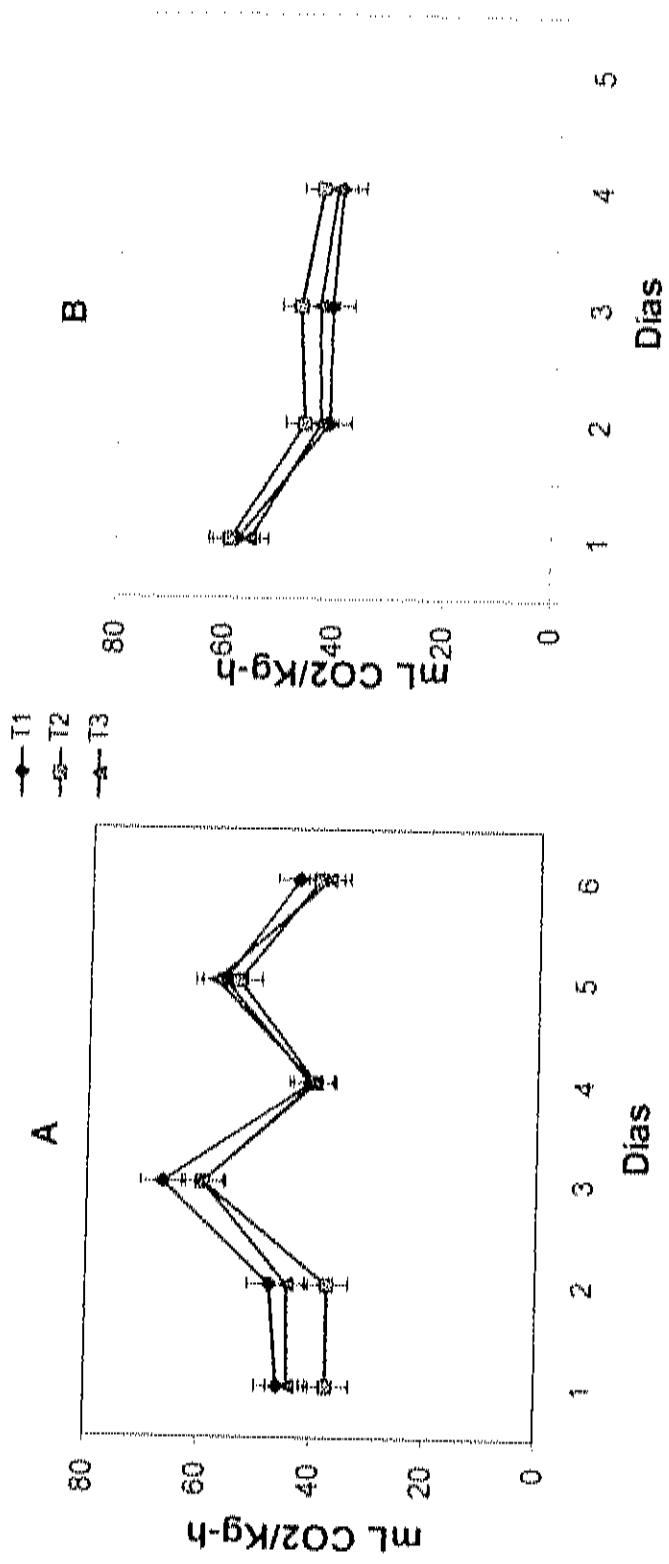


Figura 7.3. Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C de 18-19° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 0 (A) y 15 (B) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

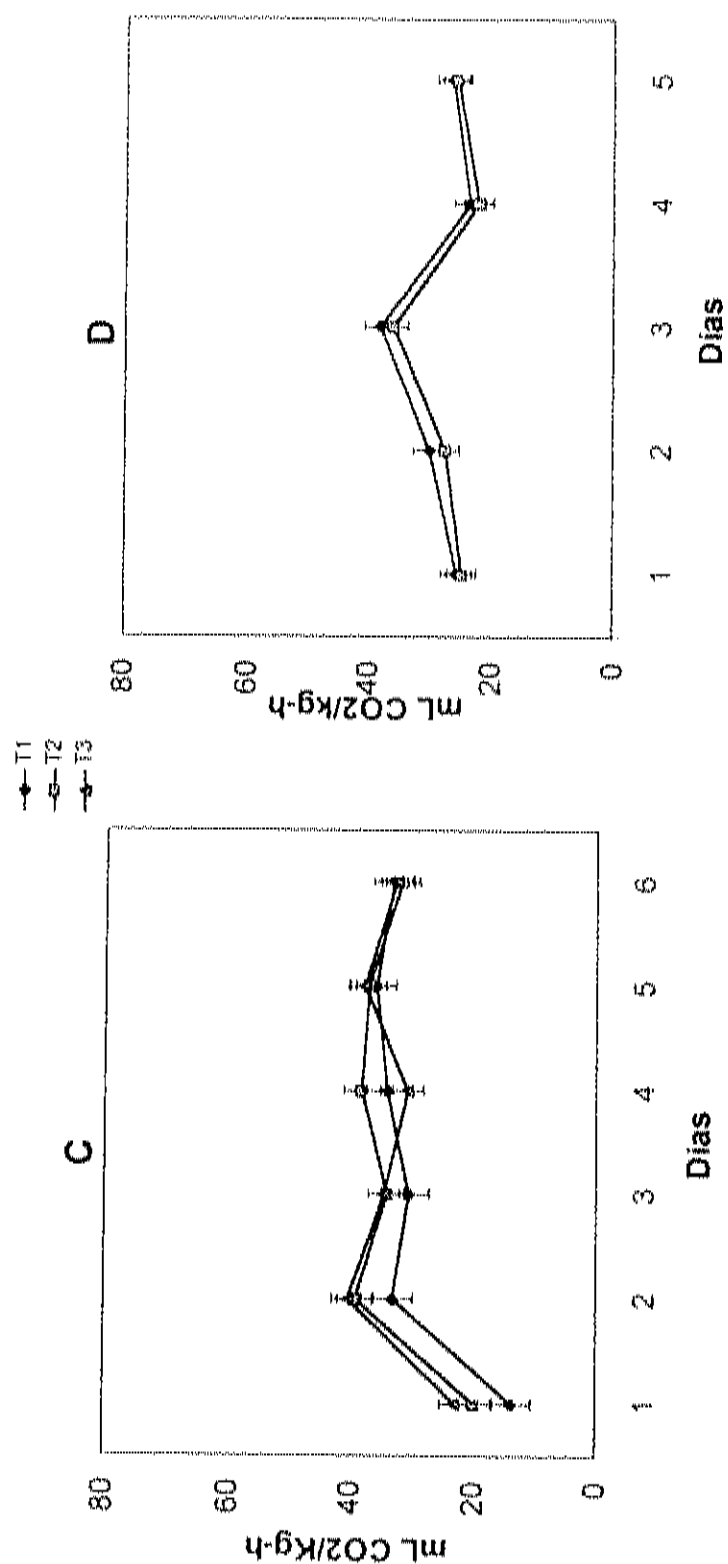


Figura 7.4. Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C, de 18-19° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 30 (C) y 45 (D) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

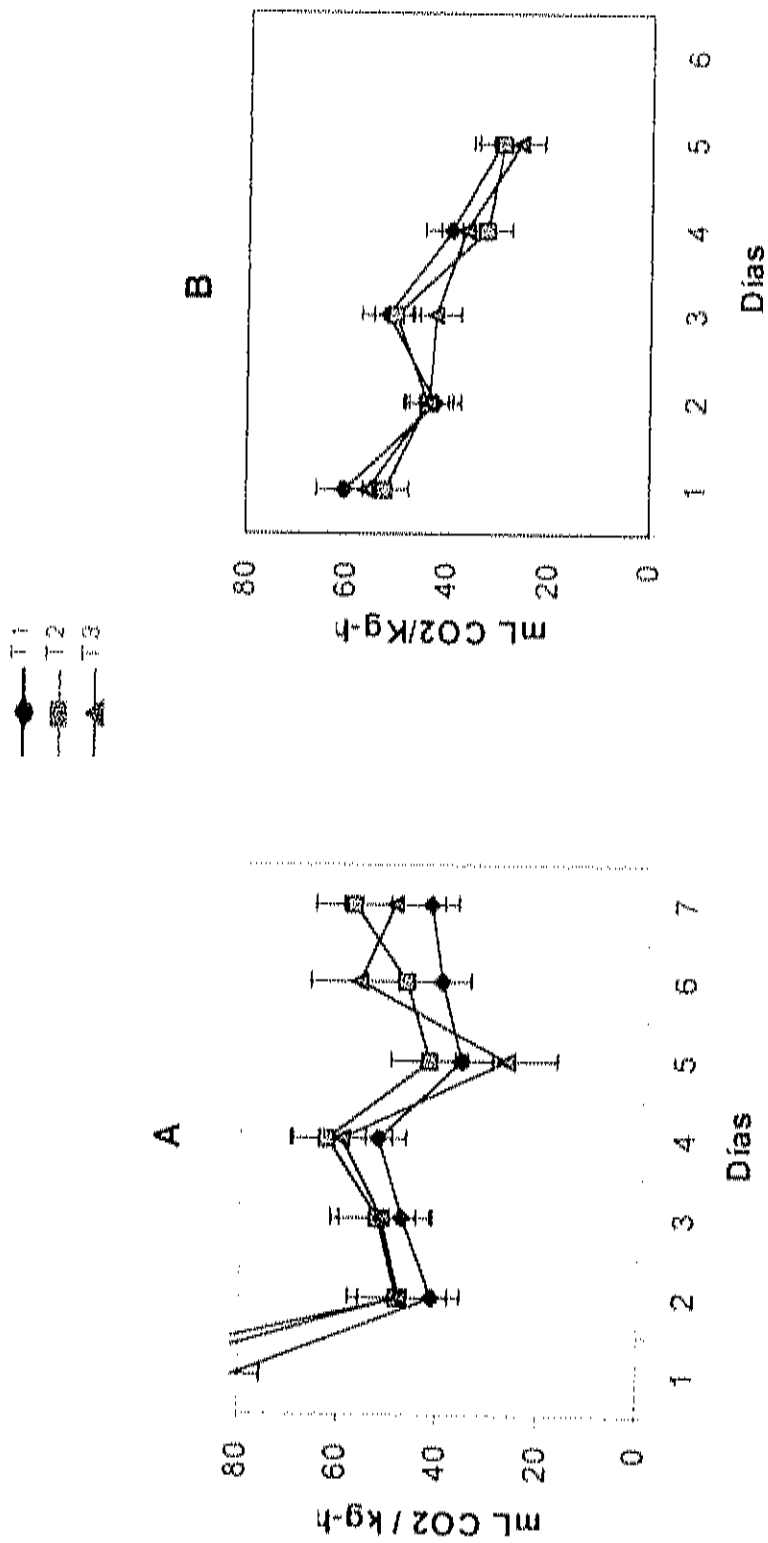


Figura 7.5. Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C, de 22-23° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 0 (A) y 15 (B) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

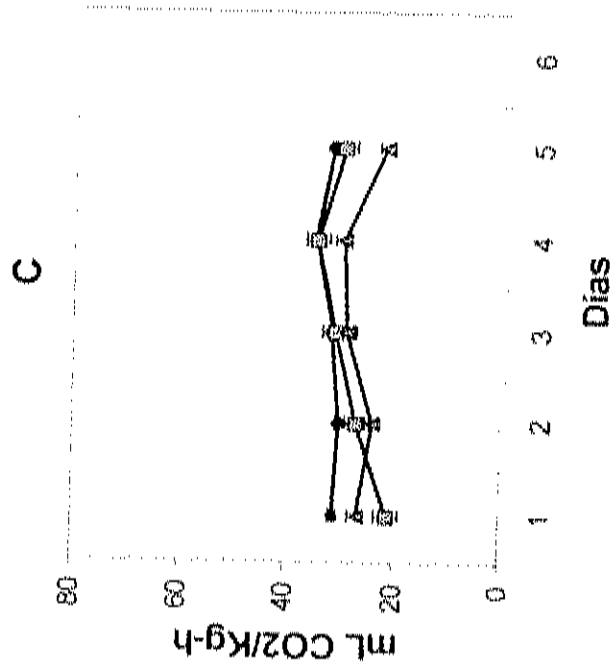
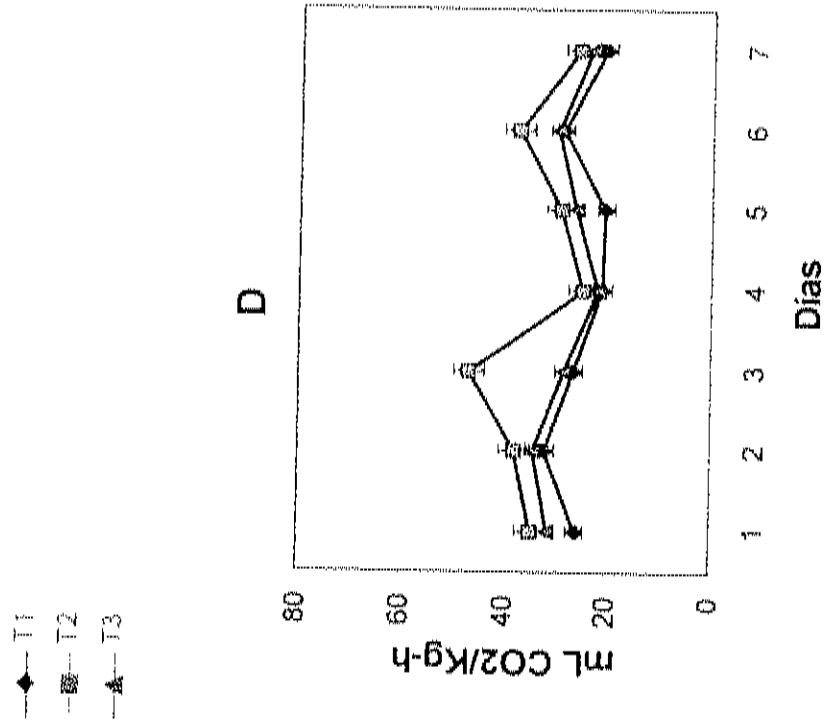


Figura 7.6. Tasa de respiración de uva 'Princess' a 20° C, de 22-23° Brix, después de almacenarse a 0° C durante 30 (C) y 45 (D) días. (Las barras verticales para cada día significan la diferencia mínima significativa entre los tratamientos con $p \leq 0.05$).

Etileno

No hubo presencia de etileno en ninguno de los tratamientos, a excepción de aquellos racimos en los que hubo bayas dañadas por hongos o daño mecánico, en los cuales sólo se detectaron trazas. Esto es normal, ya que la uva es un fruto no climatérico con una producción muy baja de este gas (menos de $0.1 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 / \text{kg-h}$) (Winkler *et al.*, 1984; Kader, 2002).

Fenoles

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de preenfriado en relación al contenido de fenoles totales. Sin embargo, sí las hubo en cuanto al estado de madurez, ya que a medida que éste es mayor, se incrementa el contenido de fenoles (Figura 8). Las uvas de 16-17° B promediaron 183 mg/kg de fenoles totales, no encontrándose diferencia significativa con las de 14-15° B (194 mg/kg). Las más maduras, de 22-23° B, promediaron 321 mg/kg, y fueron diferentes a las primeras. Ésta podría ser una razón de que el pardeamiento es mayor en uvas más maduras. Sapis *et al.* (1983 b) mencionan que el contenido de sustrato para la PPO parece ser de capital importancia para este problema, y éste se incrementó con el estado de madurez.

A los 15 días de almacenamiento a 0° C se presentó un incremento en el contenido de fenoles totales. De 212 mg/kg a los 0 días hasta 278 mg/kg a los 15 días, para posteriormente disminuir hasta 248 mg/kg a los 30 y 45 días (Figura 9). Posiblemente en los primeros días de almacenamiento en frío, a medida que se incrementó el sustrato, éste empieza a reaccionar con la enzima

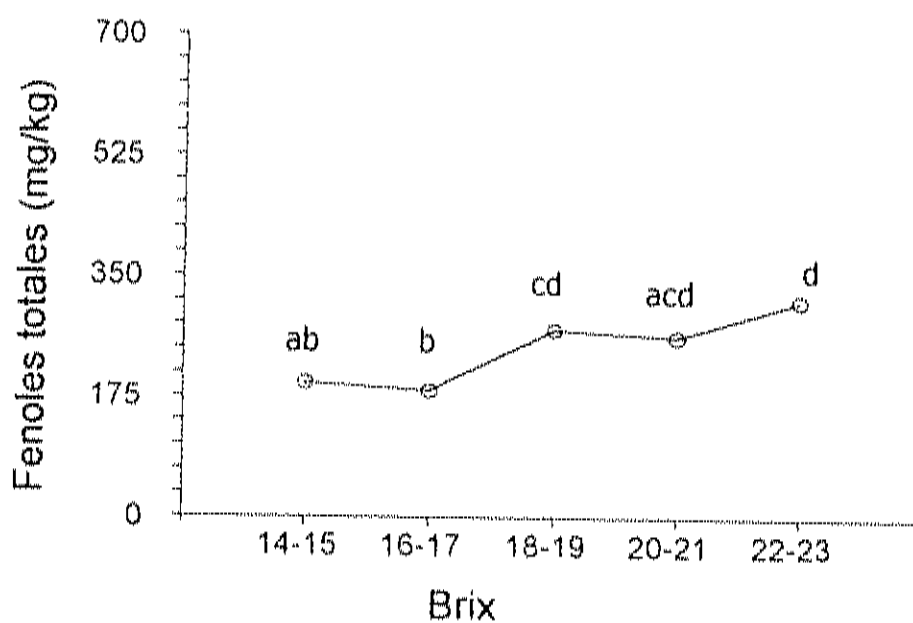


Figura 8. Concentración de fenoles totales en uva 'Princess' de diferentes estados de madurez (grados Brix), sin importar los días de almacenamiento en frío. Medias con la misma letra son significativamente iguales según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

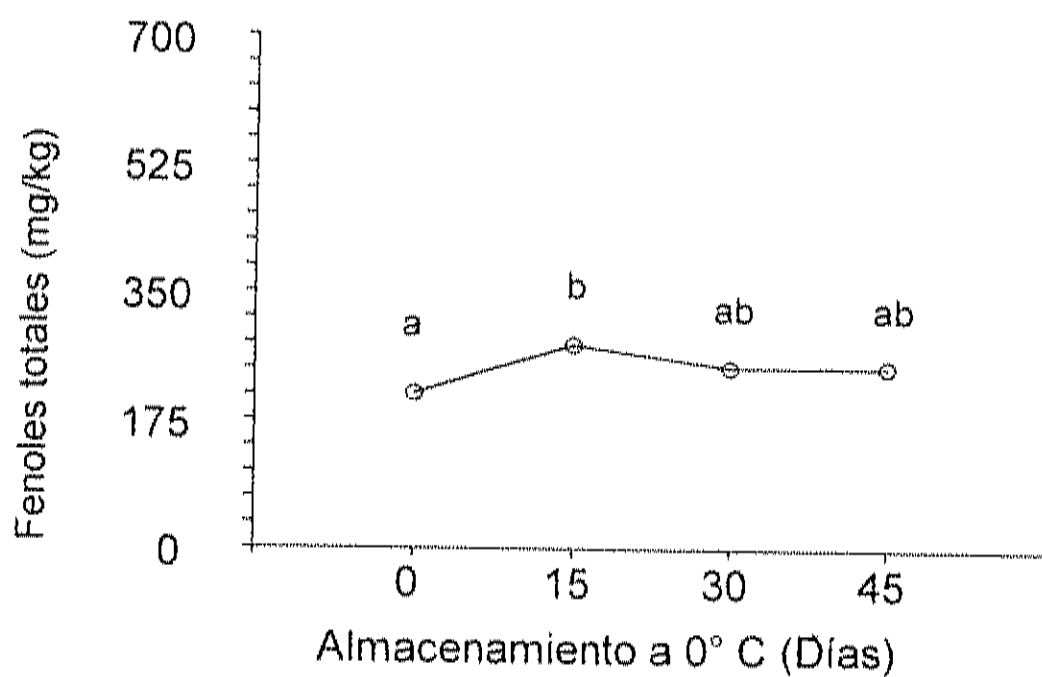


Figura 9. Concentración de fenoles totales en uva 'Princess' durante el almacenamiento a 0° C. Medias con la misma letra son significativamente iguales según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

y al saturarse comienza a disminuir, presentándose el desencadenamiento de la reacción y sus efectos en el pardeamiento a medida que aumentaron los días de almacenamiento.

El valor promedio de fenoles totales encontrado en uva 'Princess', incluyendo los distintos grados de madurez y tiempos de almacenamiento, fue de 246 mg/kg. Kanner *et al.* (1994) reportaron 260 mg/kg en uva 'Thompson', variedad de mesa de color verde, similar a 'Princess', utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu. Cantos *et al.* (2002), reportaron valores menores para uvas verdes (136 mg/kg para 'Superior' y 145 mg/kg para 'Moscatel Itálica') utilizando cromatografía líquida con arreglo de diodos-masas-masas. Lógicamente estas mediciones son más reales ya que se aislaron compuestos puros y no existen interferencias de otros productos como azúcares, ácido ascórbico, aminas aromáticas, etc., como sucede en el primer caso (Meyer *et al.*, 1997).

Polifenoloxidasas

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de preenfriado en la actividad de la polifenoloxidasas, pero sí las hubo en los días de almacenamiento en frío, disminuyendo su actividad a medida que se incrementó el tiempo de almacenamiento (Figura 10). Probablemente, esta disminución se debe a que esta enzima empieza a actuar con los compuestos fenólicos al descender la temperatura de la fruta con el enfriamiento. Estos resultados son opuestos a lo encontrado por Pool y Weaver (1970) en uva 'Thompson Seedless', donde se incrementó la actividad de PPO, así como el pardeamiento interno, a medida que aumentó el período de almacenamiento a

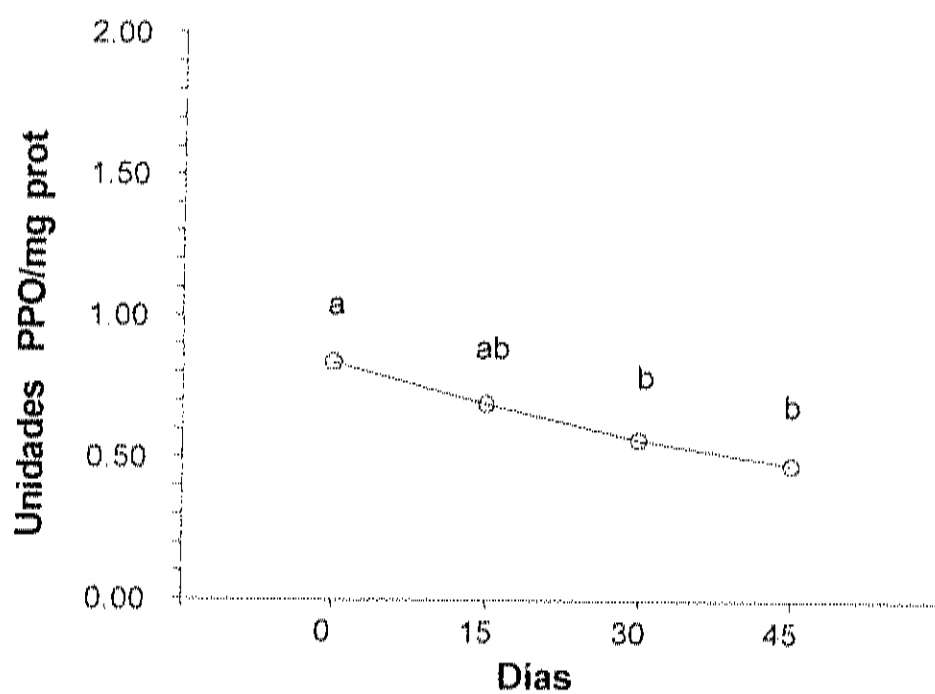


Figura 10. Actividad de PPO durante el almacenamiento de uva Princess en frío. Medias con la misma letra son significativamente iguales según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

0° C. Lo mismo sucede en el trabajo de Carvajal-Millán (2001) en uva 'Flame Seedless', aunque cabe aclarar que en ambos casos se aplicaron reguladores de crecimiento que no se aplicaron en nuestro experimento. Además, en el primer caso se trabajó con bayas separadas del racimo, no con racimos completos, como en este estudio, y en el segundo se trabajó sólo con raquis sin bayas.

En cuanto a los diferentes grados de madurez, no hubo diferencia entre ellos, a excepción de las bayas que sobrepasaron los 22° B, donde la actividad de la PPO fue menor (0.46 unidades) que en las menos maduras (0.78 unidades) (Figura 11). Sánchez-Ferrer *et al.* (1989), establecen que la evolución de la PPO en maduración es algo compleja ya que intervienen una gran cantidad de factores (clima, contenido de fenoles, cambios en la síntesis de proteínas). Sin embargo, existe discrepancia entre algunos autores respecto a este tema. Sapis *et al.* (1983 b), mencionan que en variedades de uva blanca como la 'Ugni Blanc' y 'Clairette' se incrementa la actividad de la PPO durante el envero, pero disminuye al madurar. Esta actividad es similar a los resultados obtenidos en nuestro trabajo. En el trabajo de Carvajal-Millán *et al.* (2001) en raquis de uva, la actividad de PPO se incrementa después de la madurez comercial.

Por otro lado, Pool y Weaver (1970) no encontraron relación entre madurez y actividad de PPO. Estas diferencias se pueden explicar por los diferentes pH utilizados por los distintos autores y por los diferentes métodos de extracción de la enzima. Algunos utilizan tritón como detergente, otros utilizan policlar, por ejemplo. Otros cambian las temperaturas de extracción (Sánchez-Ferrer *et al.*, 1989).

Cuando la actividad se midió solamente en unidades de PPO por g de peso fresco, ésta disminuyó a los 15 días de almacenamiento en frío y así se mantuvo a los 30 y 45 días (Figura 12). Probablemente se inició la reacción de la enzima con el sustrato al iniciar el almacenamiento en frío y cuando se llegó al punto de saturación, alrededor de los 15 días, su actividad fue disminuyendo gradualmente, aunque la inducción del manchado ya se había presentado. Es por esta razón que la uva tiene un mayor pardeamiento a medida que avanza el tiempo de almacenamiento en frío. Castelo (2001) detectó el manchado de la fruta alrededor de los 20 días en el cuarto frío, desde la primera cosecha.

En relación al peso fresco, la actividad de PPO se incrementó a medida que aumentó la madurez de la fruta, como sucede en el caso de Carvajal-Millán *et al.* (2001), solamente que volvió a disminuir de nuevo después de los 18-19° B (Figura 13).

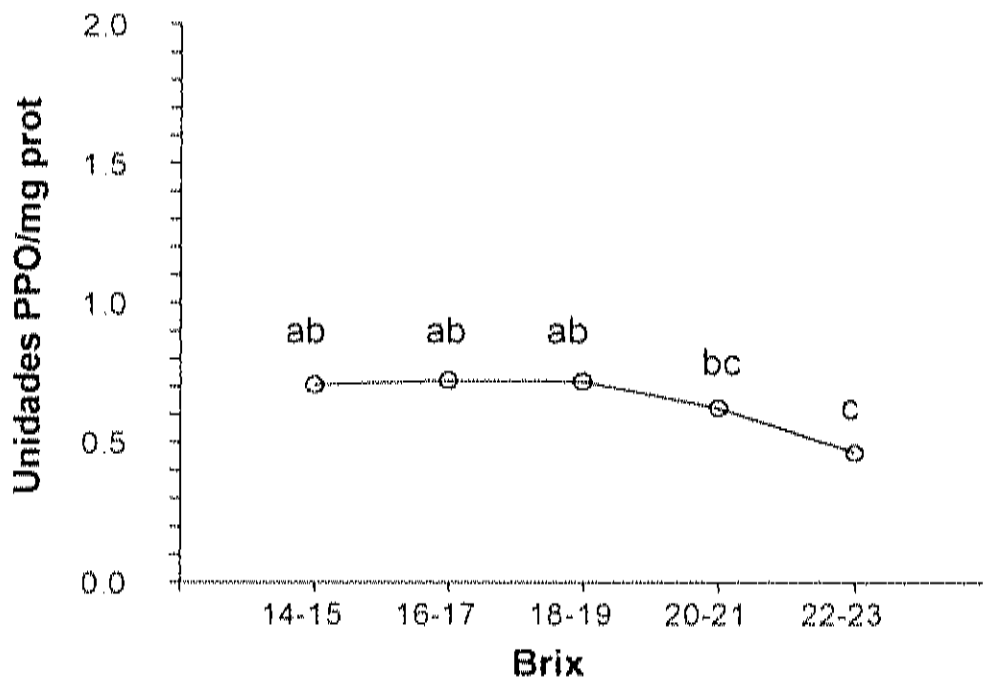


Figura 11. Actividad de polifenoloxidasas en uva 'Princess' a diferentes estados de madurez. Medias con la misma letra son significativamente iguales según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

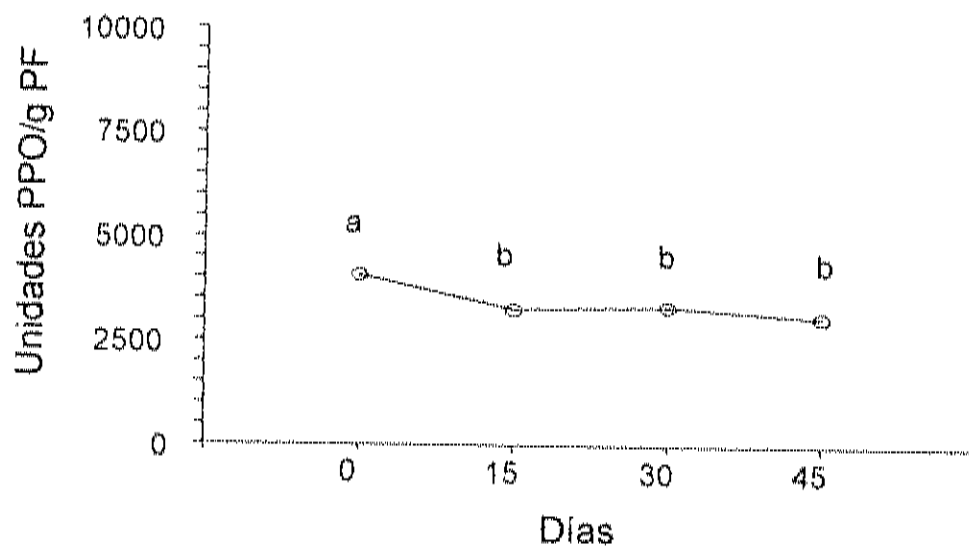


Figura 12. Actividad de polifenoloxidasa en uva 'Princess' durante el almacenamiento en frío. La actividad de PPO es en base a **peso fresco**. Medias con la misma letra son significativamente iguales según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

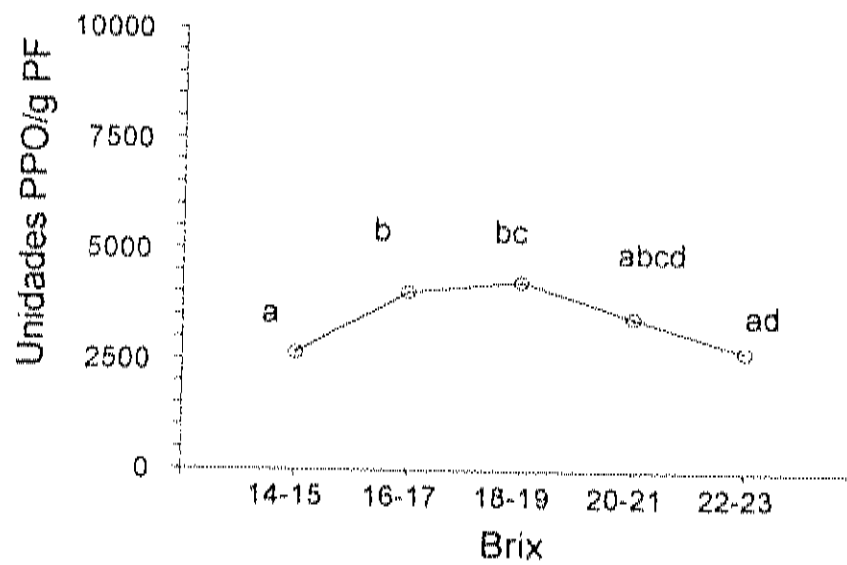


Figura 13. Actividad de polifenoloxidasa en uva 'Princess' a diferentes estados de madurez. La actividad de PPO es en base a **peso fresco**. Medias con la misma letra son significativamente iguales según prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias entre los tratamientos de preenfriado en cuanto a firmeza, pérdida de peso, respiración, fenoles totales y polifenoloxidasas.

A mayor madurez de la fruta y mayor tiempo de almacenamiento a 0° C, mayor pardeamiento y menor porcentaje de pérdida de peso

A mayor tiempo de almacenamiento a 0° C, disminuye la firmeza de las bayas y la tasa de respiración

BIBLIOGRAFÍA

- AALPUM. 2003. Información estadística. Hermosillo, Sonora, México. <http://www.aalpum.com.mx>. Marzo 2003.
- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 14th Ed. Williams S. Ed. Association of Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Bourne, M. C. 1980. Texture evaluation of horticultural crops. HortScience 15: 7-13
- Cantos, E., J. C. Espín, F. A. Tomás-Barberán. 2001. Postharvest induccion modeling method using uv irradiation pulses for obtaining resveratrol-enriched table grapes: a new "functional" fruit? J. Agric. Food Chem. 49: 5052-5058.
- Cantos, E., J. C. Espín, F. A. Tomás-Barberán. 2002. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. J. Agric. Food Chem. 50: 5691-5696.
- Carvajal-Millán, E., T. Carballo, J. A. Orozco, M. A. Martínez, I. Tapia, V. M. Guerrero, A. Rascón-Chu, J. Llamas, and A. A. Gardea. 2001. Polyphenol oxidase activity, color changes, and dehydration in table grape rachis during development and storage as affected by N-(2-Chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea. J. Agric. Food Chem. 49: 946-951.
- Castelo, P. 2001. Comunicación personal. Grupo Castelo, Hermosillo, Sonora, México.
- Coombe, B. G. 1992. Research on development and ripening of the grape berry. Am. J. Enol. Vític. 43: 101-110.
- Davies, C. and S. P. Robinson. 1996. Sugar accumulation in grape berries. Cloning of two putative vacuolar invertase cDNAs and their expression in grapevine tissues. Plant Physiol. 111: 275-283.
- Díaz- Pérez J. C. and E. Araíza. 1997. Changes in transpiration rates and skin permeance as affected by storage and stage tomato fruit ripeness. 7th

- International Controlled Atmosphere Research Conference, July 13-18. U. C. Davies. U.S.A.
- Dokoozlian, N., B. Peacock, D. Luvisi, S. Vasquez. 2000. Cultural practices for melissa table grapes. Univ. of Calif., Cooperative Extension. Pub. TB 15-00.
- Famiani F., R. P. Walker, L. Tecsí, Z. H. Chen, P. Proietti, R. C. Leegood. 2000. An immunohistochemical study of the compartmentation of metabolism during the development of grape (*Vitis vinifera* L.) berries. *Journal of Experimental Botany* 51: 675-683.
- Flurkey W. H. and J. J. Jen. 1978. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science* 43: 1826-1831.
- Frankel E. N., C. A. Bosanek, A. S. Meyer, K. Silliman, L. L. Kirk. 1998. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* 46: 834-838.
- Frankel E. N., A. L. Waterhouse, P. L. Teissedre. 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* 43: 890-894.
- García-Robles, J. M., E. Bringas –Taddei, A. M. Mendoza-Wilson, R. Báez-Sañudo. 2003. Estudios fisiológicos asociados a la deshidratación del raquis de uva de mesa. *Rev. Iber. Tecnología de Postcosecha* Vol 5 (1): 43-59.
- Gardea A. A., M. A. Martínez-Tellez, A. Sánchez, M. Baez, J. H. Siller, G. González, R. Baez, C. H. Crisosto, S. Criddle. 1994. Post-harvest weight loss of flame seedless clusters. *International Symposium on Table Grape Production*, Anaheim, CA.
- Hicks, K. B., R. M. Haines, B. S. Tong, G. M. Sapers, Y. El-Atawy, P. L. Irwin, P. A. Seib. 1996. Inhibition of enzymatic browning in fresh fruit and vegetable juices by soluble and insoluble forms of β -cyclodextrin alone or in combination with phosphates. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2591-2594.
- Hulme A.C. 1971. *The Biochemistry of Foods and Their Products*, Vol 2. Academic Press, London, U. K., pp 171-205.

- Kader, A. A. 2002. Postharvest technology of horticultural crops. Oakland, Univ. Calif. Div. Ag. and Nat. Res. Publ. 3311. 535 pp.
- Kanner, J., E. Frankel, R. Granit, B. German, J. E. Kinsella. 1994. Natural antioxidants in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.* 42: 64-69.
- Lamikaura, O. 1995. Enzymatic browning of muscadine grape products, in *Enzymatic Browning and Its Prevention*. ACS Symposium Series. Washington, D. C. pp. 166-177.
- Lee, C.Y., N. L. Smith, P. Pannesi. 1983. PPO from de Chaunac grapes. *J. Sci. Food Agric.* 34: 987-991.
- López-Serrano, M. and A. Ros-Barceló. 2001. Histochemical localization and developmental expression of peroxidase and polyphenol oxidase in strawberries. *J. Amer. Soc. Hort Sci.* 126: 27-32.
- Macheix, J. J., J. C. Sapis, A. Fleuriet. 1991. Phenolic compounds and PPO in relation to browning in grapes and wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 30: 441-486.
- Martínez Tellez, M. A. 1993. Estudio de los cambios bioquímicos y fisiológicos inducidos por el almacenamiento a bajas temperaturas en frutos cítricos. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España. pp. 59-62
- Meyer, A. S., O. S. Yi, D. A. Pearson, A. L. Waterhouse, E. N. Frankel. 1997. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.* 45: 1638-1643.
- Murga R, R. Ruiz, S. Beltrán, J. L. Cabezas. 2000. Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3408-3412.
- Nelson, K. E. 1985. Harvesting and handling California table grapes for market. University of California. Agricultural Experiment Station. Bull. 1913. 72 pp.
- Nii, N. and B. G. Coombe. 1983. Structure and development of the berry and pedicel of the grape *Vitis vinifera* L. *Acta Horticulturae* 139: 129-141.

- Nunan K. J., I. M. Sims, A. Bacic, P. Simon, S. P. Robinson, G. B. Fincher. 1998. Changes in cell wall composition during ripening of grape berries. *Plant Physiol.* 118: 783-792.
- Patil V. K., V. R. Chakrawar, P. R. Narwadkar, G. S. Shinde. 1995. Grape, in *Handbook of Fruit Science and Technology. Production, Composition, Storage and Processing.* Salunke D. K. and Kadam S. S. (Eds), Marcel Dekker Inc, USA. pp 7-38.
- Peacock, B. and T. Simpson. 1998. The relationship between berry weight, length, and width for five table grapes varieties. University of California Cooperative Extension, Tulare County. Publ.#TB1.95.
<http://cetulare.ucdavis.edu/pubgrape/tb195.htm>. Octubre 2003.
- Pool, R. M., and R. J. Weaver. 1970. Internal browning of Thompson seedless grapes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95: 631-634.
- Robards, K., P. D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang, W. Glover. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.
- Romeyer, F. M., J. J. Macheix, J. P. Goiffon, C. C. Reminiac, J. C. Sapis. 1983. The browning capacity of grapes. 3. Changes and importance of hydroxycinnamic acid-tartaric acid esters during development and maturation of the fruit. *J. Agric. Food Chem.* 31: 346-349.
- Saltveit, M. E. and A. R. Sharaf. 1992. Ethanol inhibits ripening of tomato fruit harvested at various degrees of ripeness without affecting subsequent quality. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117: 793-798.
- Sánchez-Ferrer, A., R. Bru, E. Valero, F. Garcia-Carmona. 1989. Changes in pH dependent grape polyphenoloxidase activity during maturation. *J. Agric. Food Chem.* 37: 1242-1245.
- Sapers, G. M. 1993. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. *Food Technology* 10: 75-84.

- Sapis, J. C., J. J. Macheix, R. E. Cordonnier. 1993a. The browning capacity of grapes. I. Changes in polyphenol oxidase activities during development and maturation of the fruit. *J. Agric. Food Chem.* 31: 342-345.
- Sapis, J. C., J. J. Macheix, R. E. Cordonnier. 1983b. The browning capacity of grapes. II. Browning potential and polyphenol oxidase activities in different mature grape varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* 34: 157-162.
- Scalbert, A. and G. Williamson. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition* 130: 2073S-2085S.
- Shewfelt, R. L., S. E. Prussia. 1992. *Postharvest Handling. A Systems Approach.* Academic Press, Inc. p. 234.
- Singleton, V. L. and J. A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158.
- Sriphanich, J. and A. Kader. 1985. Effects of CO₂ on total phenolics, phenylalanine ammonia lyase, and polyphenol oxidase in lettuce tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110: 249-253.
- Smith, P. K., R. I. Krohn, G. T. Hermanson, A. K. Mallia, F. H. Gartner, M. D. Provenzano, E. K. Fujimoto, *et al.* 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* 150: 76-85.
- Striegler, R. K., M. A. Mayse, W. O. Keefe, D. R. Wineman. 1997. Response of Thompson seedless grapevines to sustainable viticultural practices. California Agricultural Technology Institute. CATI Publication # 970102. pp. 1-13
- Vámos-Vigyázó, L. 1981. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 15: 49-127.
- Vargas, A., J. Pérez, J. P. Zoffoli, A. Pérez. 1997. Evolución de la textura de bayas de uva del cv. Thompson seedless. Pontificia Universidad Católica de Chile. <http://www.faii.puc.cl/postgrado/cienciainv/pdf/agro>. Septiembre, 2003.
- Vinson, J. A., Y. Hao., X Su, L. Zubik. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 46: 3630-3634.

- Wakayama, T. 1995. Polyphenol oxidase activity in Japanese apples, in *Enzymatic Browning and Its Prevention*. ACS Symposium Series Washington, D. C. pp 251-266.
- Walker, J. R. L. 1995. Enzymatic browning in fruits: its biochemistry and control, in *Enzymatic Browning and Its Prevention*. ACS Symposium Series. Washington, D. C. pp. 8-22.
- Walker, J. R. L. and P. H. Ferrar. 1998. Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance. *Biotechnology and Genetics Engineering Reviews* 15: 457-486.
- Weemaes, C. A., L. R. Ludikhuyze, I. Van den Broeck, M. E. Hendrickx and P. P. Tobback. 1998. Activity, electrophoretic characteristics and heat inactivation of polyphenoloxidases from apples, avocados, grapes, pears and plums. *Food Science and Technology – Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* 31: 44-49.
- Whitaker J. R. and C. Y. Lee. 1995. Recent advances in chemistry of enzymatic browning: an overview, in *Enzymatic Browning and Its Prevention*. ACS Symposium Series. Washington, D. C. pp. 2-7.
- Wills, R., B. McGlasson, D. Graham, D. Joyce. 1998. *Postharvest*, 4th Edition. CAB International. pp. 262.
- Winkler, A. J., J. A. Cook, W. M. Kliever, L. A. Lider. 1984. *General Viticulture*. University of California Press, Los Angeles, CA.. 710 pp.
- Yahia, E. M., I. Higuera-Ciapara. *Fisiología y Tecnología Postcosecha de Productos Hortícolas*. Editorial Limusa, México, 1992. pp 175-182.
- Yahia, E. M., K. E. Nelson, A. A. Kader. 1983. Postharvest quality and storage life of grapes as influenced by adding carbon monoxide to air or controlled atmospheres. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108:1067-1071.

- Wakayama, T. 1995. Polyphenol oxidase activity in Japanese apples, in *Enzymatic Browning and Its Prevention*. ACS Symposium Series. Washington, D. C. pp. 251-266.
- Walker, J. R. L. 1995. Enzymatic browning in fruits: its biochemistry and control, in *Enzymatic Browning and Its Prevention*. ACS Symposium Series. Washington, D. C. pp. 8-22.
- Walker, J. R. L. and P. H. Ferrar. 1998. Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance. *Biotechnology and Genetics Engineering Reviews* 15: 457-486.
- Weemaes, C. A., L. R. Ludikhuyze, I. Van den Broeck, M. E. Hendrickx and P. P. Tobback. 1998. Activity, electrophoretic characteristics and heat inactivation of polyphenoloxidases from apples, avocados, grapes, pears and plums. *Food Science and Technology – Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* 31: 44-49.
- Whitaker J. R. and C. Y. Lee. 1995. Recent advances in chemistry of enzymatic browning: an overview, in *Enzymatic Browning and Its Prevention*. ACS Symposium Series. Washington, D. C. pp. 2-7.
- Wills, R., B. McGlasson, D. Graham, D. Joyce. 1998. *Postharvest*. 4th Edition. CAB International. pp. 262.
- Winkler, A. J., J. A. Cook, W. M. Kliever, L. A. Lider. 1984. *General Viticulture*. University of California Press, Los Angeles, CA., 710 pp.
- Yahia, E. M., I. Higuera-Ciapara. *Fisiología y Tecnología Postcosecha de Productos Hortícolas*. Editorial Limusa, México, 1992. pp 175-182.
- Yahia, E. M., K. E. Nelson, A. A. Kader. 1983. Postharvest quality and storage life of grapes as influenced by adding carbon monoxide to air or controlled atmospheres. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108:1067-1071.