

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO Y METABOLÓMICO DE PALTA
(*Persea americana*) VARIEDAD HASS DURANTE LA
MADURACIÓN POST-COSECHA EN ATMÓSFERA
CONTROLADA”**

**Presentada por:
SILFIDA LLANOS GÓMEZ**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGÍSTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Lima - Perú
2021**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO Y METABOLÓMICO DE PALTA
(Persea americana) VARIEDAD HASS DURANTE LA
MADURACIÓN POST-COSECHA EN ATMÓSFERA
CONTROLADA”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGÍSTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Presentada por:

SILFIDA LLANOS GÓMEZ

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. Rosana Chirinos Gallardo

PRESIDENTE

Dr. David Campos Gutiérrez

ASESOR

Dra. Indira BetalleluzPallardel

CO-ASESOR

Mg Sc. Francisco Salas Valerio

MIEMBRO

Dr. Edwin Baldeón Chamorro

MIEMBRO

AGRADECIMIENTOS

- Me gustaría expresar mi gratitud a mi Patrocinador de Tesis, el Dr. David Campos por haberme acogido en su institución y dado la oportunidad de desarrollar el presente estudio, además de su continuo apoyo al experimento, orientación, cuyo entusiasmo y determinación por la investigación me ayudaron a lo largo de este proyecto.
- Un agradecimiento especial a la Dra. Rosana Chirinos por su motivación y constante apoyo, además de su enfoque amigable e interactivo y supervisión del estudio desde el inicio hasta su finalización. También mi agradecimiento sincero a la Dra. Indira Betalleluz por su sólido apoyo, su revisión del trabajo de investigación y sus valiosos comentarios, además de su confianza, afecto y amistad, y sobre todo por la disponibilidad siempre que fuera necesaria.
- Gracias al Prof. Francisco Salas Valerio y al Dr. Edwin Baldeón Chamorro por su valiosa colaboración y aporte en el proceso de revisión crítica del presente trabajo de investigación. También quiero agradecer a la Dra. Ana Aguilar y a mis compañeros del IBT: Adelayda, Cinthya, Felix, Sofía, Allison, Paola, Andrés, Diego, Irina y la Prof. Marianela, por su ayuda desinteresada, amistad y momentos compartidos que hicieron más fácil este camino.
- Por último, pero no menos importante, mi gran agradecimiento a mi familia y a mis amigos por su alentador apoyo.
- Al Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina - Área de Biotecnología Industrial & Bioprocesos, en el cual fue desarrollado el presente trabajo de investigación, y financiado por el Programa Nacional de Innovación Agraria (PNIA), como parte del proyecto “Estudio metabolómico y aplicación de estreses abióticos para comprender y reducir la heterogeneidad de la maduración post-cosecha de la palta (*Persea americana*) cv. Hass como estrategia para fortalecer su exportación” de acuerdo al Contrato N° 013-2016-INIA-PNIA/UPMSI/IE.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 PALTA (<i>Persea americana</i> Mill.).....	4
2.1.1 Generalidades	4
2.1.2 Maduración y temporada de cosecha.....	5
2.1.3 Composición nutricional.....	7
2.1.4 Almacenamiento en atmósfera controlada	8
2.1.5 Heterogeneidad de la maduración post-cosecha de la palta	9
2.1.6 Trastornos fisiológicos	10
2.1.7 Palta 'Hass' peruana	11
2.1.8 Estadística de producción y exportación nacional.....	12
2.2 METABOLÓMICA.....	14
2.2.1 Metabolitos primarios.....	14
a. Carbohidratos no estructurales	14
b. Ácidos grasos.....	16
2.2.2 Metabolitos secundarios	16
a. Tocoferoles	17
b. Fitoesteroles.....	17
c. Ácido abscísico.....	18
2.3 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	18
2.4 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POLIGALACTURONASA Y PECTINMETILESTERASA.....	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN.....	20
3.2 MATERIA PRIMA.....	20
3.3 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	20

3.3.1	Materiales	20
3.3.2	Equipos	21
3.3.3	Reactivos	22
3.3.4	Estándares.....	23
3.4	MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	24
3.4.1	Pérdida de peso.....	24
3.4.2	Firmeza	24
3.4.3	Color de cáscara.....	25
3.4.4	Determinación de la tasa respiratoria	25
3.4.5	Contenido de materia seca y aceite.....	26
3.4.6	Actividad pectinmetilesterasa.....	26
3.4.7	Actividad poligalacturonasa	27
3.4.8	Azúcares y ácidos orgánicos.....	28
3.4.9	Perfil de ácidos grasos	29
3.4.10	Determinación de fitoesteroles	30
3.4.11	Determinación de tocoferoles	31
3.4.12	Capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica y compuestos fenólicos totales	32
3.4.13	Determinación del ácido abscísico por UPLC-PDA	33
3.5	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	34
3.5.1	Muestreo	34
3.5.2	Diseño experimental.....	35
3.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	37
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	39
4.1	CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS.....	39
4.1.2	Pérdida de peso.....	39
4.1.1	Tasa de respiración	41
4.2	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	43
4.2.1	Color de cáscara.....	43
4.2.2	Contenido de materia seca y aceite.....	47
4.3	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POLIGALACTURONASA Y PECTINMETILESTERASA.....	51
4.4	METABOLITOS PRIMARIOS.....	54

4.4.1	Azúcares y ácidos orgánicos.....	54
4.4.2	Perfil de ácidos grasos	64
4.5	METABOLITOS SECUNDARIOS	68
4.5.1	Fitoesteroles.....	68
4.5.2	Tocoferoles	71
4.5.3	Compuestos Fenólicos Totales	75
4.6	ACIDO ABSCÍSICO	78
4.7	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS.....	81
4.7.1	Correlación entre la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos	84
4.8	EVALUACIÓN DE LA HETEROGENEIDAD DE MADURACIÓN EN ANAQUEL.....	85
4.9	TRASTORNOS FISIOLÓGICOS	89
4.10	ANÁLISIS MULTIVARIADO PLS-DA.....	91
V.	CONCLUSIONES	96
VI.	RECOMENDACIONES	98
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
VIII.	ANEXOS.....	121

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1: Contenido nutricional en 100 g de palta 'Hass'	7
Cuadro 2: Valores de firmeza (N) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, al alcanzar la madurez de consumo en anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR), después del periodo de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR).	87

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Producción Nacional de Paltas.....	12
Figura 2. Perú, evolución de las exportaciones de palta fresca	13
Figura 3. Palta 'Hass', incubando para determinar la tasa de respiración.....	25
Figura 4. Palta 'Hass', acondicionada en cestas de acero inoxidable (A), para ser almacenadas bajo AC+refrigeración (B).	35
Figura 5. Diseño experimental para el estudio fisicoquímico y metabólico de la palta 'Hass' al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC, seguido de la maduración en anaquel.....	38
Figura 6. Pérdida de peso (%) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al final del período de almacenamiento en AC+refrigeración, y después de alcanzar la madurez de consumo en anaquel respectivamente.	40
Figura 7. Tasa de respiración (mg CO ₂ /kg*h) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0) y final del período de almacenamiento en AC+refrigeración.....	42
Figura 8. Cambios en los parámetros de color; L*, C* y h° en la cáscara de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del período de almacenamiento en AC+refrigeración, y cuando alcanzaron la madurez de consumo en anaquel respectivamente.....	45
Figura 9. Cambios en el color de cáscara de la palta 'Hass' procedente de la segunda cosecha.	46
Figura 10. Evolución del contenido de MS (%) y aceite (%) de palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del período de almacenamiento en AC+refrigeración, y después de alcanzar la madurez de consumo en anaquel respectivamente.....	48
Figura 11. Evolución de la actividad PME y PG en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando	

alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR), respectivamente.	51
Figura 12. Evolución de los azúcares C7: manoheptulosa y perseitol en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), final del período de almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en anaquel respectivamente.....	55
Figura 13. Evolución de los azúcares C6: sacarosa, glucosa y fructosa en el mesocarpio de palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando llegaron a madurez de consumo en anaquel respectivamente.	59
Figura 14. Evolución de los ácidos orgánicos: málico y quínico en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente.....	61
Figura 15. Perfil y contenido de ácidos grasos (% de participación en el contenido total de ésteres metílicos de ácidos grasos - FAMES) en el aceite del mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), al final del periodo de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel.	65
Figura 16. Contenido de principales fitoesteroles (β -sitosterol y campesterol) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente.....	69
Figura 17. Contenido de los principales tocoferoles: α - y β -tocoferol en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente.....	72
Figura 18. Evolución de CFT en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente.. ..	76

Figura 19. Evolución del ABA en el mesocarpio de la palta 'Hass', procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente..	79
Figura 20. Evolución de la capacidad antioxidante ABTS lipofílica (CAL) e hidrofílica (CAH) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente.	82
Figura 21. Evaluación de la maduración heterogénea de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C y 60-70 por ciento HR) después de 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR).....	86
Figura 22: Trastornos fisiológicos presentados en la palta 'Hass' de la primera cosecha: A) Decoloración rosada en el mesocarpio y B) Pardeamiento de fibras o vascular.....	90
Figura 23. Análisis de PLS para la evolución de los diversos marcadores a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos y metabolitos primarios y secundarios) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha: primera (ESP), segunda (MSP) y tercera (LSP), medido a 15 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	92
Figura 24. Análisis de PLS para la evolución de los diversos marcadores a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos y metabolitos primarios y secundarios) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha: primera (ESP), segunda (MSP) y tercera (LSP), medido a 30 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR)	93
Figura 25. Análisis de PLS para la evolución de los diversos marcadores a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos y metabolitos primarios y secundarios) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha: primera (ESP), segunda (MSP) y tercera (LSP), medido a 50 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	94

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1: Cromatograma GC de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) de aceite de palta 'Hass'.....	121
ANEXO 2: Resultados de la tasa de respiración (mg CO ₂ /kg*h) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos a temperatura ambiente (18 - 20 °C) al inicio (día 0) y final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR).....	122
ANEXO 3: Resultados de pérdida de peso (%) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	122
ANEXO 4: Resultados de los parámetros de color (Luminosidad L*; Cromo C* y Ángulo Hue h°) en la cáscara de palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	123
ANEXO 5: Resultados del contenido de materia seca (%) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	124
ANEXO 6: Resultados del contenido de aceite (%) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	124
ANEXO 7: Resultados de la actividad PME (µeq éster hidrolizado/g*min bs) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ ,	

7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR)..... 125

ANEXO 8: Resultados de la actividad PG (U (μmol Acido Galacturónico)/g*min bs) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR)..... 125

ANEXO 9: Resultados del contenido de azúcares en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR)..... 126

ANEXO 10: Resultados del contenido de azúcar alcohol: Perseitol en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR). 127

ANEXO 11: Resultados del contenido de los principales ácidos orgánicos en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR)..... 127

ANEXO 12: Resultados del perfil y contenido de los ácidos grasos (en % de participación en el contenido total de ésteres metílicos de ácidos grasos - FAMES) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR). 128

ANEXO 13: Resultados del contenido de los principales tocoferoles en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por

ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).	129
ANEXO 14: Resultados del contenido de los principales fitoesteroles (mg/100 g bs) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	129
ANEXO 15: Resultados de compuestos fenólicos totales (CFT) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	130
ANEXO 16: Resultados de la concentración de Ácido abscísico (ABA) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR) y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).	130
ANEXO 17: Resultados de la capacidad antioxidante ABTS lipofílica (CAL) e hidrofílica (CAH) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).....	131
ANEXO 18: Indicadores de la heterogeneidad en la maduración de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR), después de 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ , 7 °C, 80-90 por ciento HR).	132
ANEXO 19: Palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, en madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) después de 15(A), 30(B) y 50(C) días de almacenamiento en AC+refrigeración.....	133

RESUMEN

La palta, es un fruto muy heterogéneo al madurar, no se sabe con exactitud en cuantos días estará lista para consumo después de la cosecha. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del tiempo de cosecha y el período de almacenamiento sobre las características físico-químicas y metabólicas de la palta 'Hass'. Para lo cual, la fruta se cosechó en abril y mayo de 2018 en Imperial-Cañete para la primera y segunda cosecha y julio de 2017 en La Molina para la tercera cosecha, luego se almacenaron en AC bajo 4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7°C/80-90%HR durante 15, 30 y 50 días, y seguidamente a 20±2°C/60-70%HR para su maduración. Los análisis se midieron después de la cosecha, al final del almacenamiento en AC y cuando los frutos maduraron. Al retrasar la cosecha (primera a segunda) se encontró mayor acumulación de materia seca, aceite y ácido iso-oleico, mientras la manoheptulosa, glucosa, fructosa, la actividad pectinmetilesterasa (PME) y el color de cascara del fruto mostraron una tendencia a disminución. El tiempo de cosecha y el periodo de almacenamiento en AC influyeron significativamente, en el pico climatérico retrasándose su presencia en la primera cosecha y presentándose a 50 y 30 días de almacenamiento para la segunda y tercera cosecha. Asimismo, influyó en el incremento del β-sitosterol, campesterol, ABA, capacidad antioxidante hidrofílica (CAH) y lipofílica (CAL) en la tercera cosecha, mientras disminuyó la manoheptulosa y el perseitol en la primera y tercera cosecha durante el almacenamiento en AC. Durante el proceso de maduración, la pérdida de peso aumentó, siendo mayores en los frutos de la primera cosecha; el color de cascara cambió de verde/purpura (primera y segunda cosecha) y de verde/negro (tercera cosecha); la actividad PME disminuyó y poligalacturonasa (PG) aumentó en las tres cosechas; los metabolitos primarios (manoheptulosa, perseitol, glucosa, fructosa y ácido palmítico) disminuyeron, y los metabolitos secundarios (α-tocoferol; β-sitosterol, campesterol, compuestos fenólicos totales, ABA) aumentaron, al igual que CAH y CAL. Se determinó los días a madurez de consumo de la palta para las tres cosechas después del almacenamiento en AC. Adicionalmente, el análisis multivariado PLS-DA, permitió mostrar que la tercera cosecha es diferente de la primera y segunda cosecha; también encontró el ácido palmítico, la sacarosa y el ABA como posibles principales marcadores predictivos a cosecha altamente correlacionados con la heterogeneidad de la maduración de la palta.

Palabras Claves: *Persea americana* Mill., atmósfera controlada, características fisicoquímicas, metabólica, post-cosecha, madurez de consumo.

ABSTRACT

Avocado is a very heterogeneous fruit when it ripens, it is not known exactly how many days it will be ready for consumption after harvest. The objective of this research was to evaluate the effect of the harvest time and the storage period on the physicochemical and metabolomic characteristics of the Hass avocado. For which, the fruit was harvested in April and May 2018 in Imperial-Cañete for the first and second harvest and in July 2017 in La Molina for the third harvest, then they were stored in AC under 4 and 6 percent of O₂ and CO₂, 7°C/80-90%RH for 15, 30 and 50 days, and then at 20±2°C/60-70%RH for maturation. The analyzes were measured after harvest, at the end of storage in CA and when the fruits matured. When the harvest was delayed (first to second), a greater accumulation of dry matter, oil and iso-oleic acid was found, while mannoheptulose, glucose, fructose, pectinmethylesterase activity (PME) and the color of the fruit peel showed a tendency to decrease. The harvest time and the storage period in CA had a significant influence on the climacteric peak, delaying its presence in the first harvest and appearing after 50 and 30 days of storage for the second and third harvest. Likewise, it influenced the increase of β-sitosterol, campesterol, ABA, hydrophilic (CAH) and lipophilic (CAL) antioxidant capacity in the third harvest, while mannoheptulose and perseitol decreased in the first and third harvest during storage in AC. During the ripening process, weight loss increased, being greater in the fruits of the first harvest; the skin color changed from green/purple (first and second harvest) and from green/black (third harvest); PME activity decreased and polygalacturonase (PG) increased in the three crops; the primary metabolites (mannoheptulose, perseitol, glucose, fructose, and palmitic acid) decreased, and the secondary metabolites (α-tocopherol; β-sitosterol, campesterol, total phenolic compounds, ABA) increased, as did CAH and CAL. The days to maturity of consumption of the avocado were determined for the three harvests after storage in AC. Additionally, the multivariate analysis PLS-DA, allowed to show that the third harvest is different from the first and second harvest; He also found palmitic acid, sucrose and ABA as possible main predictive markers at harvest highly correlated with the heterogeneity of avocado ripening.

Keywords: *Persea Americana* Mill., controlled atmosphere, physical-chemical characteristics, metabolomics, postharvest, maturity of consumption.

I. INTRODUCCIÓN

La palta (*Persea americana* Mill.), comúnmente conocido como aguacate es muy apreciada a nivel mundial no sólo por sus atributos sensoriales, sino también por las altas concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados, fibra dietética, mannoheptulosa y perseitol, proteínas, potasio, magnesio, vitaminas C, E, K y B, carotenoides, fenólicos, fitoesteroles o terpenoides y otros fitoquímicos que hacen de esta fruta muy nutritiva y con efectos saludable en el mantenimiento del colesterol sérico normal, control de peso, control de la diabetes, prevención del cáncer, etc. (Dreher y Davenport 2013, Yahia y Woolf 2011). Asimismo, la palta cumple con la definición de un alimento funcional tal como lo describe la declaración de posición de la Asociación Dietética Americana en cuanto a que brindan beneficios para la salud más allá de la nutrición básica (ADA 1999).

Los principales países productores de palta en el mundo entre el 2012 y 2017 son México, República Dominicana, Perú, Colombia e Indonesia (FAO 2018).

La palta 'Hass' es la que más se produce en el Perú (IDEXCAM 2017), de los cuales el 95 por ciento de la cosecha, se destina a la exportación (Agraria.pe. 2018). El Perú ocupa el segundo lugar en volumen como exportador mundial de paltas, tras México. En las dos primeras semanas de este año, se exportó 1,242 toneladas de paltas, del cual el 85,49 por ciento del total exportado están concentrados en Holanda como principal mercado de destino, seguido de Chile, EE.UU., España, Rusia, e Inglaterra, según el Minagri (larepublica.pe. 2020). La variedad que esta predominando en el mundo es la palta 'Hass' por sus características, el cual participa con el 80 por ciento del comercio mundial (MINAG 2019). Sin embargo, la palta 'Hass' al llegar a mercado de destino presenta la heterogeneidad de maduración; reflejada principalmente en diferentes días necesarios para que la fruta individualmente dentro de una caja a nivel minorista alcance la madurez de consumo (Pedreschi et al. 2014), en los cambios de color de piel, firmeza, siendo un problema para los importadores (Defilippi et al. 2015). Esto se traduce en un costo mayor de mano de obra

debido a la reordenación de la fruta y la entrega inconsistente de calidad a los consumidores (Blakey et al. 2009).

La palta, por ser una fruta climatérica, completa su maduración después de la cosecha (Vieira y Viégas 1994) y el proceso de maduración tarda de 5 a 7 días a 25 °C (Ozdemir y Topuz 2004). En el Perú, la palta 'Hass' se almacena a 6 °C por 30 días y 45 días en algunos casos (ProHass 2018). Sin embargo, se sabe que un período muy prolongado en frío (6-7 semanas) puede ser perjudicial al momento de madurar la fruta porque la incidencia de pudriciones peduncular y de cuerpo sería alta (Woolf et al. 2005).

La baja temperatura se usa ampliamente para extender la capacidad de almacenamiento de la palta (Kader 2002). Sin embargo, el almacenamiento en frío por sí solo a menudo no es suficiente para almacenar y transportar productos como la palta entre los mercados intercontinentales. Una alternativa es el almacenamiento en atmósfera controlada (AC), que ha demostrado ser exitosa en varias frutas. Esta tecnología utiliza comúnmente bajos niveles de oxígeno (O₂) y altos niveles de dióxido de carbono (CO₂) combinado con la refrigeración. Un efecto principal inducido por el bajo nivel de O₂ es la inhibición de la producción de etileno (Cukrov et al. 2019). Existen recomendaciones generalizadas para el almacenamiento de palta bajo AC, con sugerencias de atmósferas en el rango de 2-5 y 3-10 por ciento de O₂ y CO₂ (Kader 2001 y Thompson 1998). También, se sabe que el fruto almacenado en AC reacciona a las condiciones de estrés impuestas, activando las respuestas moleculares y fisiológicas (por ejemplo posible cambio de la respiración aeróbica a la anaeróbica), lo que produce cambios en la composición del metabolismo primario (aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares) y secundario, cambios en el metabolismo de la pared celular, perfiles de compuestos volátiles, etc. (Cukrov et al. 2019).

El almacenamiento en AC es ampliamente utilizado por la industria de la palta para retrasar la maduración, y extender la vida de post-cosecha. Sin embargo, a pesar de la importancia de esta tecnología en la maduración, hay información muy limitada sobre la calidad post-cosecha de frutas exportadas, y aunque las frutas se envían en una etapa pre-climática, a baja temperatura, y en condiciones de AC, es probable que ocurran cambios fisicoquímicos y bioquímicos durante el tránsito que afectan su posterior maduración y calidad. Asimismo, la mayoría de las investigaciones en palta, se han realizado en frutas maduras poco después

de la cosecha y poco se sabe de los principales cambios físico-químicos y metabólicos durante la vida post-cosecha de la fruta (desde la madurez fisiológica hasta la madurez de consumo), y asimismo hay mala previsibilidad en el tiempo de maduración (días necesarios para alcanzar la madurez de consumo) de la palta 'Hass' exportada.

El presente trabajo de investigación busca comparar el efecto de diferentes condiciones de post-cosecha (tiempos de cosecha y periodos de almacenamiento) para comprender los procesos bioquímicos y metabólicos asociados a la maduración de la palta 'Hass', producida en la costa peruana. El objetivo general fue evaluar mediante análisis físico-químico y metabólico, la maduración post-cosecha de la palta 'Hass' almacenada bajo condiciones de atmósfera controlada y posterior maduración en anaquel. Los objetivos específicos fueron: (1) evaluar el efecto de tres tiempos de cosecha (primera, segunda y tercera) y almacenamiento de atmósfera de 4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂ y 7°C, 80-90 por ciento HR, sobre las características físico-químicas y metabolitos primarios y secundarios de la palta; (2) determinar el tiempo de maduración de la palta en almacenamiento a 20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR y evaluar sus características físico-químicas y metabolitos primarios y secundarios.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 PALTA (*Persea americana* Mill.)

2.1.1 Generalidades

La palta es un cultivo nativo de América. El palto es originario de Mesoamérica, que se encuentra en el centro de Guatemala y México (Williams 1977). La palta ha sido un alimento importante para la gente de América Central durante al menos 9000 años (Chen et al. 2009). La palta taxonómicamente pertenece a la familia Lauraceae, y al género *Persea* (Williams 1977) y se clasifica botánicamente como una baya que comprende la semilla y el pericarpio, que se separa en (a) cáscara o exocarpio, (b) pulpa o mesocarpio, y (c) la capa delgada al lado de la cubierta de la semilla, el endocarpio (Seymour y Tucker 1993).

El nombre botánico para la palta es *Persea americana* Mill., y dentro de *Persea americana*, es posible diferenciar tres razas; la mexicana, antillana y guatemalteca (Cowan y Wolstenholme 2016). Cada raza presenta características típicas en términos de hojas, frutos, período de floración, etc. La mexicana son frutas semitropicales pequeñas alargadas y delgadas y mayor contenido de aceite. La antillana son frutas tropicales de tamaño variable y menor contenido de aceite. La guatemalteca son frutas subtropicales redondas, de piel gruesa y contenido intermedio de aceite (Paull y Duarte 2010). No hay barreras de esterilidad entre las tres razas ni en ninguna categoría taxonómica clasificada bajo *Persea americana*. Por lo tanto, la hibridación ocurre fácilmente donde los árboles de diferentes razas están creciendo en la proximidad (Whiley et al. 2002).

Entre los cultivares comerciales más importantes del “subtropical” están la palta 'Hass', 'Fuerte', 'Ettinger' y 'Pinkerton', que fueron seleccionados de las plantas de semillero con superior oportunidad en calidad de la fruta (Cowan y Wolstenholme 2016). La palta 'Hass', es un híbrido guatemalteco-mexicano (G-MX), fue lograda en el Estado de California de los

Estados Unidos, por Rudolph G. Hass en 1920. Es un cultivar ovado de piel negra (cuando está maduro) cuya fruta pesa de 140 a 300 g (Yahia y Woolf 2011). Aunque en diferentes países tiende a ser de menor peso, la pulpa se caracteriza por ser cremosa, de excelente sabor y con un alto contenido de aceite. La cáscara es algo coriácea, rugosa, la semilla es pequeña y adherida a la cavidad. El palto es excelente productor y su fruta se puede mantener en el árbol por algunos meses después de la madurez fisiológica, pero la pulpa tiende a volverse harinosa cuando se cosecha muy tarde (Newett et al. 2007 citado por Bernal et al. 2014).

2.1.2 Maduración y temporada de cosecha

La hormona vegetal etileno influye en muchos procesos de desarrollo en las plantas, incluidas la maduración y la senescencia, y las respuestas a las tensiones bióticas y abióticas (Bapat et al. 2010). En función de la tasa de respiración y la producción de etileno, la maduración de la fruta se ha clasificado en dos tipos: climaterio y no climaterio. Las frutas climaterias se caracterizan por un aumento en la tasa de respiración y la producción de etileno en las primeras etapas de la maduración. Este comportamiento climaterio es invariablemente asociado con un control autocatalítico de la producción de etileno. Dentro de esta categoría se encuentran los plátanos, manzanas, peras, tomates, paltas, melones, melocotones, kiwis, etc. (Seymour y Tucker 1993 y Toivonen 2016).

La maduración se ha descrito como un "fenómeno altamente coordinado, genéticamente programado e irreversible" (Prasanna et al. 2007) en el que la palta sufre importantes modificaciones químicas y fisiológicas, como el ablandamiento de la pulpa, los cambios de textura, el cambio de color (como consecuencia de la síntesis de pigmentos y la pérdida de clorofilas), la formación de aromas volátiles, el aumento del sabor y la alteración de las concentraciones de azúcar y ácido (Hiwasa-Tanase y Ezura 2014) que hacen que la fruta sea aceptable para el consumo. La maduración y la senescencia se consideraron como una serie de procesos degradativos que culminaron con trastornos metabólicos y desintegración celular (Alós et al. 2019).

La madurez de la palta y el tiempo de recolección se determinan de acuerdo a los marcadores externos (color y tamaño), o mediante la medición de la materia seca (MS) y el contenido de aceite en la pulpa (Werman y Neeman 1987). El contenido mínimo de MS requerido varía

de 17 a 25 por ciento, dependiendo de cultivar y país. En California, los porcentajes mínimos de MS en la cosecha para los principales cultivares son: 'Bacon' (17,7 por ciento), 'Fuerte' (19,0 por ciento), 'Gwen' (24,2 por ciento), 'Hass' (20,8 por ciento), 'Pinkerton' (21,6 por ciento), 'Reed' (18,7 por ciento) y 'Zutano' (18,7 por ciento) (Yahia y Woolf 2011). Asimismo, se informó de que la relación mínima de MS debe oscilar entre 19 por ciento y 25 por ciento en California (Özdemir et al. 2009). Sin embargo, la determinación de la madurez de consumo de la palta es difícil debido a los cambios externos invisibles. La calidad comestible no deseada y madurez irregular pueden producirse en la fruta de palta cosechada tempranamente (Özdemir et al. 2009). En el caso de la recolección tardía, las grietas pueden formarse en la piel debido a que la fruta mantiene el engrandecimiento, y la pulpa pueden estropearse, así como la caída del fruto (Hofman et al. 2000).

También han sido evaluados como marcadores de maduración los ácidos grasos (Landahl et al. 2009, Lu et al. 2009, Meyer y Terry 2010, Ozdemir y Topuz 2004), azúcares (Blakey et al. 2012, Meyer y Terry 2010), carotenoides y tocoferoles (Lu et al. 2009), proteínas totales (Blakey et al. 2012), fenólico, ácido ascórbico y el contenido de glutatión (Wang et al. 2012), y los volátiles aromáticos (Obenland et al. 2012).

Una característica única de la palta es que los frutos no maduran en el árbol, por lo que debe cosecharse en la etapa de madurez fisiológica adecuada para obtener las características comestibles del sabor y la firmeza (Gamble et al. 2010). La palta en etapa de madurez fisiológica, se identifica por el brillo de la piel de la fruta (verde apagado), buscando porcentajes de MS superiores al 21,5 por ciento (Carvalho y Velásquez 2015). El proceso de maduración ocurre después de la cosecha, y puede tomar desde unos pocos días hasta una semana (dependiendo de la variedad, la temperatura de almacenamiento y el grado de madurez). En la cosecha, la etapa de madurez es el factor más importante que afecta a la calidad del fruto. En la literatura, la información principal en la temporada de cosecha de la palta se relaciona con la calidad de la fruta tales como MS, el color, la firmeza y los ácidos grasos (Ozdemir y Topuz 2004).

La temporada de cosecha de la palta, depende de la madurez, el clima, el régimen hídrico y la luz solar, pero más que todo es la variedad (Moretti et al. 2010). Las diferentes variedades de palta maduran en diferentes momentos del año, pero para cada variedad, este proceso

ocurre aproximadamente al mismo tiempo cada año. Como se mencionó anteriormente, los frutos del palto se clasifican en tres razas; mexicana, guatemalteca y antillana; cada una exhibe una temporada de cosecha específica. En términos del tiempo de madurez (es el tiempo entre la temporada de floración y la cosecha), la raza guatemalteca requiere el período más largo (10 a 18 meses), seguida de las razas antillana (6 a 8 meses) y mexicanas (5 a 7 meses) (Paull y Duarte 2010). La raza guatemalteca es, en general, cosechados entre septiembre y enero, mientras que el de las razas antillana y mexicanas son generalmente, entre mayo y septiembre, y entre junio y octubre respectivamente (Crane et al. 2013).

2.1.3 Composición nutricional

En el Cuadro 1, se presenta la composición nutricional por cada 100 g de palta 'Hass' según la USDA (2014).

Cuadro 1: Contenido nutricional en 100 g de palta 'Hass'

<p>Composición nutricional general</p> <p>Energía: 160 kcal Agua: 73,23 g Proteínas: 2,00 g Lípidos totales: 14,66 g Carbohidratos: 8,53 g Fibra dietaria total: 6,70 g Azúcares: 0,66 g</p>	<p>Ácidos grasos</p> <p>Ácidos grasos saturados 2,13 g → 15 por ciento Ácidos grasos monoinsaturados 9,13 g → 67 por ciento Ácidos grasos poliinsaturados 1,82 g → 12 por ciento</p>
<p>Vitaminas</p> <p>Vitamina C (ácido ascórbico): 10 mg Tiamina (B1): 0,07 mg Riboflavina (B2): 0,13 mg Niacina (B3): 1,74 mg Piridoxina (B6): 0,74 mg Folato (DFE): 89 µg Vitamina A (RAE): 7 µg Vitamina E (α-tocoferol): 2,07 mg Vitamina K (phylloquinone): 21 µg</p>	<p>Minerales</p> <p>Calcio (Ca): 12 mg Hierro (Fe): 0,55 mg Magnesio (Mg): 29 mg Fosforo (P): 52 mg Potasio (K): 48,5 mg Sodio (Na): 7 mg Zinc (Zn): 0,64 mg</p>

FUENTE: USDA (2014).

La palta es una matriz muy compleja formada por una amplia variedad de compuestos. Es atractivo para los consumidores no sólo por su aroma, sabor, color y textura, sino también por sus beneficios nutricionales y saludables como se le han atribuido por su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados (Villa-Rodríguez et al. 2011). Contienen más proteínas alcanzando alrededor del dos por ciento que la mayoría de las frutas que llegan alrededor del uno por ciento y potasio que la mayoría de frutas (Paull y Duarte 2010) y muchos compuestos con capacidad antioxidante, tales como compuestos fenólicos, ácido ascórbico, vitamina E y C y carotenoides (Bertling et al. 2007, Golukcu y Ozdemir 2010, Wang et al. 2012, Dreher y Davenport 2013), pigmentos (clorofilas, carotenoides y antocianinas) (Ashton et al. 2006, Gross et al. 1973), fitoesteroles (Plaza et al. 2009), y azúcares de siete carbonos (manoheptulosa y perseitol) (Meyer y Terry 2010).

2.1.4 Almacenamiento en atmósfera controlada

La palta como fruta climatérica, se beneficia ampliamente de los tratamientos de post-cosecha. Por lo tanto, aplicar las tecnologías post-cosecha más convenientes se vuelve esencial para retardar la maduración; reduciendo las tasas de respiración y disminuyendo la producción de etileno (Kassim et al. 2013). Una alternativa para el almacenaje de la palta es por medio de modificaciones de la atmósfera. El uso de la AC en paltas, presenta las siguientes ventajas (Eksteen 1992): (i) el tiempo de almacenaje y período de comercialización, puede aumentarse considerablemente, (ii) el daño por frío puede ser reducido drásticamente.

La aplicación de la AC como alternativa de almacenamiento de la palta, las condiciones óptimas de AC para su posterior maduración normal están determinadas en muchas investigaciones publicadas, así como también la aplicación de AC en estudios de la metabolómica, proteómica, etc. Kader y Arpaia (2003), señalan que la AC óptima, correspondería de 2-5 y 3-10 por ciento de O₂ y CO₂, el cual retarda el ablandamiento y los cambios de color de la piel, disminuye las tasas de respiración y de producción de etileno. También, observaron que la palta 'Hass' verde puede conservarse a 5-7 °C en 2 por ciento de O₂ y 3-5 por ciento de CO₂ por 9 semanas, logrando madurar en aire a 20 °C. Otro resultado interesante, de los mismos autores, fue que las concentraciones mayores a 10 por ciento de CO₂ pueden incrementar el pardeamiento de la piel y pulpa, además de la generación de

sabores desagradables, especialmente cuando el O₂ se encuentra en concentraciones inferiores a uno por ciento. Meir et al. (1995), en palta 'Hass' cultivada en Israel, lograron los resultados más efectivos con 3 y 8 por ciento de O₂ y CO₂ respectivamente a 5 y 7 °C, donde la fruta no presentó lesiones por frío, maduró normalmente, fue comestible y comercializable después de 9 semanas de almacenamiento y madurado a 20 °C.

2.1.5 Heterogeneidad de la maduración post-cosecha de la palta

La heterogeneidad de maduración de la palta se presenta tanto en las características físicas (color de la cascara) (Defilippi et al. 2015), como en las características de maduración (días necesarios o días restantes para alcanzar la madurez de consumo) (Defilippi et al. 2015, Pedreschi et al. 2014). Por ejemplo, las paltas expuestas a una temperatura de 20 °C inmediatamente después de la cosecha normalmente demoran entre 7 a 12 días en alcanzar la madurez de consumo y el proceso de maduración no es uniforme para el mismo lote de fruta (Defilippi et al. 2015). La heterogeneidad de la maduración de palta 'Hass', está vinculado a una condición intrínseca a su fisiología compleja. Presenta un largo período de floración, complejo sistema hormonal y su incapacidad para madurar mientras está unido al árbol no da ninguna posibilidad de basar la cosecha en la firmeza y el cambio de color (Bower y Cutting 1988). La floración que puede durar hasta tres meses, dando como resultado una amplia variabilidad en la edad entre las frutas dentro de un mismo árbol en la cosecha (Lewis 1978) lo que será evidente durante el almacenamiento y manejo post-cosecha.

Estudios recientes sobre la maduración heterogénea en la palta 'Hass', como el de Hernández et al. (2017), demostraron que el tratamiento térmico (38 °C por una hora) previo al almacenamiento en AC (4 y 6 kPa de O₂ y CO₂ a 5 °C por 30 d) redujo significativamente la heterogeneidad de la maduración en la fruta de temporada temprana e intermedia. Aunque manifiestan que una explicación fisiológica precisa de cómo actúa el tratamiento térmico sobre la reducción de la heterogeneidad de maduración de la palta 'Hass' no está disponible hasta ahora. Fuentealba et al. (2017), sostiene que la proteómica libre de gel LC-MS/MS puede proporcionar información de las causas de maduración heterogénea de la palta 'Hass', y puede proporcionar nuevos marcadores para la maduración de la palta en la cosecha y después de un almacenamiento prolongado. La proteómica de alto rendimiento fue capaz de

diferenciar entre palta de maduración lenta y rápida. Los resultados demostraron que los frutos de maduración lenta presentaban mayor contenido en azúcar y proteínas.

Se ha informado que los azúcares C7 (manoheptulosa y perseitol), MS y Ca^{2+} total de la palta 'Hass' no se correlacionaron con el tiempo para alcanzar la madurez de consumo en la cosecha intermedia. La MS por sí sola no es un buen predictor de la heterogeneidad de maduración (Pedreschi et al. 2014). También se ha informado pequeños cambios en la composición del aceite durante la maduración post-cosecha, por lo que los ácidos grasos no se consideran un sustrato principal para la respiración (Ozdemir y Topuz 2004) y su función en la heterogeneidad de la maduración no está claro hasta la fecha.

Las actividades enzimáticas de pectinmetilesterasa y poligalacturonasa no se correlacionan con la heterogeneidad de maduración, ya que el desmontaje de la pared celular es un proceso complicado que involucra múltiples enzimas y sustratos. Los parámetros fisiológicos no pueden usarse tan pronto como predictores de la heterogeneidad de la maduración, ya que la tasa de respiración ($\text{mg CO}_2 \text{ kg/h}$) ni producción de etileno ($\mu\text{g etileno kg/h}$) medido en las temporadas temprana, intermedia y tardía después de los tratamientos impuestos (inmediatamente después de la cosecha, 30 d de aire regular a 5°C y 30 d a 5°C a 4 y 6 kPa de O_2 y CO_2) no correlacionan con los días de maduración (Fuentealba et al. 2017).

2.1.6 Trastornos fisiológicos

La palta es un fruto originario de regiones tropicales y por ello es sensible al daño por bajas temperaturas, que se manifiesta como trastornos fisiológicos (Carrillo 1991). Las bajas temperaturas producen en los frutos un estrés oxidativo, donde este responde con procesos deletéreos intracelulares endógenos (Chrispeels et al. 1999), aumentando la capacidad de lignificación y de peroxidación de lípidos de la membrana lo que produce un desarrollo de manchas en el mesocarpio (Meneghini et al. 1978, Martins 1995) activando los sistemas enzimáticos principalmente las enzimas polifenoloxidasas y peroxidasa.

Bertling et al. (2007) encontró que la concentración de antioxidantes totales en el mesocarpio fue menor que en la cascara y la semilla de palta. Esto podría ser un indicador de por qué particularmente el mesocarpio es sensible a diversos trastornos como la pulpa gris, el

pardeamiento de la cavidad de la semilla o el pardeamiento vascular, ya que la capacidad del tejido mesocarpial para contrarrestar el estrés oxidativo es significativamente menor que la de otros tejidos. Gómez-López (2002), sostiene que el pardeamiento interno está relacionado con la pérdida de firmeza debido a las alteraciones en la permeabilidad de la membrana, lo que permite que la polifenoloxidasas entre en contacto con sus sustratos, es decir, compuestos fenólicos. La polifenoloxidasas cataliza la oxidación de fenoles a quinonas, que posteriormente se polimerizan en pigmentos marrones.

La decoloración rosada en el mesocarpio o pulpa rosada, es un trastorno fisiológico, debido a una acumulación de pigmentos antocianinas en el mesocarpio, se ha sugerido previamente estar relacionado con la ocurrencia de temperaturas frías en el campo antes de la cosecha (Thorp et al. 1997). Asimismo retrasar el enfriamiento 12 horas o más después de la cosecha da lugar a aumentar la decoloración y hasta la descomposición del mesocarpio después del almacenamiento a 5 °C. También este daño interno se debe a altas temperaturas de maduración, por lo que se recomienda madurar la fruta a una temperatura de 20 °C o cercana a ella (Arpaia et al. 2018). El pardeamiento de fibras o vascular, mostró que la incidencia tendía a aumentar cuanto más tiempo permanecía la fruta en el árbol (Smith 1982 citado por Ginsberg 1985). El contenido de calcio en la palta 'Hass', es el mejor indicador del nivel de pardeamiento vascular, en proporción a las concentraciones entre calcio, magnesio y potasio. La fruta con más calcio demostró menor pardeamiento vascular, y al retrasar la cosecha, se encontró menos calcio (Thorp et al. 1997).

2.1.7 Palta 'Hass' peruana

En el Perú, los paltos se cultivan desde el nivel del mar hasta los 2,700 m.s.n.m. (Ataucusi 2015). En el 2017, Perú contaba con más de 28 mil hectáreas de este fruto (entre 'Hass' y 'Fuerte') muchas de ellas son plantaciones jóvenes y la tendencia es que siga incrementándose el área sembrada. La Libertad es el departamento que más superficie cosechada y producción tiene, seguido de Lima. El 95 por ciento de palta 'Hass' cosechada, se destina a la exportación, mientras que la palta Fuerte permanece principalmente en el mercado nacional. Según el informe del USDA, el consumo per cápita de palta en nuestro país es de 5 kilogramos (estos consumidores prefieren las paltas de piel verde como la Fuerte) (Agraria.pe 2018) y el consumo per cápita de un consumidor estadounidense es

aproximadamente 3 kilogramos de palta al año (Fresh Produce 2017). La campaña comercial más importante para la palta 'Hass' peruana se extiende desde finales de abril hasta agosto, y los más grandes mercados demandantes de la palta fresca, son la Unión Europea y los Estados Unidos (MINAGRI 2019).

2.1.8 Estadística de producción y exportación nacional

En la Figura 1, se presenta la producción nacional de palta en el Perú, realizadas desde el año 2000 al 2013.

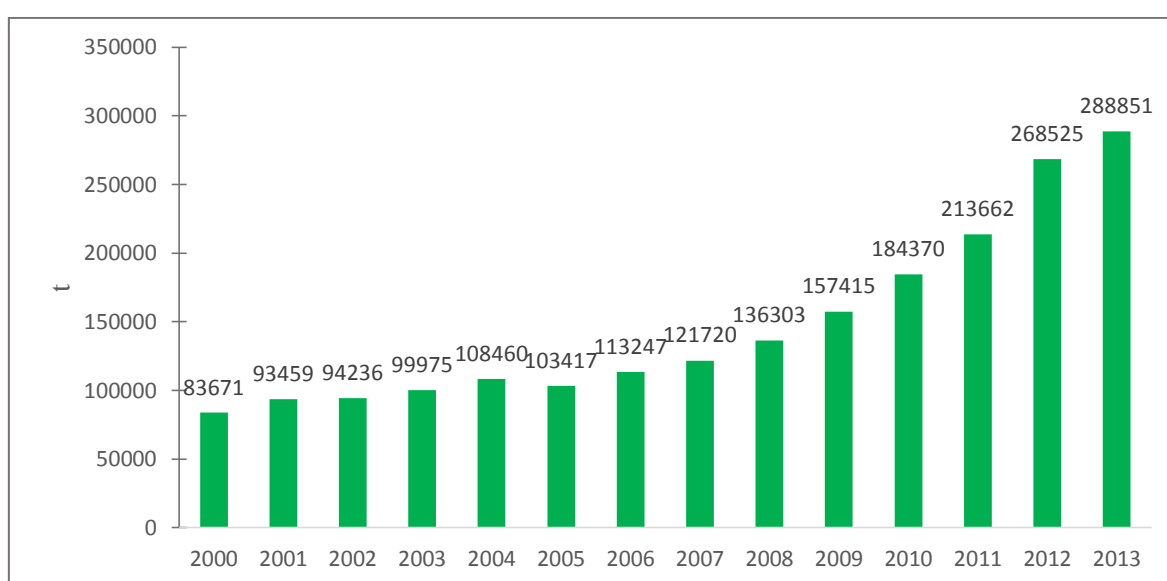


Figura 1. Producción Nacional de Paltas

FUENTE: MINAGRI (2015).

Según las series históricas de producción agrícola publicadas por el MINAGRI (2015), se estima que en el 2014 se ha superado las 300 mil toneladas. En cuanto a las regiones productoras de palta, destacan aquellas que se encuentran en la Costa que es la que participa casi con el 98 por ciento de la producción total. También se produce en los valles interandinos y en la selva alta. A nivel de regiones destacan en orden de importancia La Libertad, Lima, Ica, Junín y Ancash.

En la Figura 2 se presenta las cantidades exportadas de palta en el Perú, realizadas desde el año 2001 a la actualidad.

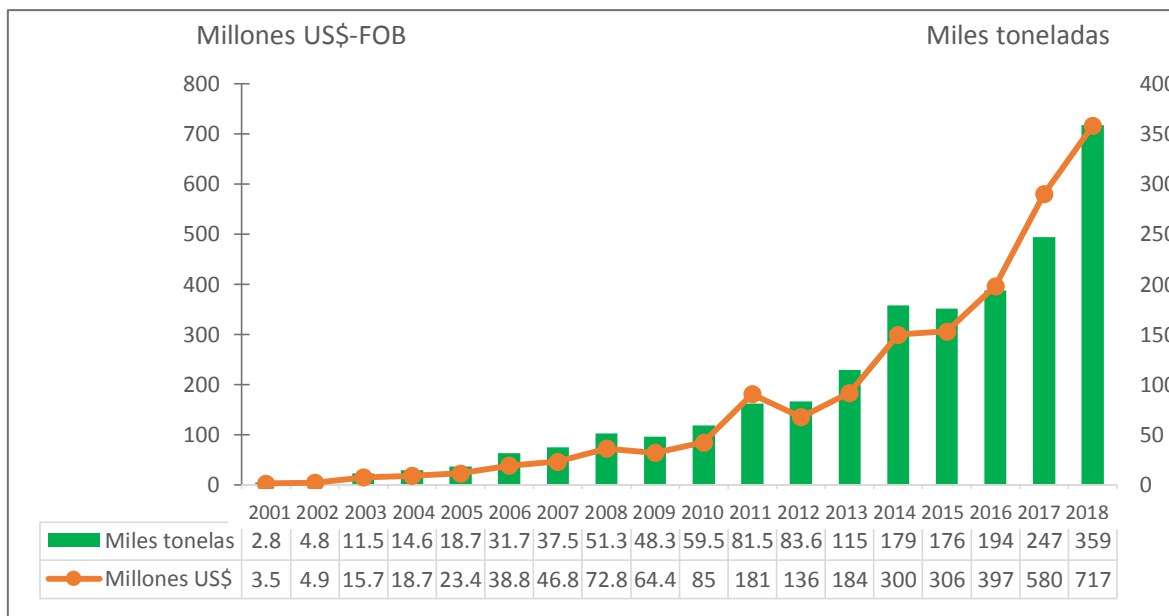


Figura 2. Perú, evolución de las exportaciones de palta fresca

FUENTE: MINAG (2019).

En el año 2001 apenas se exportaba 2,8 mil toneladas de palta el 100 por ciento al mercado europeo, sin embargo se fueron diversificando lentamente los mercados de destino, la economía peruana entro a una etapa de fortalecimiento y apuesta por las agro exportaciones, dadas sus características muy particulares, en especial la zona de la costa donde al disponer de agua para su riego por goteo y no depender de las lluvias, se permite poder planificar sus siembras y orientar sus cultivos en función de la estacionalidad de los mercados. En los siguientes años se empieza a incrementar la producción para las exportaciones, el mercado mundial ofrece precios excepcionales por la palta, la demanda es mayor que la oferta, todo un récord de crecimiento exportador (MINAG 2019).

Es importante resaltar que dos mega mercados (Unión Europea y Estados Unidos) han representado entre los años 2011-2017 un 94 por ciento del total exportado al mundo, lo cual nos presenta la existencia de una elevada dependencia de las exportaciones de palta en dos grandes mercados, de ahí que se requiere de un adecuado manejo comercial, a fin de diversificar nuestros mercados de destino. En el 2018 la tasa de participación ha logrado reducirse a un 87 por ciento debido a la aparición de nuevos mercados, como es el caso del mercado chileno, el japonés y el canadiense, más recientemente el mercado chino que aún no nos presenta su enorme potencial (MINAG 2019).

2.2 METABOLÓMICA

La metabolómica cataloga y cuantifica a las moléculas pequeñas, productos del metabolismo primario o secundario, que se encuentran en los sistemas biológicos, estudia cómo cambian los perfiles metabólicos dentro de un organismo como respuesta a alguna situación, tal como enfermedades o estrés (Dunn et al. 2005). La metabolómica se utiliza cada vez más en la investigación de plantas para proporcionar información detallada sobre las similitudes y diferencias en la composición de metabolitos entre las muestras (Pedreschi et al. 2014).

El metabolismo vegetal puede dividirse en metabolismo primario, que incluye moléculas esenciales tales como azúcares, aminoácidos o lípidos comunes en todas las plantas; y metabolismo secundario, que comprende moléculas minoritarias pero con una gran importancia en aspectos de defensa y adaptación a cambios ambientales; en este grupo se incluyen polifenoles, algunos terpenoides, alcaloides, etc., algunos con funciones como atrayentes de polinizadores o repelentes de plagas, antioxidantes, pesticidas naturales o incluso moléculas señalizadoras (Edreva et al. 2008). En este segundo grupo se incluirían los principios activos de algunos medicamentos como por ejemplo el taxol, el ácido salicílico (componente de la aspirina en su forma acetilada), el resveratrol y otros muchos, que son específicos de algunas especies vegetales y, por tanto, podrían ser empleados como marcadores de carácter taxonómico (Merchant et al. 2006).

2.2.1 Metabolitos primarios

Se conocen como metabolitos primarios a compuestos tales como carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos y ácidos orgánicos que están involucrados en el crecimiento y desarrollo, respiración y fotosíntesis, y síntesis de hormonas y proteínas. Estos metabolitos se encuentran en todas las especies vegetales dentro de amplios grupos filogenéticos y son producidos casi por las mismas rutas metabólicas (Hounsome et al. 2008).

a. Carbohidratos no estructurales

Los carbohidratos no estructurales con una estructura de siete carbonos (C7) encontrados en la palta son la manoheptulosa y su forma reducida el poliol perseitol (Meyer y Terry 2010). Estos azúcares poco comunes (Liu et al. 1999), junto con un "factor de árbol" no

identificado (Adato y Gatiz 1974) han sido propuestos como responsables de la inhibición de la maduración del fruto de palta mientras está conectada al árbol. La manoheptulosa es un potente inhibidor de la respiración y evita la entrada de la glucosa en la glucólisis, actuando como un inhibidor competitivo de la hexoquinasa (enzima que transfiere un grupo fosfato desde una alta energía a otra), alterando así el destino del metabolismo del azúcar (Cowan 2004). Son importantes en términos de calidad de la fruta ya que parecen tener un papel específico en la maduración del fruto, siendo parte del mecanismo de control de la iniciación de la maduración (Liu et al. 2002). Estos azúcares parecen tener más de una función ya que aparte de su rol en la respiración y producción de energía (Bertling y Bower 2005) para mantener las células y proporcionar energía vía glicólisis (Purev et al. 2008) para el proceso de maduración (Liu et al. 2002, Meyer y Terry 2010).

La manoheptulosa, el perseitol, la sacarosa, la fructosa y la glucosa representan 98 por ciento de los azúcares presentes en la palta (Liu et al. 1999). Todavía no está disponible una explicación precisa de por qué el palto consigna una proporción grande del carbono a los azúcares de siete carbonos. Otros árboles frutales (por ejemplo manzanos), producen azúcares alcohol de seis carbonos, como el sorbitol y el manitol productos de la fotosíntesis (Gandolfo 2008). La sacarosa, la glucosa y la fructosa son importante durante el crecimiento y desarrollo de la fruta antes de la cosecha, y se requieren principalmente para el transporte de carbono, síntesis de celulosa y síntesis de lípidos respectivamente (Zavaroni et al. 1982 citado por Blakey et al. 2012). La palta produce altas cantidades de celulosa durante maduración (O'Donoghue et al. 1994), sugiriendo un aumento en la concentración de glucosa durante la maduración. Un aumento en la glucosa puede estimular la síntesis del ácido abscísico (Richings et al. 2000) y por lo tanto la maduración (Blakey et al. 2009).

Los antioxidantes se producen como respuesta al estrés. La alta concentración de la manoheptulosa sugiere su papel como agente de protección contra el estrés, este azúcar es un poderoso antioxidante en particular en el tejido de mesocarpio (Tsfay et al. 2010, Bertling et al. 2007), además cuanto más alto sea su contenido, especialmente en la cosecha, mejor será la calidad post-cosecha de la fruta cuando ésta es sometida a bajas temperaturas y períodos largos (Ferreira et al. 2012, Defilippi et al. 2015). También una de las funciones de los azúcares C7 es la protección de algunas enzimas clave para el crecimiento y desarrollo de la fruta y para evitar el daño causado por las especies reactivas del oxígeno (Cowan

2004 y Tesfay et al. 2010). El mesocarpio de la palta es una fuente muy rica de fitoquímicos bioactivos incluyendo los carbohidratos C7 que han sido mencionados que poseen capacidad anticancerígena (Ishizu et al. 2002).

Los polioles son solutos osmóticamente activos, presentes en respuesta al estrés abiótico. Su concentración aumenta en respuesta al estrés en para compensar el potencial de agua celular reducido dentro de la célula (Popp y Smirnoff 1995). Sus grupos hidroxilo pueden reemplazar efectivamente el agua mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno en condiciones de estrés por déficit de agua y, por lo tanto, proteger las actividades enzimáticas y las membranas, funcionando como osmoprotector (Zimmermann y Ziegler 1975).

b. Ácidos grasos

Una de sus características sobresalientes de la palta, es el alto contenido de lípidos que varía de tres a 30 por ciento de su peso. La parte comestible de la fruta es rica en ácido oleico, palmítico, linoleico y palmitoleico, mientras que el ácido esteárico está presente sólo en cantidades traza (Lu et al. 2009 y Yahia 2010). El aceite se acumula en la fruta durante el crecimiento y madurez en el árbol, con un gran aumento en la fracción de ácido oleico. Una vez cosechada la fruta, el aceite ya no se acumula, y se ha demostrado que hay poco cambio en el perfil de ácidos grasos durante la maduración post-cosecha (Ozdemir y Topuz 2004). Los estudios sugieren que los ácidos grasos probablemente no estén relacionados con el evento de la maduración, ya que no hay cambios considerables en respuesta a los tratamientos con etileno. Asimismo informaron que las discrepancias de los cambios de ácidos grasos probablemente se deben a las diferentes fechas de cosecha (es decir la temporada temprana y tardía), que se espera con el aumento de la madurez (Meyer y Terry 2010). Sin embargo, se ha informado de que varios factores tales como las prácticas culturales, la creciente ubicación, el transporte y las condiciones de almacenamiento pueden influir en este parámetro (Landahl et al. 2009).

2.2.2 Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son un grupo variado de compuestos químicos que se caracterizan por su baja abundancia (menor al uno por ciento del carbono total de la planta) Sin embargo, presentan propiedades interesantes tales como antioxidante (compuestos

fenólicos, carotenoides y tocoferoles), reductora de los niveles de colesterol (fitoesteroles) (Bourgaud et al. 2001). Los metabolitos secundarios se pueden clasificar en cuatro grupos principales: compuestos fenólicos y polifenólicos, terpenoides (que incluyen carotenoides, fitoesteroles, tocoferoles, entre otros), alcaloides y compuestos que contienen azufre (glucosinolatos) (Hounsome et al. 2008).

a. Tocoferoles

Los tocoferoles son un conjunto de componentes solubles en lípidos que existen en cuatro formas diferentes (α -, β -, δ - y γ -tocoferol), según la posición y el número de grupos metilo (-CH₃) en el anillo fenólico. El α -tocoferol (vitamina E) es una vitamina esencial, y están asociados con la reducción en la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Pryor 2000). Lu et al. (2005) demostraron que los extractos lipofílicos de palta que contienen tocoferoles y carotenoides inhiben significativamente la proliferación in vitro de las células de cáncer de próstata PC-3 y LNCaP. Saldeen y Saldeen (2005) demostraron que la mezcla de δ , γ , y β -tocoferol tiene un mejor efecto antioxidante y antiinflamatorio que solo α -tocoferol en modelos animales y en un número limitado de investigaciones clínicas preliminares.

b. Fitoesteroles

Los fitoesteroles son importantes porque son componentes claves de las membranas celulares de las plantas así como el colesterol es un componente clave de las membranas celulares de los animales. Se los conoce como esteroides vegetales y se encuentran en concentraciones más altas en alimentos grasos como el aceite, las nueces y las semillas (Hicks y Moreau 2001, Mooz et al. 2012). Considerando que la ingesta mínima de fitosteroides debe estar entre 1 y 3 g/día para proporcionar sus efectos beneficiosos (Keys et al. 1957).

La concentración de fitoesteroides en el aceite de palta es alrededor de 3,3 - 4,5 mg/g de aceite (siendo el compuesto principal el β -sitosterol), siendo significativamente mayor que la del aceite de oliva (Woolf et al. 2008). Asimismo, Berastegui et al. (2012) encontraron que el aceite de palta era más rico que el aceite de oliva en fitosteroides totales (339,64 vs. 228,27 mg/100 g aceite (~727,8 vs. 489,15 μ g/g bs aproximadamente). Otras investigaciones han reportado contenidos de fitosteroides en palta 'Hass' de aproximadamente 752 mg/kg bh

(~107,4 mg/100 g bs) comparado con otros vegetales 116-228 mg/kg bh (Piironen 2003). Duester (2001), señaló que la concentración de estigmasterol fue menor a 3 mg; campesterol 5,1 mg; y β -sitosterol 76,4 mg/100 g en palta 'Hass' de California.

c. Ácido abscísico

Se ha sugerido que el ácido abscísico (ABA) puede estar relacionado con el proceso de maduración (Chernys y Zeevaart 2000), ya que la concentración de la hormona se acumula en el tejido mesocarposo durante la maduración junto con la biosíntesis de etileno, con un pico justo después de la producción de etileno (Adato et al. 1976 y Cutting et al. 1986).

Blakey et al. (2009) sugirieron que, el contenido de agua de la fruta en la cosecha forma la condición inicial a partir del cual se determina el desencadenante de la maduración, mientras que después de la cosecha la pérdida de agua y el ABA modulan y estimulan la maduración respectivamente. Por lo tanto, el estrés abiótico estimula la síntesis de ABA, y se ha relacionado con la maduración rápida de la fruta después de la infusión de una solución de ABA. Sin embargo, no observaron ningún efecto en la heterogeneidad de la maduración de la fruta. Moore-Gordon et al. (1998), sostienen que aumentos inducidos por estrés en el ABA causa una pérdida irreversible en el crecimiento de la fruta. Asimismo, hay factores distintos del estrés hídrico que también puede afectar tanto las concentraciones de ABA como la velocidad de maduración (Cutting et al. 1986).

2.3 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La palta contiene altos niveles de fitoquímicos bioactivos lipófilos incluyendo la vitamina E, carotenoides, y esteroides, entre otros, que han demostrado que poseen capacidad antioxidante eliminadores de radicales libres (Lee et al. 2004). Los fitoquímicos de la palta inhiben el crecimiento de tumores cancerosos, mitigan la obesidad y la diabetes y reducen la enfermedad cardiovascular (Dreher y Davenport 2013).

Los fenólicos totales al parecer, son los principales contribuyentes a la capacidad antioxidante total en la parte hidrofílica durante la maduración de la fruta (Villa-Rodríguez et al. 2020). También, las investigaciones han demostrado una correlación lineal entre el

contenido de fenólicos totales y la capacidad antioxidante en frutas y verduras, realizado por diferentes métodos (Corral-Aguayo et al. 2008 y Mahattanatawee et al. 2006).

Hasta ahora, la mayoría de los estudios realizados en capacidad antioxidante de la palta se han centrado principalmente en la evaluación de los compuestos hidrófilos tales como el ácido ascórbico y compuestos fenólicos porque comúnmente están altamente relacionados con la principal capacidad antioxidante en frutas y verduras. Sin embargo, los resultados obtenidos en la medición de la capacidad antioxidante del mesocarpio de la palta presenta que los extractos lipofílicos tenían mayor capacidad antioxidante de los extractos hidrófilos. Además, es necesario tener en cuenta un posible sinérgico y/o efectos antagonistas de los compuestos (Villa-Rodríguez et al. 2011).

2.4 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POLIGALACTURONASA Y PECTINMETILESTERASA

Durante la maduración, se produce una pérdida de firmeza debido a cambios rápidos que ocurren en la ultraestructura de la pared celular y sus componentes (Platt-Aloia y Thomson 1981). Estos cambios estructurales de la pared celular se deben a la actividad degradativa de las enzimas celulasas (Pesis et al. 1978, Tucker y Laties 1984) y poligalacturonasas que producen una disminución de la cohesión tisular resultante de la degradación de la pectina y el desarreglo celular (Awad y Young 1979). La PG, elimina los ácidos poligalacturónicos desmetilados de homogalacturonanos, y PME desesterifica principalmente poligalacturonanos por eliminación de grupos metilo del residuo galacturónico de pectinas (Brummel y Harpster 2001). Se indica que, la PME prepara la pectina para la degradación por desesterificación en ácido péctico. La actividad PG depende de la actividad del PME, este último seguido del primero, ya que PG solo puede degradar el ácido péctico, no pectina. La maduración de la palta se ve acompañada de aumentos en las actividades de Cx-celulasa y PG (Awad y Young 1979 y Pesis et al. 1978) con una disminución de la actividad de PME (Awad y Young 1979, 1980).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La presente investigación se realizó en el área de Biotecnología Industrial y Bioprocesos (BIB) del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2 MATERIA PRIMA

La materia prima utilizada en la investigación fueron paltas (*Persea americana* Mill.) variedad 'Hass' correspondiente a tres tiempos de cosecha provenientes de dos huertos. La primera y segunda cosecha fueron recolectados del fundo comercial Jorge Bustamante ubicado en el distrito de Imperial (76°23'7,2"W; altitud 104 msnm; temperatura promedio anual entre los 21 a 24 °C), provincia de Cañete, Región Lima. Por otro lado, los frutos de la tercera cosecha fueron procedente del campo de cultivo del Programa de Investigación y Proyección Social en Frutales de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), ubicado a 76°57'0 y a una altitud de 243,7 msnm.

3.3 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1 Materiales

- Filtros HPLC, 0,22 µm PVDF Marca Millipore (Brasil).
- Filtros HPLC 0,20 µm PTFE Marca Millipore Millex-F6 (Brasil).
- Material de vidrio: beacker, Erlenmeyer, probetas, tubos de ensayo, pipetas graduadas, microbureta, balones de vidrio de 350 cc, y todo lo necesario para los diversos ensayos.
- Material de plástico: Eppendorf, tubos para centrífuga, puntas para micropipeta y todo lo necesario para los diversos ensayos.
- Mortero

- Micropipetas de 20-200 μL , 100-1000 μL y 500-5000 μL (Brand, Alemania).
- Papel filtro de paso rápido.

3.3.2 Equipos

- Analizador de gases (Oxibaby 6, Alemania).
- Agitador magnético (CAT, modelo M6, Alemania).
- Agitador orbital (Polymax 2040, Heidolph).
- Agitador vortex (Wizard & Classic/ Velp Scientific/ España).
- Balanza analítica (OHAUS, modelo AR2140, USA).
- Balanza de precisión (OHAUS, modelo Scout, China).
- Baño maría con agitación (GFL, modelo 1083, Alemania).
- Bomba de vacío (Vacuumbrand. Modelo ME2C, Alemania).
- Centrífuga (Hettich, Rotofix 32, Alemania).
- Centrífuga refrigerada (Hettich®, Mikro 220R, Alemania).
- Centrífuga refrigerada (Eppendorf, 5430 R, Alemania).
- Centrivap concentrator, marca Labconco.
- Colorímetro (Minolta, modelo R-400).
- Congeladora (Electrolux, modelo H300, Brasil).
- Equipo de Soxhlet
- Estufa al vacío (VWR, 1400E-2, USA).
- Estufa (MMM Medcenter Einrichtungen GmbH, Venticell, Alemania).
- Espectrofotómetro (Genesys 10 UV, ThermoSpectronic, USA).
- Espectrofotómetro (Genesys 20 UV, Thermo Spectronic, USA).
- Microcámaras de atmósfera controlada (BD Instruments, Perú).
- Microcentrífuga (Hettich®, Rotina 420, Alemania).
- Molino de carga (A 11/ IKA/ China).
- Penetrómetro (Fruit Pressure Tester FT 327, Italia).
- Potenciómetro (Thermo-Orion, modelo Star A211, USA).
- Rotavapor (Laborota 4000 Heidolph).
- Shaker SI-300 (Lab Companion, Korea).
- Ultracongelador -80°C (GLF).
- Ultrasonido (Branson, modelo 3510R-DTH, USA).

- Ultraturrax (Heidolph, DiAx 900, Alemania).
- Cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de flama (FID) (Shimadzu®, modelo GC-2010, Japón) con autoinyector AOC-20i, automuestreador AOC-20s (Shimadzu) y columna Zebron ZB-FAME, GC Cap. Columna 20 m x 0,18 mm x 0,15 µm (Phenomenex).
- Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) (Waters®, modelo 2695, USA), detector de fluorescencia (Waters 2475) y columna YMC-Pack Silica (3 µm; 4,6 mm DI; 250 mm).
- Cromatógrafo líquido de ultra performance (UPLC) con detector de matriz de fotodiodos (PDA) y detector evaporativo de dispersión (EIS) (Waters®, modelo ACQUITY UPLC H-Class, USA).
- Cromatógrafo líquido - Espectrómetro de masas (LC-MS), modelo Ultimate 3000 (Thermo Scientific) y columnas Shodex HILICpack VG-50 2D (2,0 x 150 mm; 5 µm), guarda columna VG-50G 2A (2,0 x 10 mm; 5 µm) (Shodex, Japón).

3.3.3 Reactivos

- Acetato de Etilo
- Acetato de sodio anhidro (p.a. Merck, Alemania).
- Acetona (p.a. J.T. Baker®, USA).
- Acetonitrilo (grado HPLC J.T. Baker, USA).
- Acetonitrilo (hipergrade for LC-MS. Merck, Alemania).
- Ácido 3,5 Dinitrosalicílico (DNS) (p.a. Sigma, USA).
- Ácido acético glacial (p.a. J.T. Baker, USA).
- Ácido clorhídrico 37.5 por ciento (J.T. Baker, México).
- Ácido poligalacturónico (Sigma, USA).
- Alcohol anhidro (J.T. Baker, USA).
- Alcohol etílico (p.a. J.T. Baker, USA).
- BHT (2,6-Di-tert-butyl-4-methyl-phenol, 99 por ciento) (Sigma-Aldrich®, USA).
- Bisulfito de sodio (Mallinckrodt, México).
- Carbonato de sodio anhidro granular (J.T. Baker, USA).
- Cloroformo, MS (Fermont, México).

- Cloruro de sodio (p.a. Fermont, México).
- Diclorometano para GC (Merck, Alemania).
- Diclorometano para Cromatografía Líquida (Merck, Alemania).
- Diclorometano (J. T. Baker, USA).
- Éter de petróleo (J. T. Baker, México).
- Fenol (p.a. Mallinkrodt, México).
- Folin- Ciocalteau 2 N (p.a. Merck, Alemania).
- Ftalato ácido de potasio (p.a. Riedel-de Haën, Alemania).
- n-Hexano 95 por ciento (grado HPLC J.T. Baker, USA).
- n-Heptano (p.a. J.T. Baker®, EEUU).
- Hidróxido de sodio (Himedia, India).
- Hidróxido de potasio (EKA Chemicals).
- Mercaptoetanol (Sigma, USA).
- Metanol (grado HPLC J.T. Baker).
- Metanol (hipergrade for LC-MS. Merck, Alemania).
- Nitrógeno gaseoso
- Nitrógeno Líquido
- Tartrato de sodio y potasio (Sal de Rochelle) (Merck, Alemania).
- Pectina citrica
- PMSF Fenilmetilsulfonil fluoruro
- Persulfato de potasio (Sigma Aldrich).
- 2-Propanol (p.a., Merck)
- Sulfato de sodio anhidro (J.T. Baker®, México).
- TFA Ácido trifluoroacético (Merck, Alemania).

3.3.4 Estándares

- ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) sal de diamonio 98 por ciento) (Sigma Aldrich).
- Ácido Absícico
- Ácido D-Galacturónico 48280 (Sigma-Aldrich, Eslovaquia).
- Ácido gálico (Sigma-Aldrich).
- Tocotrienol and Tocopherol Mixture ABS-00020329-001 (Chromadex, USA).

- Campesterol 65 por ciento (Chromadex, USA).
- B- Sitosterol (Chromadex, USA).
- Stigmasterol 52424 (Sigma, Suiza).
- 5 α -colestanol C8003 al 97 por ciento (Sigma, Suiza).
- Ácido graso C11:0 (Supelco, USA) (Sigma Aldrich).
- Ésteres metílicos de ácidos grasos. Estándar FAMES Mix RM6 (Supelco, USA).
- Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-carboxílico) grado HPLC (FLUKA , Alemania) (Sigma Aldrich).
- Kit de ácidos orgánicos 47264 (Supelco, USA).
- Kit de azúcares CAR10 (Supelco, USA).
- Kit de azúcares-alcohol 47266 (Supelco, USA).
- Estándares de compuestos fenólicos.

3.4 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1 Pérdida de peso

Todas las frutas se pesaron con una balanza digital, al inicio día 0 (peso inicial), a 15, 30 y 50 d de almacenamiento en atmósfera controlada (peso final), y después cuando alcanzaron la madurez de consumo (peso final). La diferencia entre el peso inicial y peso final de los frutos son consideradas como el total de peso perdido. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de pérdida de peso con respecto al peso inicial (AOAC 1994).

3.4.2 Firmeza

El ablandamiento del mesocarpio se midió como la disminución de la firmeza en 2 puntos opuestos de la región ecuatorial de la fruta (n=30), cuando alcanzaron la madurez de consumo (firmeza de 4 a 13 N, según Pedreschi et al. 2014). Se aplicó el método de punción, utilizando un presionómetro/penetrómetro de mano (Fruit Pressure Tester FT 327, Italia) con una sonda cilíndrica de acero inoxidable de cabeza plana 11,3 mm de diámetro, después de remover una pequeña pieza de cáscara. Los resultados se registraron en Newtons (1 Kgf = 9,807 N).

3.4.3 Color de cáscara

El color de la piel se determinó en 10 paltas por tratamiento; al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en atmósfera controlada, y después cuando alcanzaron la madurez de consumo, en seis puntos de la zona ecuatorial del fruto, usando un colorímetro Minolta CR-400. Los valores se obtuvieron en escala CIE L* a* b*, donde L* es la luminosidad que varía de 0 (negro) a 100 (blanco), a* que varía de rojo (+a*) a verde (-a*), y b* que varía de azul (+b*) a amarillo (-b*). Asimismo, se obtuvieron los valores de ángulo “Hue” (h°), y “croma” (C*) (McGuire 1992).

3.4.4 Determinación de la tasa respiratoria

Al inicio (día 0) y al final del periodo de almacenamiento en AC se midió la velocidad de respiración a temperatura ambiente entre 18 a 20 °C, para lo cual se encerró un fruto por una hora en un recipiente de vidrio hermético (de 1,5 L), al que se le adaptó una septa (Figura 3).



Figura 3. Palta 'Hass', incubando para determinar la tasa de respiración

Luego, en el espacio libre de cabeza se midió el CO₂ liberado por el fruto dentro del recipiente herméticamente sellado, utilizando un analizador portátil de gases (OXYBABY 6, Alemania). La tasa respiratoria fue calculada usando la siguiente ecuación (Kays 1991):

$$\text{mL CO}_2/\text{Kg h} = \frac{(\text{CO}_2\text{final} - \text{CO}_2\text{inicial})(\text{Volumen recipiente} - \text{Volumen fruto})\text{mL}}{\text{Peso fresco del fruto (Kg)} * \text{tiempo(h)}}$$

Los resultados fueron expresados como mg CO₂/kg*h (mL CO₂/kg*h x 1,81 mg/mL; densidad de anhídrido carbónico según ley de densidades a 23 °C y 1 atm).

3.4.5 Contenido de materia seca y aceite

El fruto fue cortado verticalmente en cuartos, la semilla y cascara fueron eliminados y la cuarta parte de pulpa se homogenizó con un mortero de mano. El contenido de materia seca (Método 920,151 - AOAC 2007), se calculó por diferencia de peso en 10 g de palta fresca, secado al vacío en estufa MMM® por 16 horas (noche) a 70 °C. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de MS.

El aceite fue extraído usando un destilador Soxhlet a reflujo por 6 h (Método 963,15 - AOAC 1995). De las muestras secas de determinación de materia seca, se pesó 2 gramos, luego se molió con un mortero de mano y colocó en el cartucho de papel filtro de paso rápido y este se colocó en el dispositivo extractor Soxhlet. Se utilizó como solvente 150 mL éter de petróleo a temperatura de 30-40 °C. Se eliminó el solvente en un Rotavapor (Laborota 4000 Heidolph) al vacío a 40 °C. El aceite se almacenó a -20 °C hasta el análisis de ácidos grasos y fitoesteroles

3.4.6 Actividad pectinmetilesterasa

La actividad pectinmetilesterasa (PME), se determinó por método de titulación potenciométrica propuesto por Awad y Young (1980) con ligeras modificaciones. Se homogenizó 2 g de polvo congelado del mesocarpio de palta con 10 mililitros de solución de cloruro de sodio (NaCl) 0,4 M, manteniendo la temperatura de 4 °C en agitación a 300 rpm durante 15 minutos. Los homogenizados fueron centrifugados a 6000 rpm por 15 minutos a 4 °C. Los sobrenadantes fueron recolectados; extracto enzimático (EE) y se conservó a -20 °C hasta la reacción.

La mezcla de la reacción enzimática contenía 2,5 mililitros de EE con 25 mililitros de sustrato (solución de pectina al 0,5 por ciento conteniendo cloruro de sodio 0,1 M y ajustado a pH 7,5 usando hidróxido de sodio 0,1 N). La mezcla fue incubada a 37 °C durante 15 minutos bajo agitación. Para detener la reacción de la solución, se inactivo a temperatura de

ebullición por 5 minutos. Se realizó un blanco para cada muestra con extractos enzimáticos inactivados. La medida de la actividad PME se realizó por medio de titulación con hidróxido de sodio 0,01 N hasta pH 7,5. Los resultados fueron expresados como micro-equivalentes de éster hidrolizado por minuto por gramo de muestra en base seca ($\mu\text{eq éster}/\text{min} \cdot \text{g, bs}$).

$$\text{UPME} \left(\frac{\mu\text{eq} - \text{g}}{\text{min} \cdot \text{g bs}} \right) = \frac{G \cdot N \cdot V}{A \cdot t \cdot P} \cdot 1000$$

Dónde: UPME, son las unidades de pectinmetilesterasa expresados en microequivalentes-gramo de éster hidrolizado por minuto por gramo de muestra en base seca; G, Gasto de la titulación con NaOH 0,01 N (mililitros); N, Normalidad del NaOH utilizado en la titulación; V, Volumen total de extracto enzimático (mililitros); t, tiempo de reacción (min); A, Alícuota de extracto enzimático empleado en la reacción (mililitros); P, Peso de la muestra (g).

3.4.7 Actividad poligalacturonasa

La actividad poligalacturonasa (PG) se desarrolló en dos etapas: extracción y reacción. Para la extracción enzimática, se homogenizó 100 mg de polvo congelado del mesocarpio de palta fresca con 1 mililitro de buffer de extracción (compuesto de 0,1 M de sodio acetato pH 5 más 5 mM β -mercaptoetanol y 0,4 M cloruro de sodio) y 25 μL de 20 mL de PMSF (fluoruro de fenilmetilsulfonilo) 20 mM, de acuerdo a Hernández et al. (2017). El conjunto se dejó reposar durante 30 min (agitándose durante 1 minuto en vortex a 0, 15 y 30 min) a temperatura ambiente, luego se llevó a micro-centrifuga por 15 min a 13,000 rpm, y se procedió a separar, filtrar y guardar el sobrenadante (extracto enzimático de PG).

Para la reacción enzimática se empleó el método reportado por Oberland y Carrol (2000) y Cutillas et al. (1993), con algunas modificaciones. Consistió en mezclar 0,2 mililitros de extracto enzimático y 2 mililitros de sustrato (solución de ácido poligalacturónico al 1 por ciento en buffer acetato de sodio 0,05 M a pH 5). Asimismo se realizó un blanco para cada muestra con extractos enzimáticos inactivados a temperatura de ebullición por 5 minutos. La mezcla fue homogeneizada e incubada a 37 °C durante 30 minutos bajo agitación lenta. Para detener la reacción, se llevó a temperatura de ebullición por 5 minutos. La actividad PG se

midió a través de azúcares reductores liberados por las enzimas, con sus respectivos blancos por el método de DNS (dinitrosalicílico), para lo cual se mezcló 0,5 mililitros de solución de la reacción enzimática con 3 mililitros de ácido dinitrosalicílico (DNS) y se llevó a temperatura de ebullición durante 5 minutos. Finalmente, se agregó 1 mililitros de sal de Rochelle y 10 mililitros de agua destilada, se agitó y se midió en un espectrofotómetro a 550 nm. La concentración de azúcares reductores se determinó por medio de una curva de calibración preparada con ácido galacturónico (AG) a diferentes concentraciones ($Y = 0,058X - 0,1097$; donde Y, absorbancia; X, mmol de ácido galacturónico/litro de solución); la actividad enzimática fue determinada en unidades. Una unidad enzimática (U) fue expresado como micromoles de ácido galacturónico liberados por minuto por gramo de muestra, en base seca (U/g*min bs).

3.4.8 Azúcares y ácidos orgánicos

El protocolo de compuestos polares fue seguido y adaptado del método de Hatoum et al. (2016). La extracción se realizó en tubos de centrífuga de 15 mL. Se pesó 100 mg de polvo congelado del mesocarpio de palta fresca, y se añadió 1000 μ L MEOH frío, más 1500 μ L de agua MilliQ, y 750 μ L cloroformo de grado HPLC. Luego fueron agitados en vórtex por 1 minuto e incubados en skaker (SI-300, Lab Companion, Korea) a 70 °C, 120 rpm por 15 minutos. Después se centrifugó (centrifuga 5430 R, Eppendorf Germany) a 4 °C, 7500 rpm por 15 minutos. De la separación de fases, se recuperó 2500 μ L aproximadamente de extracto polar y se transfirió a un tubo Eppendorf de 5 mL. Finalmente se realizó una dilución de 1/25 con acetonitrilo al 80 por ciento y se pasó por filtro Millipore 0,22 μ m PVDF a un inserto colocado en un vial de vidrio de 1,5 ml previo a la inyección. Las muestras se analizaron en LC-MS (Thermo SCIENTIFIC, Ultimate 3000), equipado con un detector TSQ Quantum Acces Max. Se utilizó una columna Marca Shodex HILICpack VG-50 2D (2.0 x 150 mm, 5 μ m). El volumen de inyección fue 5 μ L, a una temperatura de 40 °C. La fase móvil fue acetonitrilo:agua (85:15) a un flujo constante de 0,250 mL/min y el tiempo total de corrida fue 25 minutos.

Los metabolitos se identificaron comparando los tiempos de retención, espectros de masas y curvas de calibración de estándares externos: fructosa ($Y = 30532,1X - 11803,8$; $R_2 = 0,9892$ donde Y es el área y X es la concentración en μ g/mL), glucosa ($Y = 39282,5X +$

11262,5; $R^2 = 0,9874$), sacarosa ($Y = 3,01314e+006X + 882975$; $R^2 = 0,9750$), manohéptulosa ($Y = 125942X - 6123,65$; $R^2 = 0,9925$), perseitol ($Y = 2,88114e+006X + 270763$; $R^2 = 0,9973$), ácido málico ($Y = 1,55376e+006X + 95459,7$; $R^2 = 0,9919$) y ácido quínico ($Y = 7,44039e+006X + 948796$; $R^2 = 0,9964$). Los resultados se expresaron en miligramos por gramo en base seca (mg/g, bs).

3.4.9 Perfil de ácidos grasos

Para el análisis de la composición de ácidos grasos, los lípidos totales se convirtieron en ésteres metílicos (FAME), según lo descrito por Michotte (2009). En un tubo de vidrio de 60 mL, se pesó 250 mg de aceite de palta (obtención de aceite descrito en ítem 3.4.5). El aceite fue transesterificado con 5 mL de KOH 0,1 M; y se calentó en baño maría a 70 °C durante una hora, luego se enfrió y añadió 2 mL de la solución de metilación (HCl 1,2 N en metanol), se agitó y nuevamente se volvió a calentar a 70 °C durante 20 minutos, y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

La extracción de FAMES, se inició mediante la adición 10 mL de hexano más 5 mL de agua MilliQ. El extracto se agitó en vortex y se conservó a 4 °C durante una noche, y se obtuvo dos capas. Se tomó una alícuota de 150 µL de la capa superior en una fiola de 5 mL de volumen, se añadió 0,5 mL de C11 (metil undecanoato) como estándar interno a la concentración de 0,4 mg/mL y se enrasó con hexano de grado HPLC, de allí se tomó 1 mL de la mezcla en un vial de vidrio ámbar y se inyectó en un GC.

Los FAMES se separaron usando un cromatógrafo de gases GC-FID (Shimadzu®, modelo GC-2010, Japón) a 260 °C, temperatura del puerto de inyección de 250 °C. El gas utilizado fue el hidrógeno que trabajó a una presión constante (200 kPa). La columna utilizada fue un Zebron ZB-FAME (marca Phenomenex) de dimensiones: 20 m de longitud, 0,18 mm de diámetro, 0,15 µm de película interior). El volumen de inyección correspondió a 1 µL en modo Split 100:1 a 250 °C. El gas portador que trabajó a presión constante fue el helio 1 mL/min. La temperatura inicial del horno fue mantenido a 80 °C durante 1,5 min, luego incrementado a 160 °C (a una velocidad de 40 °C/min) y luego elevado a 185 °C (a 6 °C/min) y finalmente se elevó a 260 °C (a 18 °C/min) y se mantuvo a esta temperatura durante 2 min.

El tiempo de corrida fue 15 minutos por muestra. Los FAMES se identificaron comparando los tiempos de retención del pico a los de los estándares comerciales de la curvas de calibración obtenido con los siguientes estándares externos: 14:0 mirístico ($Y = 0,7903816X + 1,179288e-002$; $R^2 = 0,9923$), 16: 0 palmítico ($Y = 0,7233424X + 0,3958861$; $R^2 = 0,9940$), 16: 1 palmitoleico ($Y = 1,028598X + 3,983208e-002$; $R^2 = 0,9935$), 18: 0 esteárico ($Y = (0,6273976X + 0,1765242$; $R^2 = 0,9943$), 18: 1 oléico ($Y = 0,7405914X + 0,5188024$; $R^2 = 0,9939$), 18: 2 linoleico ($Y = 0,9047924X + 8,383733e-002$; $R^2 = 0,9931$) y 18: 3 linolénico ($Y = 1,061105X - 3,813080e-002$; $R^2 = 0,9901$). Las imprecisiones de inyección fueron corregidas usando el estándar interno (undecanoico) en cada muestra inyectada. Los resultados fueron expresados como porcentaje (%) de participación en el contenido total de las seis ésteres metílicos de ácidos grasos - FAMES detectados.

3.4.10 Determinación de fitoesteroles

Los fitosteroles se extrajeron de acuerdo con Duchateau et al. (2002) y Da Costa et al. (2010). Para la saponificación, en un tubo de vidrio de 20 mL con tapa, se mezclaron 100 mg de aceite de palta (obtención de aceite descrito en ítem 3.4.5) con 500 μ L de β -colestanol (0,2 mg/mL de n-heptano) como estándar interno, y se sometieron a una hidrólisis alcalina con 1 mL de una solución etanólica de KOH al 12 por ciento (preparado al momento del ensayo) a 60 °C durante 1,5 horas en baño maría bajo agitación lenta y se enfrió a temperatura ambiente. Seguido, se procedió a extraer tres veces los lípidos insaponificables, por consiguiente se añadieron 1 mL de agua destilada y 5 mL de n-heptano, se homogenizó y se vació todo el volumen en una pera de decantación y se observó dos capas. Se recuperó la capa superior en un tubo de centrifuga. Y se repitió el procedimiento dos veces más con 5 ml y 4 mL de n-heptano respectivamente. Las fases orgánicas se combinaron y se pasaron en 3,5 g de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para eliminar agua y se secaron en un rotavapor a 40 °C. Finalmente el residuo seco fue resuspendido en 1 mL de n-heptano y almacenados a -20 °C hasta su inyección al cromatógrafo de gases.

La composición de fitoesteroles se determinó por GC-FID (Shimadzu®, modelo GC-2010, Japón). Se utilizó una columna Supelco SACTM-5 (0,2 μ m; 0,25 mm DI, 30 m). La temperatura del horno se programó como sigue: inicialmente a 250 °C (por 3 minutos), aumentada a 285 °C por 35 minutos. Las temperaturas del inyector y detector fueron fijadas

a 300 °C. El volumen de inyección fue 2 µL en modo Split 20 y el gas empleado como transportador fue el Helio a una velocidad de flujo de la columna de 0,70 mL/min. El tiempo de corrida cromatográfica fue 38,78 minutos por muestra. Los fitoesteroles se identificaron y cuantificaron comparando sus tiempos de retención y áreas de pico con los de los estándares externos de las curvas de calibración: campesterol ($Y = 5,9141e-003X - 5,434e-002$; $R^2 = 0,9999$), beta-sitosterol ($Y = 7,0973e-003X - 6,6369e-002$; $R^2 = 0,9999$) y estigmasterol ($Y = 7,5133e-003X - 6,7063e-002$; $R^2 = 0,9998$) previamente inyectados. El contenido de fitoesteroles se expresó en miligramos por 100 gramos de palta en base seca (mg/100 g, bs).

3.4.11 Determinación de tocoferoles

Los tocoferoles se analizaron según lo descrito por Amaral et al. (2005). El método consta de dos etapas: saponificación y cuantificación de tocoferoles. La identificación y cuantificación se realizó por HPLC con detector de fluorescencia.

La extracción de aceite se realizó a partir de 2 g polvo congelado del mesocarpio de palta fresca que fueron mezclados con 1 mL de solución de BHT (10 mg en 1 mL de n-hexano) como antioxidante, la mezcla fue agitada en vortex por 1 minuto. Seguidamente se añadió 4 mL de etanol, 8 mL de n-hexano y 4 mL de solución saturada de NaCl. La mezcla fue homogenizada por 1 minuto en un vórtex y luego centrifugada a 4 °C, 4000 rpm por 4 minutos. Se recolectó la fase superior y se secó con nitrógeno gaseoso. El aceite recuperado se almacenó a -20 °C hasta el análisis de tocoferoles. Todos los procedimientos de extracción se realizaron en presencia de antioxidantes químicos (estabilización) bajo luz tenue y ambiente inerte para evitar la oxidación de los tocoferoles.

Se disolvieron muestras de aceite (~50 mg) en 1,5 mL de n-hexano HPLC, se homogenizó en vórtex por 1 minuto, luego fue secado en polvo de sulfato de sodio anhidro (0,5 gramos) para eliminar el agua y seguidamente fueron filtrados a través de filtro Millipore PTFE de 0,20 µm directo a los viales de vidrio para el análisis. Se analizaron en HPLC (Waters®, modelo 2695, EE. UU.), con un detector de fluorescencia (Waters 2475), las longitudes de onda de excitación y emisión fueron 290 y 330 nm. El análisis se realizó con una columna YMC-Pack Silica (3 µm; 250 x 4,6 mm). La fase móvil estuvo compuesta por n-hexano/2-

propanol/ácido acético (1000/6/5, v/v/v) a un flujo de 1,4 mL/min bajo condiciones isocráticas y a una presión de 1380 PSI. El volumen de inyección fue 7 µL de muestra, y el tiempo de corrida de 15 minutos. La identificación de los tocoferoles se realizó comparando su tiempo de retención con el de los estándares, la cuantificación se realizó con curvas de calibración de alfa tocoferol ($Y = 5,21e+005X + 2,92e+004$; $R^2 = 0,9944$), beta tocoferol ($Y = 4,33e+005X + 8,90e+004$; $R^2 = 0,9942$), gamma tocoferol ($Y = 6,10e+005X + 8,78e+004$; $R^2 = 0,9945$) y delta tocoferol ($Y = 6,88e+005X + 1,17e+005$; $R^2 = 0,9939$). Los resultados se expresaron en microgramos por gramo de palta en base seca.

3.4.12 Capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica y compuestos fenólicos totales

Se determinó la capacidad antioxidante, mediante el ensayo TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) recomendado por Arnao (2000) en los extractos hidrofílicos y lipofílicos. La reacción mide la captación del radical ABTS por el oxidante, la cual se manifiesta por la disminución de la absorbancia a 734 nm.

Para la extracción, en un tubo de centrifuga de 50 mL, se homogenizó 2 g de polvo congelado del mesocarpio de palta fresca con 10 mL de metanol al 80 por ciento usando un homogeneizador básico Ultra Turrax (DiAx 900, Heidolph) por 20 segundos (primera extracción). El homogenizado se agitó a 350 rpm por una hora, a temperatura ambiente y en oscuridad, y se centrifugó a 4,000 rpm (2665 g) por 15 minutos, a temperatura ambiente. Se separó y guardó el sobrenadante en otro tubo de centrifuga, y se realizó una extracción adicional sobre el pellet residual con 5 mL de metanol al 80 por ciento y agitación por 30 minutos y repitió procedimientos como se describió previamente. Seguido, los dos sobrenadantes (extracto hidrofílico) se juntaron y guardaron en oscuridad a -20 °C hasta el siguiente día para el análisis de capacidad antioxidante ABTS hidrofílica y compuestos fenólicos totales. La extracción de la fracción lipofílica, se realizó sobre el pellet residual con 15 mL de diclorometano, y se agitó a 350 rpm por 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Se recogió el sobrenadante y se almacenó a -20 °C hasta el siguiente día para su posterior análisis de capacidad antioxidante ABTS lipofílico.

En tubos de prueba de 5 mL, se realizó el ensayo ABTS, se combinó una alícuota de 150 µL del extracto hidrofílico o lipofílico diluido (en metanol al 80 por ciento o diclorometano,

dependiendo de la capacidad antioxidante a medir) con 2,850 μL de la solución diluida de ABTS^+ (se obtuvo según lo descrito por Arnao 2000). Se preparó un blanco de las muestras (para obtener un factor de corrección) de manera similar a las muestras, en lugar de usar el extracto hidrofílico o lipofílico se usó metanol al 80 por ciento o diclorometano, según corresponda. La mezcla se agitó en vortex y se dejó reaccionar por una hora para el extracto hidrofílico y tres horas para el extracto lipofílico en oscuridad y en el agitador orbital (Polymax 2040, Heidolph). Luego, en un espectrofotómetro UV-vis (Genesys 10 UV, ThermoSpectronic, USA) a 734 nm se midió las absorbancias del blanco y de las muestras ($\Delta \text{ABTS} = \text{ABTS}_{\text{blanco}} - \text{ABTS}_{\text{muestra}}$) y la capacidad antioxidante ABTS fueron estimadas y reemplazadas en la ecuación de la curva estándar considerando el Trolox como equivalente químico (hidrofílico $Y = 1,2584 X + 0,0021$ y lipofílico $Y = 0,812 X + 0,0303$ donde $X = \mu\text{mol}$ de Trolox equivalente/mL). Los resultados se expresaron como μmol de Trolox equivalente (TE) por gramo (g) de palta en base seca.

La determinación de compuestos fenólicos totales (CFT), fue a partir del extracto hidrofílico en dilución 1:5 con agua destilada. Para la cuantificación de CFT se siguió el método de Folin-Ciocalteu de Singleton y Rossi (1965). En tubos de prueba de 5 mL protegidos de la luz, se hizo reaccionar 500 μL del extracto hidrofílico diluido, 250 μL de reactivo Folin Ciocalteu 1 N y 1250 μL de una solución de carbonato de sodio 0,5 M. La mezcla se dejó reaccionar por 30 minutos en reposo bajo oscuridad. El blanco de las muestras se preparó con agua destilada en lugar del extracto hidrofílico. La absorbancia se midió utilizando un espectrofotómetro (Genesys 10 UV, ThermoSpectronic, USA) a 755 nm. El contenido de CFT, se estimó a partir de la curva estándar de calibración de ácido gálico ($Y = 34,71X + 0,042$, donde $X = \text{mg}$ de ácido gálico/mL). Los resultados se expresaron como mg de GAE (equivalente de ácido gálico)/g de palta en base seca.

3.4.13 Determinación del ácido abscísico por UPLC-PDA

La extracción del ácido abscísico (ABA), se realizó siguiendo el método publicado por Shivashankara et al. (2004) con ligeras modificaciones, para lo cual se homogenizó 6 g de polvo congelado del mesocarpio de palta fresca finamente molida con 40 mL de metanol al 80 por ciento (25 mL para la primera extracción y 15 mL en la segunda extracción) siguiendo el mismo procedimiento para obtener los extractos hidrofílicos (de acuerdo a lo indicado en

3.4.12) hasta juntar los sobrenadantes. Posteriormente, los sobrenadantes se evaporaron a sequedad a 60 °C en rotavapor al vacío. El residuo seco se disolvió en 1 mL de metanol al 50 por ciento y se mantuvieron a -20 °C hasta su análisis. Los extractos presentaban una concentración aproximada de 1 mg de AGE/mL. Previo al análisis, las muestras se filtraron a través de filtros Millipore 0,22 µm PVDF a un vial.

El ABA, fue analizado usando un sistema UPLC Acquity HClass (Waters) equipado con un autoinyector, un detector PDA (detector de fotodiodo) y el software Empower. Se utilizó una columna Acquity BEH C18 (1,7 µm, 100 x 2,1 mm) (Waters) con un guarda columna BEH C 18 pre-column (1,7 µm, 5 x 2,1 mm) a 30 °C. La fase móvil estuvo compuesta por (A) ácido fórmico al 0,1 por ciento en agua MilliQ y (B) ácido fórmico en acetonitrilo. El gradiente empleado fue el siguiente: 2 por ciento de B por 2 minutos, 2-7 por ciento de B en 2 minutos, 7-12 por ciento de B en 11 minutos, 12-26 por ciento de B en 5 minutos y 26-55 por ciento de B en 5 minutos y 95 por ciento de B por 3 minutos. El flujo empleado fue 0,2 mL/min. La cuantificación del ABA se realizó a 260 nm (tiempo de retención 23,89 min), previa comparación del espectro de absorción del mismo con un estándar previamente inyectado. Los resultados se expresaron en mg/100 gramos de muestra en base seca (bs).

3.5 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.5.1 Muestreo

El tiempo de las cosechas individuales (primera, segunda y tercera cosecha) correspondió a cosechas comerciales de temporada temprana, intermedia y tardía. Se recolectaron 130 paltas de variedad 'Hass' por tiempo de cosecha en estado de madurez fisiológica. La primera y segunda cosecha se realizó el 17 de abril y el 29 de mayo de 2018, de 10 árboles marcados (4,0 metros de altura aproximada) de las plantaciones del fundo comercial Jorge Bustamante en Imperial-Cañete. La fruta procedió del mismo grupo de árboles durante la primera y segunda cosecha. La tercera cosecha de paltas fue el 13 de julio de 2017, sacados de 50 árboles (plantaciones jóvenes de 2,5 metros de altura aproximada) del campo de cultivo del Programa de Investigación y Proyección Social en Frutales de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). En cada muestreo se recolectaron frutos con un rango de peso entre 180-300 g, 220-300 g y 240-370 g para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. Las frutas se transportaron inmediatamente a las instalaciones del

laboratorio en el IBT y se enfriaron rápidamente a 17 °C durante una noche y al siguiente día se dividieron en un grupo de 10 frutos para el día 0, y tres grupos de 40 frutos para cada periodo de almacenamiento en AC: 15, 30 y 50 días. Todos los frutos fueron codificados y pesados (peso inicial) uno a uno con una balanza.

Para el estudio del almacenamiento en AC bajo refrigeración, se trabajó con tres bidones cilíndricos de polipropileno de 100 L (microcámaras), en los cuales se colocó 40 frutas dentro de canastillas de acero inoxidable, cada bidón representó un período de almacenamiento en AC. Los bidones una vez cargados, fueron cerrados herméticamente (Figura 4) a los cuales se le inyectó gas nitrógeno y CO₂, hasta alcanzar las concentraciones de 4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, todo ello bajo las condiciones de 7 °C y 80-90 por ciento de humedad relativa (HR), hasta cumplir el periodo de almacenamiento.

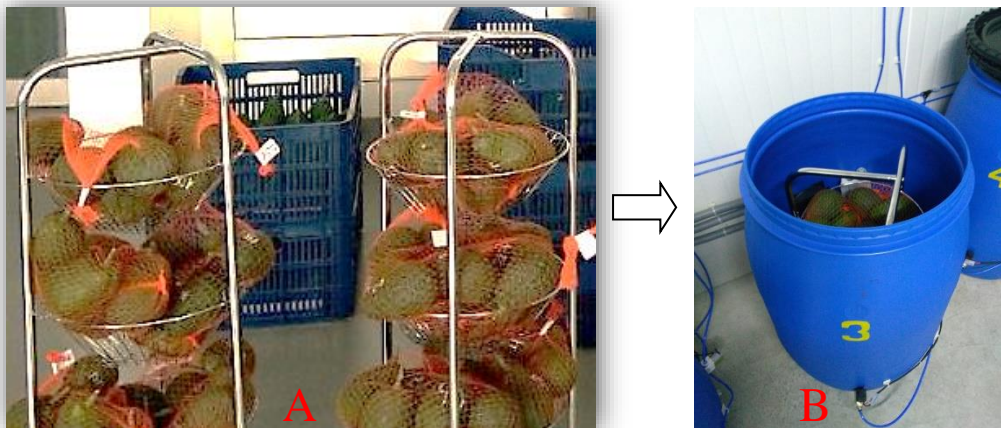


Figura 4. Palta 'Hass', acondicionada en cestas de acero inoxidable (A), para ser almacenadas bajo AC+refrigeración (B).

3.5.2 Diseño experimental

En la Figura 5, se presenta el esquema experimental seguido en la presente investigación. El análisis del estudio, fue dividido en dos partes:

(a) **Evaluación de la palta 'Hass' al final del periodo de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento de HR).** Esta parte estuvo dirigida a la evaluación del efecto del periodo de almacenamiento en condiciones de AC bajo

refrigeración, sobre las características fisiológicas (TR y pérdida de peso); físico-químicas (color de cascara, contenido de MS y aceite); actividades enzimáticas (PME y PG); metabolitos: azúcares, azúcares alcohol, ácidos orgánicos, perfil de ácidos grasos, tocoferoles, fitoesteroles, CFT, ABA y capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica.

En esta etapa se simuló los diferentes tiempos de tránsito marítimo a mercados de exportación de la palta peruana: EEUU (15 días), Unión Europea (UE) (30 días) y Asia (50 días). Por lo tanto, para cada tiempo de cosecha, las paltas según su periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (15, 30 y 50 días) fueron divididas en 4 tratamientos post-cosecha: T1: paltas recién cosechadas (día cero), T2: 15AC+refrigeración, T3: 30AC+refrigeración, y T4: 50AC+refrigeración. Un total de 10 paltas fueron evaluadas por cada tratamiento para luego ser analizadas (ver ítem 3.4) de forma individual. Los resultados presentados corresponden al promedio de las 10 mediciones \pm desviación estándar.

(b) Evaluación de la palta 'Hass' al alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento de HR). Esta parte estuvo dirigida a la evaluación del efecto de la maduración sobre las características físico-químicas (color de cascara, contenido de MS y aceite), actividades enzimáticas (PME y PG); metabolitos: azúcares, azúcares alcohol, ácidos orgánicos, perfil de ácidos grasos, tocoferoles y fitoesteroles, CFT, ABA y capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica. Asimismo, se evaluó la apariencia interna de cada fruta madura ($n = 30$) para ver presencia de trastornos fisiológicos.

Al término del período de almacenamiento en AC+refrigeración (15, 30 y 50 días) de cada tiempo de cosecha, se dejó 5 días adicionales de almacenamiento en refrigeración (7 °C) simulando el periodo desembarque y distribución. Luego las paltas ($n=30$) fueron transferidos a condiciones de anaquel (20 ± 2 °C y 60-70 por ciento HR), a fin de determinar el tiempo necesario para alcanzar su madurez de consumo (shelf life) en función a la firmeza de la misma. Por lo tanto, para cada tiempo de cosecha, las paltas maduradas después de 15, 30 y 50 días de almacenamiento en AC, fueron denominadas T5: 15AC+Anaquel, T6: 30AC+Anaquel y T7: 50AC+Anaquel respectivamente. Cuando la fruta estuvo en la etapa lista para comer “*ready to eat*”, confirmada con la medida de la firmeza de 4 a 13 N (Pedreschi et al. 2014) utilizando un presionómetro/penetrómetro, una muestra final de 10 paltas fue tomada al azar por cada tratamiento para ser analizados de forma individual. Es

importante recalcar que por cada toma de muestra (día 0, final del almacenamiento en AC y al alcanzar la madurez de consumo en anaquel), los frutos fueron partidos verticalmente en cuatro (previo a la medición de color de cascara y toma de peso), se le retiró la cáscara y semilla, y la cuarta (1/4) parte del mesocarpio fue troceada, congelada y molida bajo nitrógeno líquido, y se conservaron a -80 °C, hasta su respectivo análisis. En todos los casos se procedió a trabajar lo más rápido posible para mantener la muestra.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial, con 10 repeticiones por tratamiento y donde una unidad experimental representa a una palta. Los resultados obtenidos en el experimento se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) o la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (para variables de respuesta que no cumplieron supuestos de distribución de normalidad de errores y/o homogeneidad de varianzas) donde se evaluaron 2 factores: (i) el tiempo de cosecha (primera, segunda y tercera cosecha) y (ii) periodos de almacenamiento (15, 30 y 50 días) bajo condiciones de AC+refrigeración y posterior maduración de la palta 'Hass' en condiciones de anaquel. Las variables de respuesta evaluados fueron: TR, pérdida de peso, color de piel, contenido de MS y aceite, actividades enzimáticas PME y PG, azúcares, azúcares alcohol, ácidos orgánicos, perfil de ácidos grasos, tocoferoles y fitoesteroles, CFT, ABA y la capacidad antioxidante ABTS hidrofílica y lipofílica.

El promedio de los tratamientos se compararon utilizando la prueba de comparaciones múltiples Tukey o Bonferroni ($p < 0,05$) según corresponda. Todos los procedimientos estadísticos se realizaron en el software Statgraphics Centurión XVII.

Adicionalmente, se realizó el análisis multivariado: PLS-DA (Análisis Discriminante Mínimos Cuadrados Parciales) usando el software Unscrambler X10.4 (Noruega), con el fin de encontrar marcadores predictivos a cosecha, relacionados con la heterogeneidad de la maduración de la palta 'Hass' (expresada como la desviación estándar del promedio de días a madurez de consumo, en condiciones de anaquel).

Simulación del procedimiento de exportación de palta 'Hass'			
Tiempo de cosecha	PERÍODO DE TRANSITO MARÍTIMO A LUGAR DE DESTINO EN: Almacenamiento en Atmósfera Controlada (4 y 6 por ciento de O ₂ y CO ₂ y 7 °C, 80-90 por ciento HR)	DISTRIBUCIÓN EN: Refrigeración (7 °C, 80-90 por ciento HR)	COMERCIALIZACIÓN: Vida en anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR)
Primera Cosecha (17 de abril, 2018) (n= 130 paltas)	<ul style="list-style-type: none"> T1= Día 0 (n=10) T2= 15AC+refrigeración (n=40) T3= 30AC+refrigeración (n=40) T4= 50AC+refrigeración (n=40) 	<ul style="list-style-type: none"> 5 días 5 días 5 días 	Exposición de 30 frutos en anaquel, los días necesarios hasta alcanzar la madurez de consumo (firmeza de 4 a 13 N, según Pedreschi et al. 2014). <ul style="list-style-type: none"> T5= 15AC+Anaquel T6= 30AC+Anaquel T7= 50AC+Anaquel
Segunda Cosecha (29 de mayo 2018) (n= 130 paltas)	<ul style="list-style-type: none"> T1= Día 0 (n=10) T2= 15AC+refrigeración (n=40) T3= 30AC+refrigeración (n=40) T4= 50AC+refrigeración (n=40) 	<ul style="list-style-type: none"> 5 días 5 días 5 días 	<ul style="list-style-type: none"> T5= 15AC+Anaquel T6= 30AC+Anaquel T7= 50AC+Anaquel
Tercera Cosecha (13 de julio, 2017) (n= 130 paltas)	<ul style="list-style-type: none"> T1= Día 0 (n=10) T2= 15AC+refrigeración (n=40) T3= 30AC+refrigeración (n=40) T4= 50AC+refrigeración (n=40) 	<ul style="list-style-type: none"> 5 días 5 días 5 días 	<ul style="list-style-type: none"> T5= 15AC+Anaquel T6= 30AC+Anaquel T7= 50AC+Anaquel
ANÁLISIS	<p>Por tratamiento, se muestreó 10 paltas para analizar:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Características fisiológicas: tasa de respiración y pérdida de peso. -Características físico-químicas: color de cáscara, contenido de materia seca y aceite. -Actividades enzimáticas: PG y PME. -Metabolitos primarios: Compuestos polares (azúcares C6 y C7, azúcares alcohol y ácidos orgánicos) y perfil de ácidos grasos. -Metabolitos secundarios: Contenido de CFT, tocoferoles, fitoesteroles. -ABA -Compuestos bioactivos: capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica 		<p>Por tratamiento, se muestreó 10 paltas para analizar:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Características fisiológicas: pérdida de peso y trastornos fisiológicos del fruto. -Características físico-químicas: color de cáscara, contenido de materia seca y aceite. -Actividades enzimáticas: PG y PME. -Metabolitos primarios: compuestos polares (azúcares C6 y C7, azúcares alcohol y ácidos orgánicos) y perfil de ácidos grasos. -Metabolitos secundarios: Contenido de CFT, tocoferoles, fitoesteroles. -ABA -Compuestos bioactivos: capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica

Figura 5. Diseño experimental para el estudio fisicoquímico y metabolómico de la palta 'Hass' al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC, seguido de la maduración en anaquel.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

4.1.2 Pérdida de peso

La deshidratación es uno de los factores más importantes que lidera el deterioro, por lo que el mantenimiento de un alta HR durante el almacenamiento y transporte contribuye a la disminución de la pérdida de humedad. Por lo tanto, similar a otras frutas, el almacenamiento de la palta debe considerar almacenajes con humedades de cámara no inferiores al 90 por ciento para evitar que la deshidratación de la fruta supere un 5 a 10 por ciento, nivel que no comprometería su valor comercial a pesar de la pérdida de volumen (Berger 1996). No obstante, algo de pérdida de peso es importante para promover la maduración de la palta y de hecho, la pérdida de peso ha sido considerado como un posible desencadenante de la maduración (Dixon et al. 2003). Una leve deshidratación, puede causar aceleración de la maduración especialmente en paltas, lo que se relaciona con una síntesis de etileno (Adato y Gazit 1974) y un aumento de la tasa de respiración (Biale y Young 1971).

En la Figura 7, se reporta los valores de pérdida de peso de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos a 15, 30 y 50 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR) y después al alcanzar la madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de pérdida de peso para cada tratamiento se presentan en el Anexo 3. La pérdida de peso fue calculada respecto al peso de la palta recién cosechada.

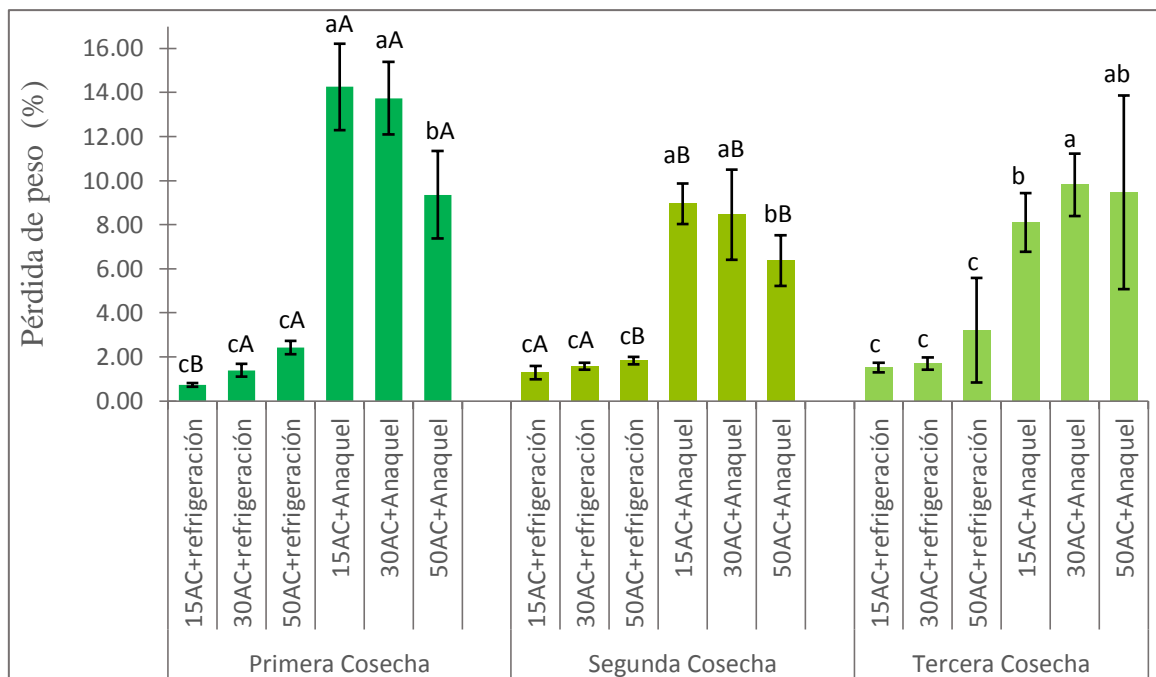


Figura 6. Pérdida de peso (%) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al final del período de almacenamiento en AC+refrigeración, y después de alcanzar la madurez de consumo en anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

No se observó diferencias significativas en la pérdida de peso ($p > 0,05$) entre los períodos de almacenamiento en AC+refrigeración para los tres tiempos de cosecha. Los resultados (promedio 2 por ciento) indican que tiende a mantenerse constante. El período de almacenamiento con el grado de pérdida de agua durante las condiciones de almacenamiento bajo AC+ refrigeración no parecían estar relacionados, el cual ha contribuido a la reducción de la velocidad de respiración y retardo de la madurez muy relacionados a la pérdida de peso (Kassim et al. 2013).

Por otro lado, cuando los frutos fueron trasladados de AC+refrigeración a condiciones de anaquel hasta alcanzar la madurez de consumo, la pérdida de peso aumentó significativamente para los tres tiempos de cosecha. Encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) en paltos madurados de 15, 30 y 50 (AC+Anaquel) de la primera cosecha (14,3 a 9,3 por ciento) y segunda cosecha (8,9 a 6,3 por ciento), donde los valores más altos de

pérdida de peso correspondieron a la primera cosecha, con una tendencia a disminución a lo largo del periodo de almacenamiento. En los frutos de la tercera cosecha, la pérdida de peso osciló entre 8,1 a 9,4 por ciento, e incrementó conforme estuvo más tiempo en almacenamiento de AC+refrigeración.

Los resultados de la pérdida de peso durante la maduración, fueron cercanos al estudio de Donetti (2011) en palta 'Hass' de Perú (que tuvo un tiempo de transito de 33 a 39 días a 5°C), el cuál fue almacenado a 18 °C por 7 días, y reportó 8,8; 6,0 y 7,8 por ciento de pérdida de peso para la fruta de temporada temprana, media y tardía respectivamente. La mayor pérdida de peso en condiciones de anaquel para los frutos de la primera cosecha, estaría relacionado con su alto contenido de humedad. Al respecto, Bill et al. (2014), mencionan que la pérdida de peso, consiste en la pérdida de agua por transpiración y la pérdida de carbono por la respiración.

4.1.1 Tasa de respiración

Es importante conocer la tasa de respiración (TR) para saber cómo la fruta se comporta en el proceso de maduración. La palta es una fruta climatérica caracterizada por un fuerte aumento de la tasa respiratoria durante la maduración, lo cual significa un brusco incremento en la producción de CO₂ y etileno (C₂H₄) (Kader 1992). Se pueden distinguir tres etapas en la respiración de la palta; el preclimacterio (respiración mínima), climaterio (respiración máxima) y postclimaterio (disminución de la respiración). Es durante las etapas preclimaterica y climatérica donde ocurren muchos de los cambios asociados con la maduración (Kassim et al. 2013). Al disminuir el nivel de O₂ e incrementar el CO₂, disminuye la TR y se prolonga el tiempo para alcanzar el climaterio, sostiene Faubion et al. (1992). El almacenamiento en frío y en AC, es la herramienta más efectiva para reducir la TR y la producción de etileno, reduciendo así las tasas de procesos metabólicos propios de la madurez y senescencia y extendiendo la vida post-cosecha de la fruta (Kassim et al. 2013, Kader 1985).

En la Figura 6, se reporta la TR de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, determinada al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR). La producción de CO₂ se registró a

temperatura ambiente (18 - 20 °C). Las medias de los resultados de la TR para cada tratamiento se presentan en el Anexo 2.

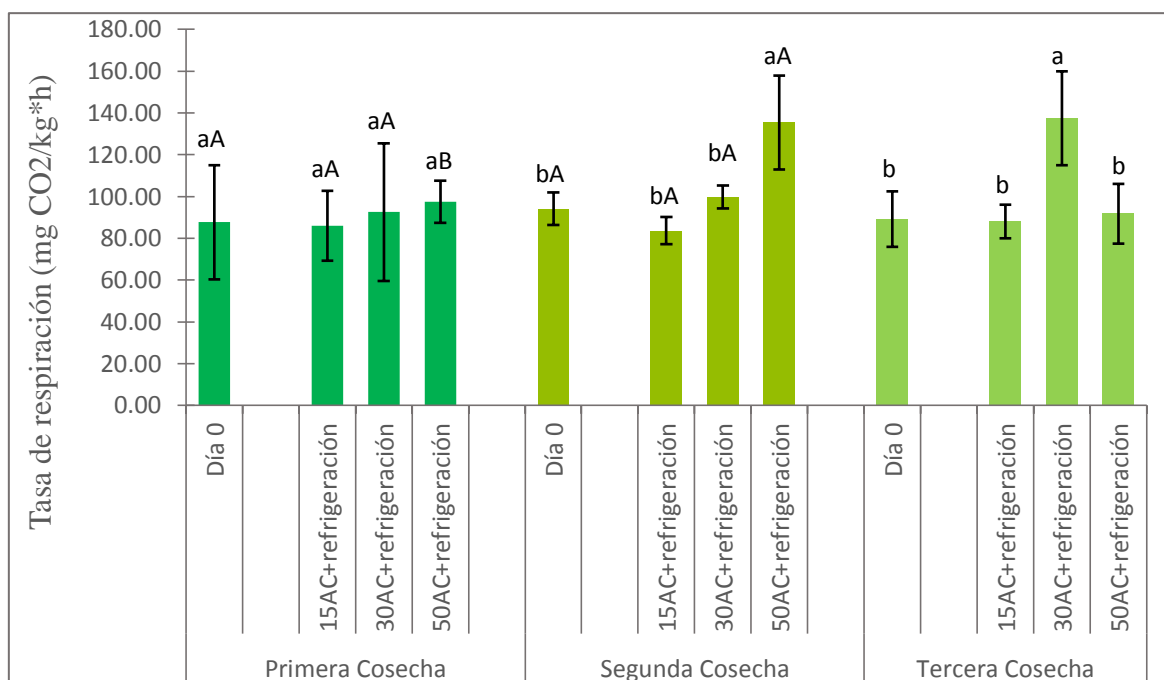


Figura 7. Tasa de respiración (mg CO₂/kg*h) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0) y final del período de almacenamiento en AC+refrigeración. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa (p<0,05) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes ± desviación estándar.

En general, se observa que no existe diferencias significativas en la TR en el día de cosecha (día 0) entre la primera y la segunda cosecha. La TR de los frutos de la primera cosecha durante el almacenamiento bajo AC+ refrigeración a 15, 30 y 50 días no presentaron diferencias significativas, encontrándose sus valores entre 85,9 a 104,3 mg CO₂/Kg*h. En la segunda cosecha, la TR bajo AC+refrigeración se mantuvo estable (83,8 - 99,8 mg CO₂ /Kg*h) hasta los 50 días donde se presentó el pico climatérico (135,5 mg CO₂ /Kg*h). Los frutos de la tercera cosecha, mostraron similares valores de TR en comparación a las primeras cosechas, y se mantuvo constante hasta los 30 días donde alcanzó el pico climatérico (137,4 mg CO₂ /Kg*h).

El aumento de la TR y formación del pico climatérico en la segunda y tercera cosecha durante el almacenamiento, podría estar relacionado con lo mencionado por Herrera-González et al. (2017); que los frutos cosechados con mayor contenido de materia seca que generalmente corresponden con las cosechas tardías presentan mayor producción de etileno y mayor velocidad de respiración. Asimismo, Barmore y Rouse (1976), sostiene que el ablandamiento es discernible aproximadamente 2 días después del pico climatérico. El tiempo transcurrido entre la cosecha, el pico climatérico, el pico de etileno y el ablandamiento se hace progresivamente más corto a medida que el fruto madura.

Los valores de la TR obtenidos son cercanos a lo reportado por Hernández et al. (2017) en palta 'Hass' chilena sometidas a las condiciones de AC (4 kPa O₂ y 6 kPa CO₂ a 5 °C por 30 d), por ejemplo a 15 días de almacenamiento presentaron valores de 80 y 70 mg CO₂/kg*h a 20 °C para la temporada temprana e intermedia respectivamente. Asimismo, Alamar et al. (2017) sugieren que la atmósfera controlada retrasa el pico climatérico y, en general, reduce la producción de etileno, y reportaron una TR de 76 mg CO₂/kg*h durante el almacenamiento en AC (10 kPa CO₂ y 5 kPa O₂ a 5 °C), siendo este valor cercano a lo encontrado en el presente estudio para 15AC+refrigeración de la primera cosecha.

4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Las propiedades físicas están relacionadas principalmente con la apariencia y el atractivo estético de la palta a los que los consumidores están expuestos inicialmente, lo que influye en su decisión de compra. Los parámetros de calidad física de la palta incluyen el color de la piel, la firmeza, la textura y los trastornos fisiológicos (Kassim et al. 2013).

4.2.1 Color de cáscara

El color de la cáscara de la palta es un indicador importante del estado de madurez para la industria y los consumidores (Cox et al. 2004). El cambio de color que se verifica durante el proceso de maduración en paltas de la variedad 'Hass' se ha atribuido a una disminución en la clorofila, luminosidad (L*), pureza de color (C*) y tono/matiz de la piel (h°) y un aumento en cianidina 3-O-glucósido (Ashton et al. 2006, Cox et al. 2004). Y es precisamente, este cambio de color de verde a pardo/negro que la fruta presenta a medida que madura, una de las razones de preferencias del consumidor por la palta 'Hass'. Pero, al llegar la fruta a

mercado de destino, tal vez es el color de cáscara el que más evidencia el nivel de heterogeneidad de la palta en la caja, pallet o contenedor. La falta de homogeneidad en este atributo es conocida como el "tablero de ajedrez" o "checkerboard" y a lo mejor es el más reconocido por la industria en toda la cadena de comercialización (Defilippi et al. 2012).

En la Figura 8, se reporta los cambios en los parámetros de color expresados como coordenadas colorimétricas en la escala CIELAB utilizando la notación L*, C* y h° en la cáscara de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de color de cáscara para cada tratamiento se presentan en el Anexo 4.

Los valores de L* (36,7 a 32,6) y h° (126,2 a 121,2) disminuyeron (p<0,05), mientras el valor de C* (21,6 a 21,0) no cambió con el tiempo de cosecha (primera a segunda) (día 0). Entre los periodos de almacenamiento (15, 30 y 50AC+refrigeración) no hubo variaciones estadísticamente significativas en los parámetros de L*, C* y h° para la primera y segunda cosecha, aunque aumentó el croma en los frutos de la segunda cosecha, lo que indicaría que bajo AC+refrigeración no se han desencadenado reacciones que involucren cambios de los pigmentos como la clorofila o la aparición de otros como la antocianina que evidencia la maduración en esta variedad (Cox et al. 2004).

Los frutos de la tercera cosecha (día 0), presentaron valores más bajos de h° (123,3), L*(30,8) y C*(13,6), los cuales se veían menos verde, más oscuro y más apagado en apariencia, en comparación a los frutos de las primeras cosechas. Sin embargo, el valor de L*, incrementó significativamente en proporción a la duración del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración; es decir los frutos de 50AC+refrigeración presentaron un color más brillante (L* = 32,9). Al respecto, Cox et al. (2004) y Yahia (2012), observaron cambios en el color de la piel de la fruta de temporada tardía incluso antes de la cosecha, lo que da como resultado una fruta oscura con mesocarpio firme.

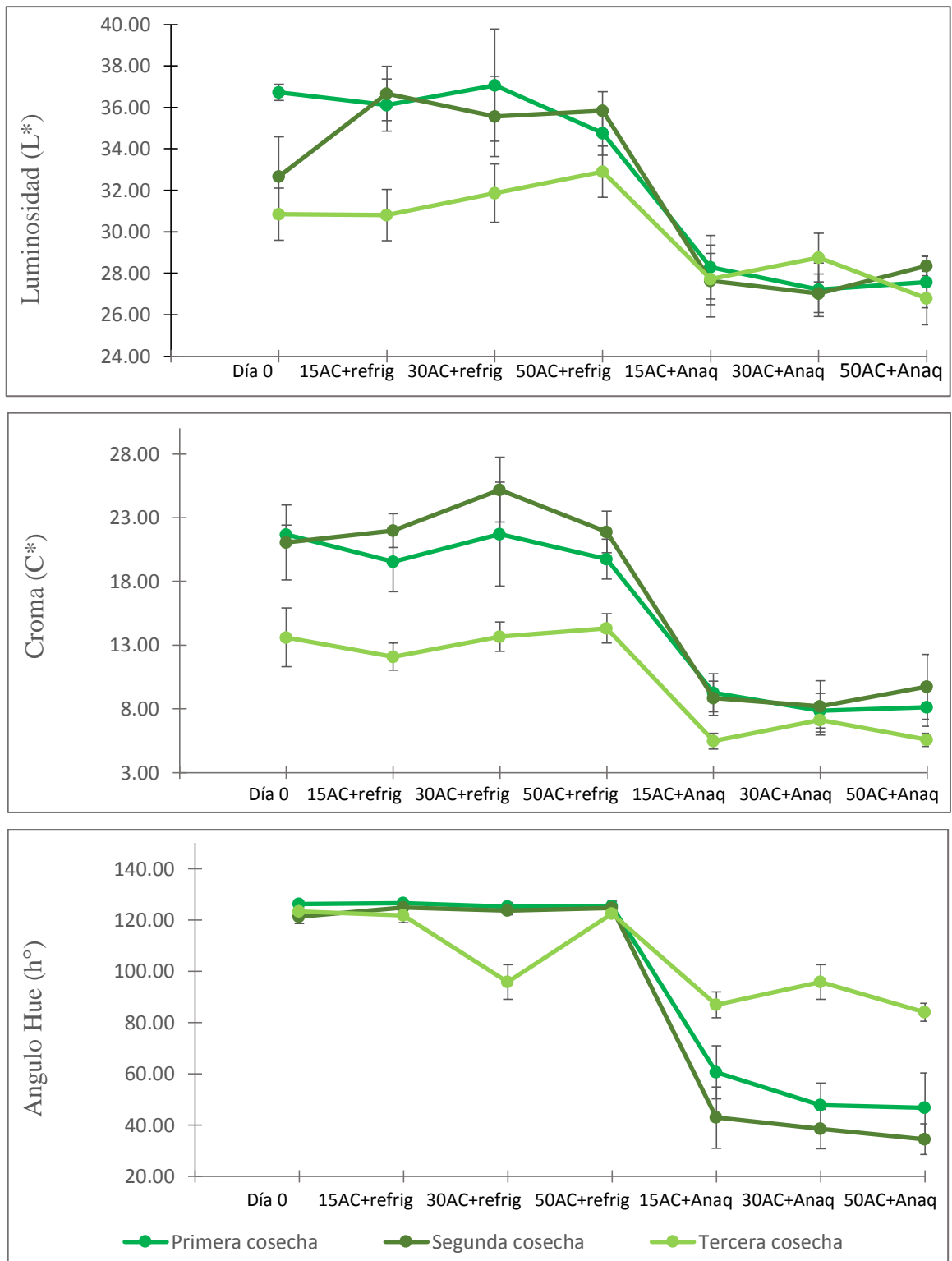


Figura 8. Cambios en los parámetros de color; L*, C* y h° en la cáscara de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del período de almacenamiento en AC+refrigeración, y cuando alcanzaron la madurez de consumo en anaquel respectivamente.

Una vez que los frutos de las tres cosechas se transfirieron a condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) para su maduración, empezaron a perder brillo, color, los mismos que fueron contrastados con la disminución de los valores de los parámetros de color (L^* , C^* y h°) (Figura 9). Al respecto, Cox et al. (2004) indican que, el color de piel de la palta durante el proceso de maduración cambia de verde a púrpura y/o negro, debido a la degradación de la clorofila y seguido de un aumento en la síntesis de cianidina 3-O-glucósido que confería colores oscuros. Estos cambios de pigmento son altamente correlacionados con el cambio de color de la piel, que también está influenciado por la temperatura de maduración. La síntesis de antocianinas ha sido observada en respuesta a las tensiones ambientales. Una disminución inicial en la concentración de clorofila ocurre durante la maduración, pero después de 4 a 5 días de maduración a todas las temperaturas, los niveles de clorofila no cambia significativamente (Cox et al. 2004).

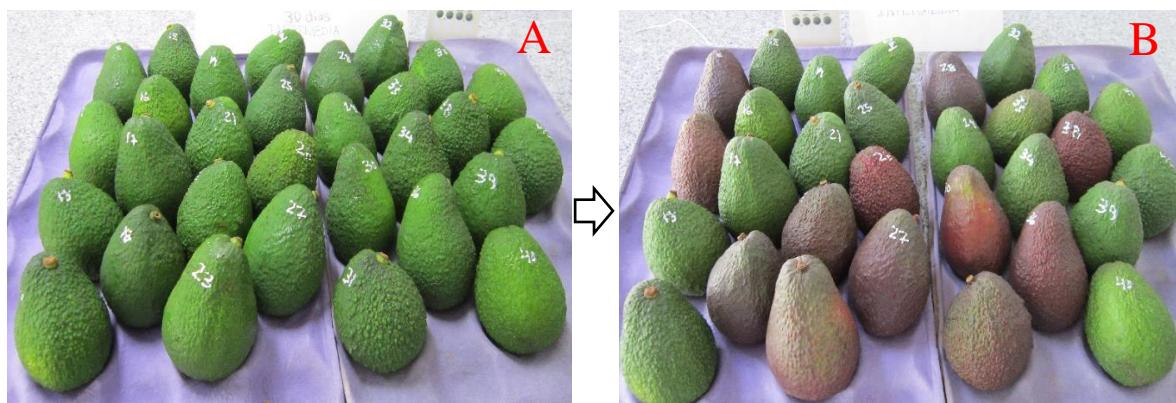


Figura 9. Cambios en el color de cáscara de la palta 'Hass' procedente de la segunda cosecha a 15 días de almacenamiento en AC+refrigeración (A), seguido de almacenamiento en anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) hasta alcanzar la madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) (B) respectivamente.

Del cambio de color de la cáscara, la diferencia más pronunciada fue para los frutos de la primera y segunda cosecha (presentaron cáscara púrpura), los cuales experimentaron una caída más rápida en C^* y h° una vez que fueron puestos a condiciones de anaquel. Sin embargo, parecían estar en un estado menos maduro ya que h° presentaba valores más bajos en comparación con los frutos de la tercera cosecha (presentaron cáscara negra). Al respecto, Cox et al. (2004) mencionan que la ubicación geográfica del cultivo, parece jugar un papel en la coloración de la piel de la palta 'Hass', la fruta cultivada en California gira directamente

a un color negro, y observó en los mercados californianos que las paltas chilenas y neozelandesas presentaban color púrpura durante la maduración. Asimismo, Villa-Rodríguez et al. (2011) observaron en palta 'Hass' mexicana el cambio de color de la piel, de verde a púrpura, a continuación a negro durante su maduración

Los resultados obtenidos son consistentes con el estudio previo de Donetti (2011) para palta 'Hass' de Perú, quien reportó valores de L^* (28,0; 25,7; y 27,6) e intensidad de color C^* (10,6; 10,8 y 8,6) para la fruta de temporada temprana, media y tardía respectivamente, madurados a 18 °C después de 7 días.

4.2.2 Contenido de materia seca y aceite

A diferencia de otras frutas, la palta acumula aceite en lugar de azúcares, por lo que el metabolismo del aceite durante el crecimiento, el desarrollo y la maduración ha sido de gran interés (Salas et al. 2000). El uso del porcentaje de materia seca (MS) como indicador de madurez de la palta es ampliamente aceptado y se han establecido valores mínimos como estándar legal para cada cultivar en la mayoría de los países (Carvalho y Velásquez 2015). El contenido mínimo de MS requerido varía de 17 a 25 por ciento, dependiendo del cultivar y el país (Yahia y Woolf 2011). En los valles de la costa central del Perú, la palta 'Hass' se cosecha generalmente con un contenido mínimo de aceite de 8-9 por ciento y con un contenido de MS del 20-21 por ciento (Franciosi 2003). Las frutas cosechadas con niveles de MS por debajo del mínimo recomendado madurarán de forma irregular y no desarrollarán completamente sus atributos de calidad. De manera similar, los frutos cosechados con alta MS experimentan una rápida maduración y tienen una vida útil reducida (Wu et al. 2011). El contenido de MS y de aceite durante la maduración después de la cosecha temprana, es mucho menor cuando se compara con la fruta que se mantuvo en el árbol (Lu et al. 2009). Esto podría ser debido a la inactivación de la acetil-CoA carboxilasa, una enzima clave para la producción de ácidos grasos de cadena larga a partir de acetato 14C en los tejidos de la palta, una vez que ha sido cosechado (Salas et al. 2000).

En la Figura 10, se presenta la evolución del contenido de MS (%) y aceite (%) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), 15, 30 y 50 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento

HR) y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de MS y aceite para cada tratamiento se presentan en el Anexo 5 y 6 respectivamente.

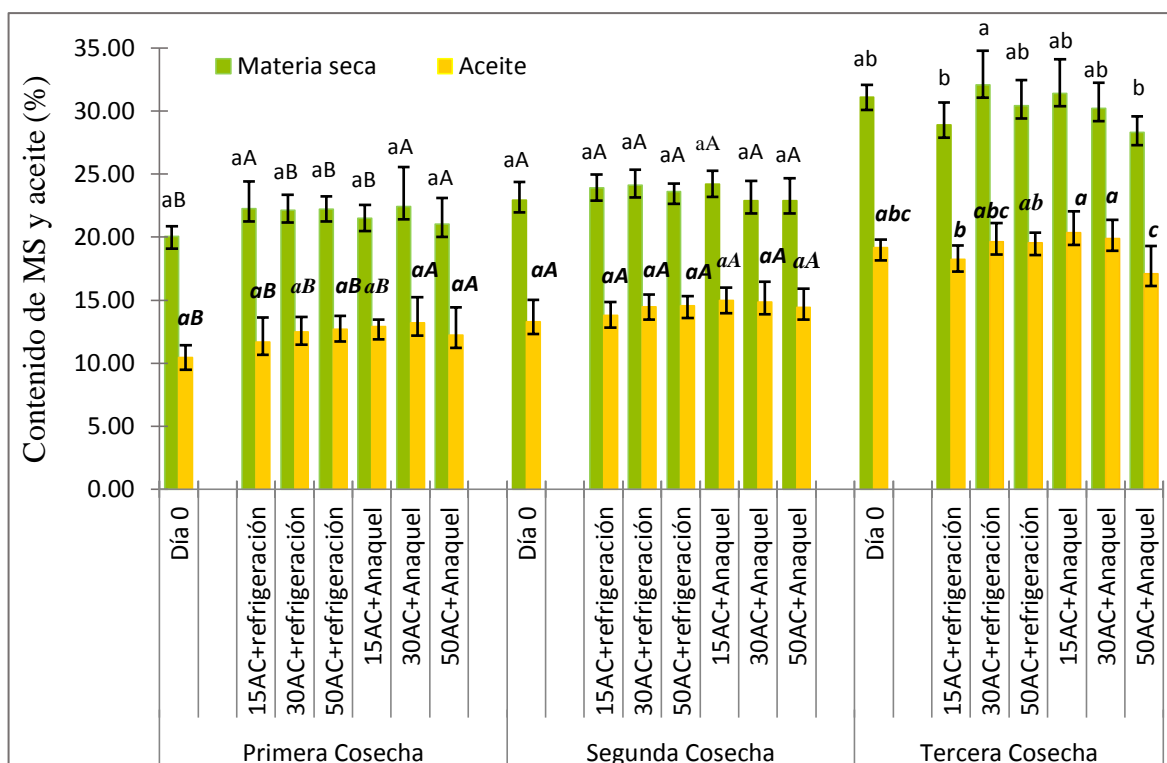


Figura 10. Evolución del contenido de MS (%) y aceite (%) de palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del período de almacenamiento en AC+refrigeración, y después de alcanzar la madurez de consumo en anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

El contenido de MS incrementó ($p < 0,05$) con el tiempo de cosecha, observándose una diferencia significativa entre la primera y segunda cosecha (20,0 y 22,3 por ciento al día 0). En los frutos de la tercera cosecha (día 0), el contenido de MS fue mucho más alto (31,1 por ciento) en comparación a las primeras cosechas. Este comportamiento de tendencia al incremento al retrasar la cosecha fue también observado por otros autores (Ozdemir y Topuz 2004, Wang et al. 2012, Donetti y Terry 2014, Lu et al. 2009).

Durante el periodo de almacenamiento en AC+refrigeración el contenido de MS se mantuvo constante ($p>0,05$) para las tres cosechas, esto evidencia que estas condiciones de almacenamiento aplicados evitaron incrementos en el contenido de MS, el cual podría estar relacionado con la mayor velocidad de respiración, y este con la maduración (Herrera-González et al. 2017).

Resultados similares de contenido de MS han sido reportados por Donetti y Terry (2014) para palta 'Hass' de Perú (procedente de La Libertad) antes de su almacenamiento (día 0) valores de 21,39; 22,38 y 26,50 por ciento para la temporada temprana, media y tardía correspondiente a los meses de mayo, junio y julio respectivamente, concluyendo que el contenido de MS podría ser un indicador más apropiado para distinguir los frutos de temporada temprana y tardía dentro de un mismo origen, ya que no encontraron diferencias significativas entre las primeras temporadas.

No hubo cambios significativos en el contenido de MS con la maduración de los frutos en anaquel para los tres tiempos de cosecha ($p>0,05$). Respecto a este comportamiento de tendencia constante, otros estudios evidencian incrementos de MS durante la maduración, resultados contrarios al presente estudio. Por ejemplo Ozdemir y Topuz (2004); Villa-Rodríguez et al. (2011) señalan que la MS aumentó con la madurez, independientemente del área de cultivo (Donetti y Terry 2014). Asimismo, Osuna-García et al. (2010) indicaron que durante la maduración de la fruta, hay un aumento en el contenido de aceite y la palatabilidad y una disminución en el contenido de humedad.

El contenido de aceite aumentó ($p<0,05$) con el tiempo de cosecha (primera a segunda) (10,4 a 13,0 por ciento al día 0) (Figura 10). Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron el más alto contenido de aceite (19,1 por ciento). Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración el contenido de aceite no varió significativamente para los tres tiempos de cosecha.

Los resultados están de acuerdo con lo reportado por Hofman et al. (2002), quienes sostienen que el aceite se acumula hasta la cosecha, por lo tanto, la fruta de temporada tardía tiene una concentración mucho más alta de aceite que la fruta de temporada temprana, entre el 9 y el

14 por ciento. Asimismo, investigaciones anteriores también han reportado pocos cambios en la cantidad o la composición de los lípidos acumulados en el mesocarpio de la palta, durante el almacenamiento a baja temperatura (Eaks 1990, Luza et al. 1990). También otros reportes indican que la mayor parte de la fracción lipídica se sintetiza durante el crecimiento y desarrollo del fruto (Platt-Aloia y Thomson 1981), verificándose pocas modificaciones después de la cosecha (Ozdemir y Topuz 2004 y Landahl et al. 2009).

No hubo variaciones estadísticamente significativas en el contenido de aceite con la maduración de los frutos en anaquel ($p>0,05$) para la primera y segunda cosecha. Sin embargo, se observó un incremento significativo en el contenido de aceite a 15AC+Anaquel ($p>0,05$) de la tercera cosecha.

El contenido estable del aceite en la maduración de los frutos, en las primeras cosechas, podría explicarse con los resultados de otros estudios como el de Lu et al. (2009). Asimismo, Blakey et al. (2012), observaron en paltas 'Hass' de Sudáfrica, que las concentraciones de aceite permanecieron constante durante la maduración, y solo mostró un ligero incremento en la tercera cosecha. También, Meyer y Terry (2008) informaron un cambio mínimo en la composición de ácidos grasos en el mesocarpio de la palta durante la post-cosecha, y el incremento de la concentración de aceite durante el almacenamiento y la maduración pueden ser atribuidos a la deshidratación post-cosecha y al incremento de la recuperación de aceite debido al rompimiento parcial de la pared celular. El incremento en el contenido de aceite durante la maduración de los frutos de la tercera cosecha (15AC+Anaquel) está de acuerdo a lo reportado por Ozdemir y Topuz (2004) y Villa-Rodríguez et al. (2011).

Por otro lado, los cambios en el contenido de aceite mostraron tendencias paralelas a los cambios en la materia seca, por lo que están altamente correlacionados (correlación Pearson, $p<0,01$) $r = 0,821$; $r = 0,760$ y $r = 0,760$ para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. Al respecto, Lee *et al.* (1983), sostienen que existe una relación lineal directa entre los niveles de MS y aceite. Asimismo, el contenido de MS y aceite están relacionadas directamente por la edad fisiológica de la fruta (Donetti 2011).

4.3 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA POLIGALACTURONASA Y PECTINMETILESTERASA

La firmeza de la palta, es un parámetro de calidad muy importante y como tal, está muy influenciado por la composición y la arquitectura de la pared celular. Durante el crecimiento, la pared celular protege y da forma a la fruta, y luego, durante la maduración, su desmontaje tiene fuertes implicaciones en la percepción de la calidad y la vida útil (Pedreschi et al. 2019). La celulasa, el α - β -galactosidasa, PG y PME son las enzimas involucradas en la despolimerización de estructuras de pared celular identificadas en la fruta del palto

En la Figura 11, se presenta la evolución de las actividades enzimáticas PME y PG en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d en AC+refrigeración y al alcanzar la madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel respectivamente. Las medias de los resultados de PME y PG para cada tratamiento se presentan en el Anexo 7 y 8 respectivamente.

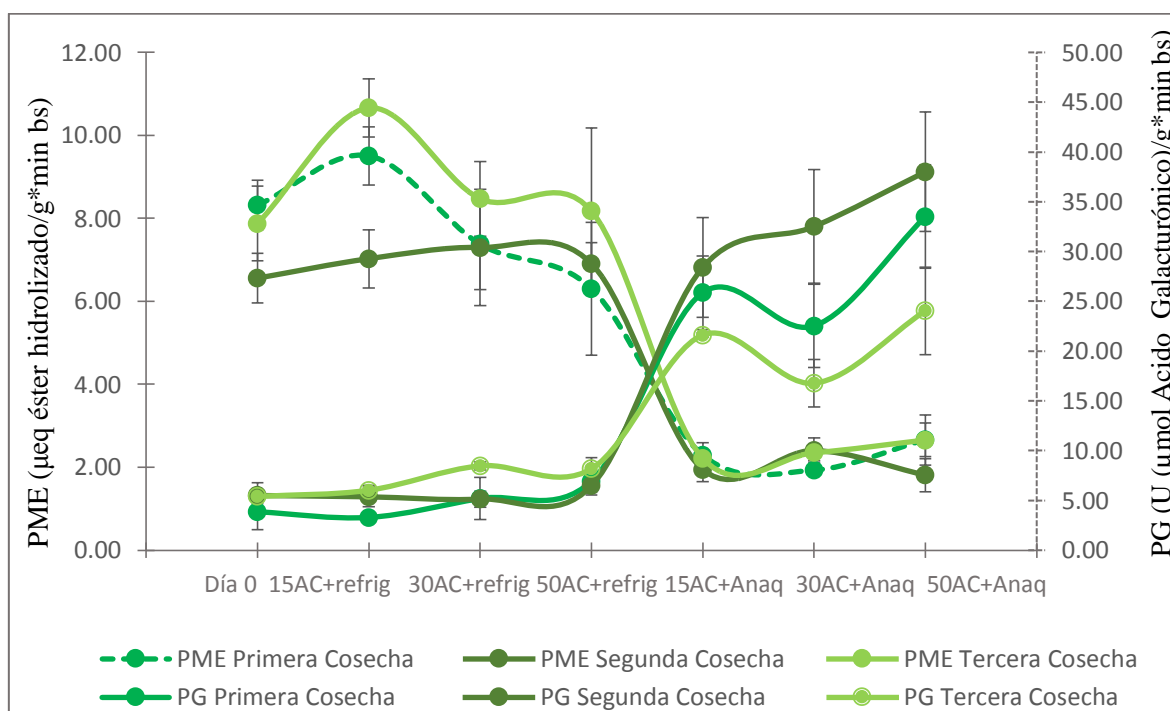


Figura 11. Evolución de la actividad PME y PG en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O_2 y CO_2 , 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 \pm 2 °C, 60-70 por ciento HR), respectivamente.

La concentración inicial (día 0) de la actividad PME fue 8,3; 6,5 y 7,8 μeq éster hidrolizado/ $\text{g}\cdot\text{min}$ bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. La actividad PME disminuyó significativamente ($p<0,05$) en relación al tiempo de cosecha entre la primera y la segunda cosecha. Mientras, que los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron valores similares a la primera cosecha. La actividad PME, presentó una tendencia estable entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración para los tres tiempos de cosecha, excepto de valores bajos a 50 d (6,3 μeq éster hidrolizado/ $\text{g}\cdot\text{min}$ bs) de la primera cosecha, y valores más altos a 15 d (10,6 μeq éster hidrolizado/ $\text{g}\cdot\text{min}$ bs) de la tercera cosecha.

Awad y Young (1979) sostienen, que la actividad PME tiende a disminuir conforme la tasa de etileno aumenta (inicio de la maduración), y el aumento de la respiración y la producción de etileno estarían relacionados con el rápido aumento de las enzimas despolimerizantes de la pared celular. Lo que explicaría la disminución de PME conforme se retrasa el tiempo de cosecha (primera a segunda).

En general, la actividad PME disminuyó ($p<0,05$) con la maduración de los frutos en anaquel para los tres tiempos de cosecha. Aunque, se observó menor actividad PME en 50AC+Anaquel para los frutos de la segunda cosecha en comparación a la primera cosecha.

Los valores de la actividad PME encontrados en este estudio, concuerdan con lo reportado por Awad y Young (1980), quienes reportaron un valor 6,8 μeq éster/ $\text{g}\cdot\text{min}$ ($\sim 9,71$ μeq éster/ $\text{g}\cdot\text{min}$ bs) en palta 'Hass' preclimaterica proveniente de EEUU. También, Awad y Young (1979) reportaron que la palta "Fuerte" presenta su valor más alto de actividad PME (6 μeq éster/ $\text{g}\cdot\text{min}$ en peso fresco) a 0 días después de la cosecha, mientras que a 8 días después de la cosecha la actividad PME presenta al principio del climaterio su valor más bajo de 1,8 μeq éster/ $\text{g}\cdot\text{min}$ en peso fresco ($\sim 2,57$ μeq éster/ $\text{g}\cdot\text{min}$ bs).

La concentración inicial (día 0) de la actividad PG fue 3,8; 4,8 y 5,6 $\text{U}/\text{g}\cdot\text{min}$ bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente (Figura 11). No se observó diferencias significativas en los valores de la actividad PG con el tiempo de cosecha entre los frutos de la primera y segunda cosecha. Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron una actividad PG con valores cercanos a las primeras cosechas.

Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración los valores de PG se han mantenido constantes ($p>0,05$) para los tres tiempos de cosecha. Aunque, se observó una menor actividad PG a 15 d almacenamiento para la primera cosecha en comparación a la segunda cosecha. La baja actividad PG posiblemente se debe a que frutas fisiológicamente inmaduras podrían haber formado parte del lote. Según, Blakey y Bower (2007) la fruta inmadura podría tener una biosíntesis anormal de maduración donde están involucradas enzimas tales como PG y PME. Sobre el comportamiento de tendencia estable de la actividad PG entre los periodos de almacenamiento, es tal vez, debido a lo mencionado por Metzidakis y Sfakiotakis (1993) que la actividad de la enzima celulasa y PG son suprimidas por bajas concentraciones de oxígeno (1,2 y 5 por ciento). Por otro lado, también es bien sabido, que el almacenamiento en frío induce la síntesis de etileno en frutos sensibles al enfriamiento, y PG podría ser acelerado por la acción del etileno potenciada por el frío (Megías et al. 2014).

Resultados de similar tendencia, presentaron Hernández et al. (2017) quienes reportaron que la actividad específica (U/ μ g proteína) de PG y PME en palta 'Hass' no mostraron diferencias significativas entre los periodos de medición (1, 8, 15 y 21 d) durante el almacenamiento en AC (4 kPa O₂ y 6 kPa CO₂ a 5 °C por 30 d) para las temporadas temprana e intermedia.

En general, la actividad PG incrementó ($p<0,05$) con la maduración en anaquel a 15, 30 y 50 (AC+Anaquel); los frutos de la primera (25,8; 22,5 y 33,5 U/g*min bs) y segunda cosecha (24,8; 32,5 y 38,0 U/g*min bs) presentaron valores más altos de actividad PG con respecto a la tercera cosecha (21,6; 16,7 y 24,0 U/g*min bs). Mientras más prolongado fue el periodo de almacenamiento en AC+refrigeración, los frutos mostraron valores más altos de actividad PG, excepto el tratamiento 30AC+Anaquel de la tercera cosecha que presentó una baja actividad PG ($p<0,05$), el cual podría relacionarse con la mayor firmeza ($8,6 \pm 0,3$ N) que presentaron los frutos al llegar a la etapa de madurez de consumo (Item 4.7), en comparación al tratamiento 50AC+Anaquel de la segunda cosecha que alcanzó una alta actividad PG con una menor firmeza ($5,3 \pm 0,9$ N), los mismos que mostraron menor actividad PME. Parece que a menor actividad PME, mayor es la actividad PG, contrariamente a lo mencionado por Blakey et al. (2009).

La tendencia creciente de PG durante la maduración, está de acuerdo a lo reportado por Awad y Young (1979) quienes mostraron que la actividad PG no se detectó en la etapa pre-

climaterica en palta variedad “Fuerte” provenientes de EEUU, y que a partir de los 8 días de cosecha se evidenció la primera actividad PG presentando un valor de $0,133 \mu\text{m AG/g}\cdot\text{min}$ ($\sim 0,19 \mu\text{m AG/g}\cdot\text{min bs}$), mientras que a 11 días después de la cosecha (final del climaterio) la actividad PG presentó su valor más alto de $8 \mu\text{mol AG/g}\cdot\text{min}$ ($\sim 11,43 \mu\text{m AG/g}\cdot\text{min bs}$), y continuó en aumento la actividad PG durante la fase posclimaterica a un nivel tres veces mayor que cuando la fruta alcanzó la etapa de madurez de consumo.

4.4 METABOLITOS PRIMARIOS

4.4.1 Azúcares y ácidos orgánicos

a. Azúcares

Los carbohidratos son una fuente esencial de energía para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de la palta (Liu et al. 1999, Tesfay et al. 2012). Dos heptosas (C7), la manoheptulosa y el perseitol, además de producirse abundantemente en el palto, también se encuentran en los jugos de floema y xilema como azúcares móviles. Se deduce que la manoheptulosa se puede reducir a perseitol, y el perseitol también se puede oxidar a manoheptulosa mediante enzimas aldolasa presentes en un extracto de proteína del mesocarpio (Teskay et al. 2009). Las heptosas, azúcares de siete carbonos son la representación más grande de carbohidratos de reserva de la palta. Además de este tipo de azúcares han sido identificados otros como el disacárido sacarosa y sus componentes hexosas glucosa y fructosa que a diferencia de otras frutas están presentes en pequeñas cantidades (Liu et al. 1999). La manoheptulosa, se considera un producto fotosintético primario, que actúa como fuente de energía (Teskay et al. 2012), y disminuye a medida que la fruta madura, hecho que ha llevado postular que puede actuar como inhibidor del proceso de maduración (Liu et al. 2002)

En la Figura 12, se reporta la evolución del contenido de los azúcares C7 en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O_2 y CO_2 , 7°C , 80-90 por ciento HR) y después al alcanzar la madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel

(20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de los azúcares C7, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 9 y 10 respectivamente. Los azúcares C7 fueron identificados y cuantificados en LC-MS.

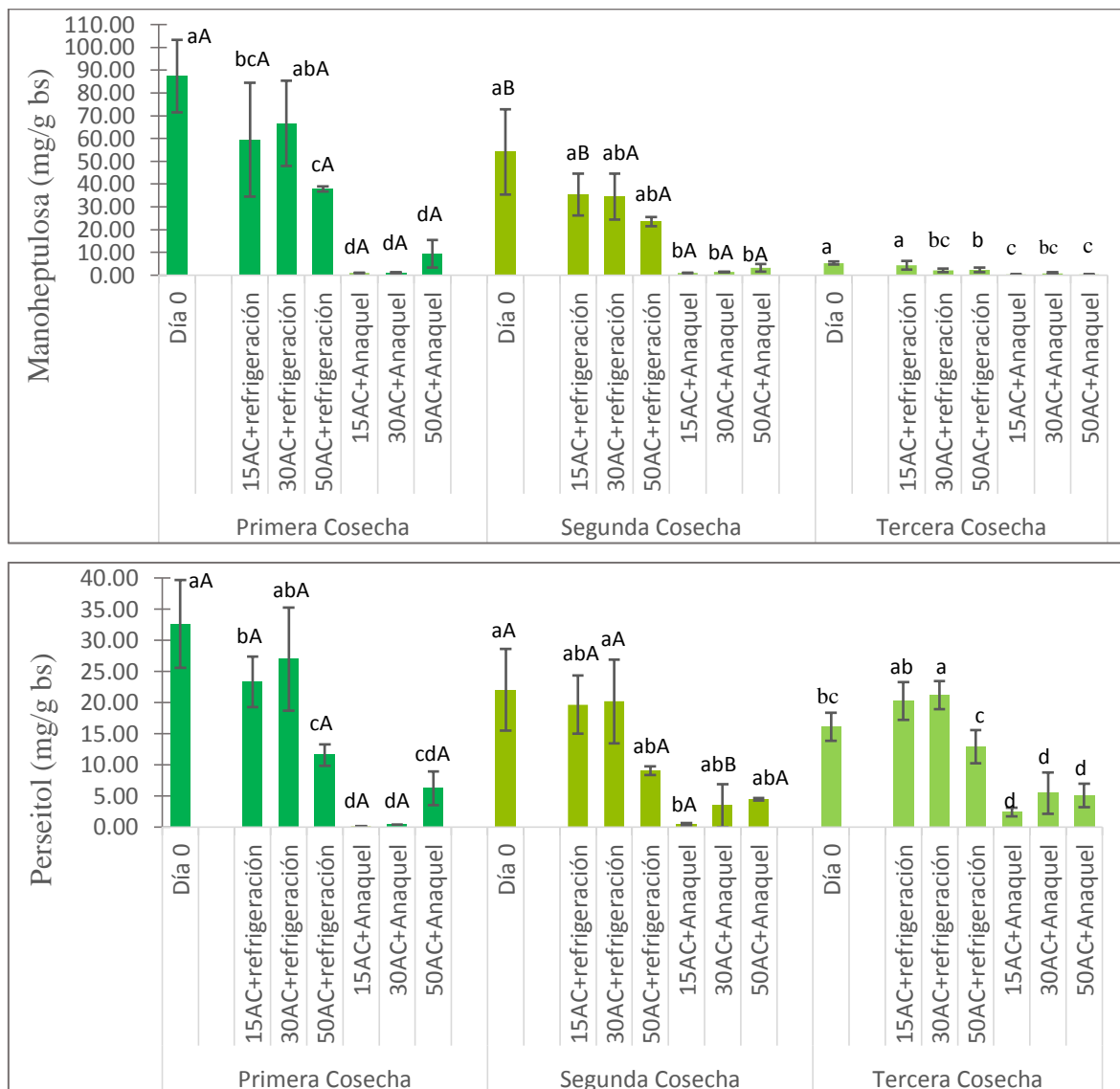


Figura 12. Evolución de los azúcares C7: manohptulosa y perseitol en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), final del período de almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

Se observó una mayor participación de la manoheptulosa y el perseitol en el mesocarpio de la palta 'Hass' frente a los demás azúcares como informaron anteriormente (Liu et al. 1999, Cowan 2004, Bertling y Bower 2005, Meyer y Terry 2008, Landahl y Terry 2010).

La concentración inicial (día 0) de la manoheptulosa fue 87,4; 54,0 y 5,3 mg/g bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. La manoheptulosa disminuyó significativamente ($p < 0,05$) con el tiempo de cosecha (primera a segunda). En la tercera cosecha (día 0) el contenido de manoheptulosa mostró valores más bajos frente a las primeras cosechas. Al respecto, Meyer y Terry (2008, 2010) manifiestan que cuando más tiempo el fruto está pegado al árbol menor es la concentración de la manoheptulosa, es decir los frutos provenientes de cosechas más avanzadas presentan niveles muy bajos.

A lo largo del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración, la manoheptulosa presentó un drástico descenso en la primera cosecha, una disminución lenta en la tercera cosecha, mientras se mantuvo estable en la segunda cosecha. Al respecto, Liu et al. (1999, 2002) señalan que independientemente de su contenido, los azúcares C7 tienden a disminuir durante el almacenamiento en frío y durante la vida útil, lo que sugiere un posible papel de estos carbohidratos en el metabolismo post-cosecha de la fruta. Asimismo, se ha informado que los carbohidratos no estructurales disminuyen durante la temporada, durante el almacenamiento en frío y cuando la fruta madura (Liu et al. 1999, Bertling y Bower 2005, Meyer y Terry 2010, Blakey et al. 2012, Donetti y Terry 2014).

En general, las concentraciones de la manoheptulosa disminuyó ($p < 0,05$) con la maduración de los frutos en anaquel para la primera y segunda cosecha, también disminuyó en los frutos madurados de 15 y 50AC+Anaquel para la tercera cosecha. Se ha sugerido que la maduración de la fruta no tiene lugar hasta que la concentración de la manoheptulosa baje debajo de un umbral de ~20 mg/g (Liu et al. 2002). También, otras investigaciones han reportado similar comportamiento donde los azúcares del fruto llegan incluso a desaparecer durante la maduración de la fruta (Liu et al. 1999).

La disminución de la manoheptulosa y del perseitol durante el almacenamiento está de acuerdo con lo reportado en otras investigaciones (Liu et al. 1999, Bertling y Bower 2005, Meyer y Terry 2008) y contrariamente a lo reportado por Meyer y Terry (2010) quienes

observaron en palta tardía de España, el incremento de la manoheptulosa (0,76 a 2,39 mg/g bs) con el almacenamiento. Al respecto, Donetti y Terry (2014) afirman que el contenido de manoheptulosa presenta una disminución sistemática desde el día 0 hasta el día 7 de vida útil, independientemente de las condiciones de cultivo, concentración inicial de azúcar o la duración de almacenamiento de la fruta.

En el caso de perseitol, el principal azúcar alcohol de la palta 'Hass', su concentración inicial (día 0) fue 32,6; 22,0 y 16,1 mg/g bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente (Figura 12). El contenido de perseitol no cambió ($p>0,05$) con el tiempo de cosecha (primera a segunda). En la tercera cosecha (día 0) el contenido de perseitol fue similar a los frutos de la segunda cosecha.

El perseitol, disminuyó significativamente a lo largo del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración para la primera cosecha, por el contrario no hubo variaciones estadísticamente significativas entre los periodos de almacenamiento para los frutos de la segunda y tercera cosecha, excepto de valores más altos presentado a 30 d de almacenamiento en la tercera cosecha. Al respecto, Blakey et al. (2012), sostienen que el manejo post-cosecha de la palta tendría un efecto sobre las concentraciones de las heptosas, y en la calidad de la fruta, especialmente si la fruta se almacena en frío antes de la maduración ya que estos azúcares se consumirán durante el periodo de almacenamiento. Además, la tendencia de disminución está de acuerdo a lo reportado por Meyer y Terry (2010), quienes observaron una disminución de perseitol (21,3 a 7,99 mg/g bs) durante el almacenamiento a 5 °C por 26 días en palta 'Hass' de España de temporada tardía.

Durante la maduración de los frutos en anaquel, en general las concentraciones de perseitol disminuyeron significativamente ($p<0,05$), esta disminución fue más pronunciado en la primera cosecha, seguido de la tercera cosecha, mientras no hubo variaciones significativas en la segunda cosecha. Al respecto, Kassim et al. (2013) mencionan que la disminución de azúcares es más rápida a temperatura ambiente que durante el almacenamiento a 1 y 5 °C, debido a la mayor TR. Asimismo, Liu et al. (2002) sugieren que el metabolismo del azúcar C7 puede ser una característica importante del proceso de maduración de la fruta, ya que observó claramente, que en la fruta inmadura el perseitol era la forma predominante de azúcar soluble y sus niveles disminuyeron sustancialmente a medida que avanzaba el

proceso de maduración. Además, durante la maduración diferentes procesos metabólicos tienen lugar, que requieren un poco de energía, que en general, se suministra por la oxidación de hidratos de carbono y la oxidación ácidos orgánicos, que se convierten en CO₂ y agua, sostiene Contreras-Gutiérrez et al. (2013). Esto podría explicar la disminución del perseitol a medida que el fruto del palto está creciendo y madurando (Liu et al. 1999).

En la Figura 13, se reporta la evolución de los azúcares C6, en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando llegaron a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de azúcares C6, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 9.

La concentración inicial (día 0) de la sacarosa fue 2,2; 3,5; 0,4 mg/g bs, fructosa 3,3; 1,0; 2,5 mg/g bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente, mientras la glucosa solo se detectó en la primera y tercera cosecha (2,3 y 3,7 mg/g bs). No se observó diferencias significativas en las concentraciones de sacarosa, mientras la fructosa disminuyó ($p < 0,05$) conforme avanzó el tiempo de cosecha (primera a segunda). Los frutos de la tercera cosecha (día 0) mostraron valores más bajos de sacarosa en comparación a las primeras cosechas y valores similares de fructosa a la primera cosecha.

Durante el periodo de almacenamiento en AC+refrigeración, en la primera cosecha la sacarosa y glucosa incrementaron ($p < 0,05$) a partir de los 30 y 50 d respectivamente, mientras la fructosa fue estable, aunque a los 30 d presentó valores bajos. En la segunda y tercera cosecha, la sacarosa, glucosa y fructosa fueron de tendencia constante, excepto de valores bajos de glucosa y fructosa presentada a 30 d de almacenamiento en la tercera cosecha.

La tendencia de incremento de la sacarosa durante el almacenamiento en AC+refrigeración, esta de acorde a lo reportado por Meyer y Terry (2010) quienes observaron incrementos de la sacarosa (7,16 a 18,24 mg/g bs) en palta 'Hass' de España de temporada tardía, almacenadas a 5 °C por 26 días. Mientras, Liu et al. (1999) reportaron descensos de la manoheptulosa en la cáscara y en el mesocarpio durante almacenamientos en frío a 1 y 5 °C,

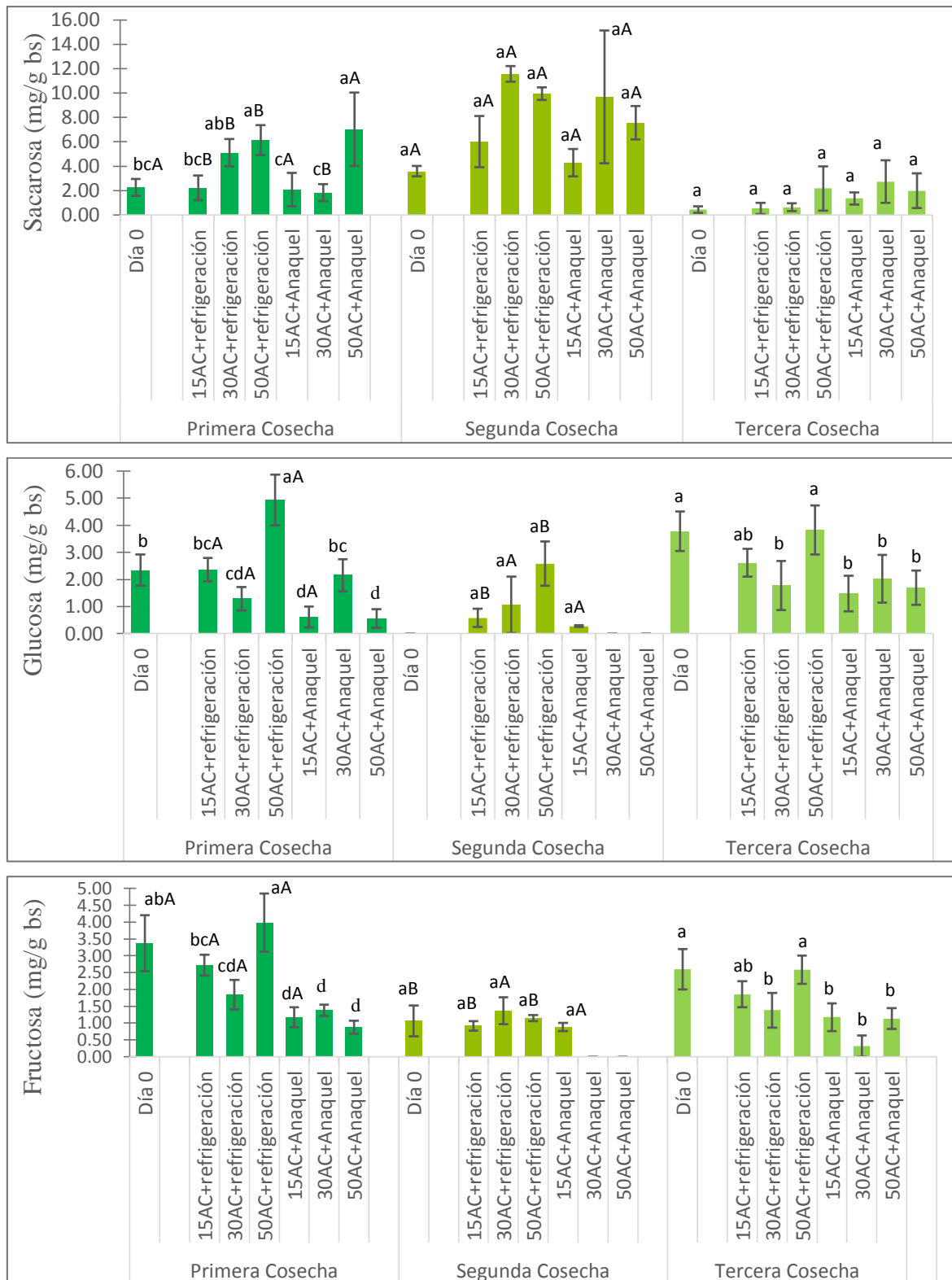


Figura 13. Evolución de los azúcares C6: sacarosa, glucosa y fructosa en el mesocarpio de palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando llegaron a madurez de consumo en anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar

acompañado de similar tendencia pero a baja velocidad en el caso de azúcares comunes, resultados contrarios para los azúcares comunes del presente trabajo.

Durante la maduración en anaquel, las concentraciones de la sacarosa no cambió ($p>0,05$) en los tres tiempos de cosecha, excepto de un valor bajo ($p<0,05$) presentado a 30AC+Anaquel de la primera cosecha. Las concentraciones de glucosa y fructosa disminuyeron ($p<0,05$) en los frutos madurados de 15 y 50AC+Anaquel para la primera cosecha y en 50AC+Anaquel de la tercera cosecha, mientras que en la segunda cosecha solo se detectó en 15AC+Anaquel. Al respecto, Meyer y Terry (2010) concluyeron que la sacarosa no es la principal fuente de carbono o almacenamiento de energía en la palta, después de encontrar cambios leves e inconsistentes durante la maduración. Asimismo, los resultados de tendencia a disminución están de acuerdo a lo reportado por Cowan y Wolstenholme (2016) quienes observaron disminuciones de la fructosa (22 a alrededor del 4 por ciento) y glucosa (desde 19 a < 1 por ciento del total de azúcares solubles con la madurez) durante la maduración de la palta de cosecha temprana.

Blakey et al. (2012), observaron la disminución de los valores de la manoheptulosa (14 a 1,3 mg/g bs); perseitol (7,8 a 0,5 mg/g bs); sacarosa (4,3 a 2,7 mg/g bs) y glucosa (0,3 a 0,9 mg/g bs) durante la maduración (entre 0 a 13 d después de cosecha) a 21 °C de palta 'Hass' sudafricana de cosecha temprana. Estos resultados son similares al presente estudio solo en términos de tendencia a disminución, ya que nuestros valores iniciales de manoheptulosa, perseitol, y glucosa son superiores. Estas diferencias de contenido, tal vez es debido a varios factores, como las prácticas culturales, ubicación de cultivo, transporte y condiciones de almacenamiento puede influir en el cultivo (Landahl et al. 2009).

b. Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos en la fruta pueden actuar como intermedios en diversas vías metabólicas, como precursores para la síntesis de aminoácidos, hormonas vegetales, ácidos grasos, metabolitos secundarios y componentes de la pared celular (Walker y Famiani 2018). La acidez de las frutas es un carácter aún más complejo y está dada en mayor medida por la acumulación o degradación de ácidos orgánicos durante el desarrollo y maduración de las mismas (Hernández-Muñoz et al. 2006). La palta, se clasifica como una fruta no ácida

y comparado con otras frutas contiene cantidades muy bajas de ácido cítrico y málico, siendo el ácido tartárico el ácido orgánico predominante (Defilippi et al. 2015).

En la Figura 14, se presenta la evolución de los principales ácidos orgánicos identificados y cuantificados por LC-MS en el mesocarpio de la palta 'Hass', procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando llegaron a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2°C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de los ácidos orgánicos, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 11.

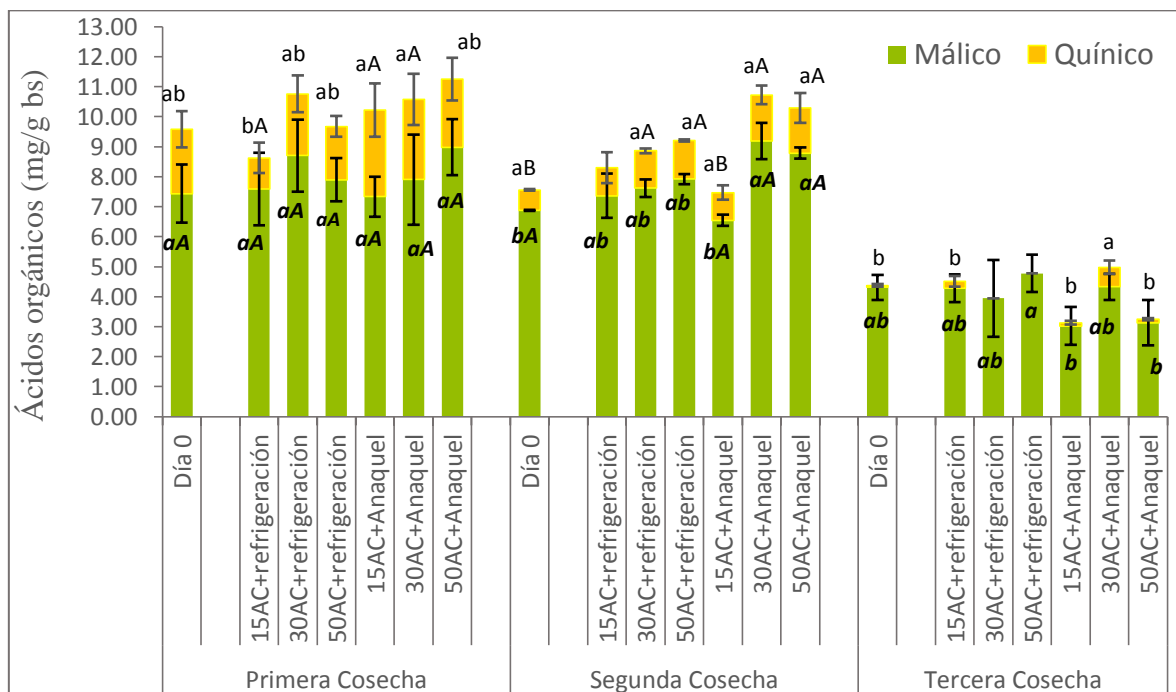


Figura 14. Evolución de los ácidos orgánicos: málico y quínico en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

La concentración inicial (día 0) del ácido málico y quínico fue 7,4; 6,8; 4,3 y 2,1; 0,6; 0,07 mg/g bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. El contenido de ácido málico no cambió ($p>0,05$) con el tiempo de cosecha (primera a segunda). Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron valores bajos de ácido málico que las primeras cosechas. Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración, el contenido de ácido málico no presentó cambios significativos ($p>0,05$) en los tres tiempos de cosecha. Asimismo, con la maduración de los frutos en anaquel el contenido de ácido málico, se mantuvo constante ($p>0,05$) en la primera y segunda cosecha. Por el contrario, en la tercera cosecha disminuyó a 50AC+Anaquel ($p<0,05$).

El contenido de ácido quínico disminuyó ($p<0,05$) con el tiempo de cosecha observándose una diferencia significativa entre la primera y la segunda cosecha. Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración, y posterior maduración de los frutos en anaquel, el contenido de ácido quínico fue de tendencia estable en la primera y segunda cosecha, aunque a 15AC+refrigeración de la primera cosecha presentaron valores bajos ($p<0,05$). Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron un mínimo contenido de ácido quínico, y entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración solo se detectó a 15 d, y no varió en los frutos madurados de 15AC+Anaquel, mientras que a 30 y 50AC+Anaquel no mostraron cambios definidos porque no fueron detectados en AC+refrigeración.

Omar et al. (2012), indican que durante la maduración de la fruta hay un aumento en la capacidad metabólica y los ácidos orgánicos son, por excelencia, una fuente de reserva de energía de la fruta a través del ciclo de Krebs. Además, Hurtado-Fernández et al. (2014) manifiestan que la concentración de ácidos orgánicos, flavonoides y vitaminas tiende en general, a disminuir con el proceso de maduración, mientras que los ácidos fenólicos, generalmente aumentan su concentración a medida que la fruta madura, presumiblemente debido a su utilización de estos como sustratos en la respiración o en su conversión a azúcares. Asimismo, informó que la palta 'Hass' en la etapa de madurez fisiológica presentó mayor cantidad de ácido quínico y disminuyó en la etapa lista para consumo al evaluar 13 cultivares diferentes de palta. Sin embargo, nuestros resultados indican que las concentraciones de ácido málico y quínico permanecieron estables durante la maduración de los frutos en la primera y segunda cosecha, este comportamiento podría estar relacionado con el almacenamiento en AC+refrigeración previo a la maduración, con baja tasa

respiratoria y baja producción de etileno de la fruta que no impulsaron la conversión de ácidos orgánicos en azúcares.

Resultados similares, en cantidad de ácido málico y quínico informaron otras investigaciones. Yahia y Woolf (2011) reportaron para el ácido málico 0,32 g/100 g bh (~4,3 mg/g bs) y Contreras-Gutiérrez et al. (2013) señalan que el ácido quínico; es un compuesto involucrado en procesos oxidativos y que fue uno de los compuestos encontrado en concentraciones más altas, los cuales disminuyeron de 160,11 a 70,23 mg/kg bs (~0,16 a 0,07 mg/g bs) durante la maduración de la palta variedad Reed. También, algunos estudios reportaron valores más bajos a la presente investigación, como el de López-Cobo *et al.* (2016) 0,12 y 0,10 mg/100 g bs de ácido quínico en palta 'Hass' con óptima madurez de consumo y sobremaduras respectivamente. Asimismo, Hurtado-Fernández et al. (2014) cuantificaron 5,33 mg/kg de ácido quínico en palta 'Hass' española. La razón de la diferencia de estos resultados podría estar asociado a factores antes de la cosecha, ubicación de cultivo, condiciones de almacenamiento, variedad del fruto y otros.

La tendencia de disminución del ácido málico con la maduración, después de un período de almacenamiento más largo (50 d) en AC, están de acuerdo con los resultados de Defilippi et al. (2015), quienes determinaron el perfil de ácidos orgánicos (ácido tartárico, málico, ascórbico, cítrico y succínico) en la palta 'Hass' chilena y observaron la disminución de la cantidad de ácidos totales a medida que avanzaba la maduración a 20 °C hasta 15 días después de la cosecha, presenciaron una disminución drástica en el contenido de ácido málico. Confirmaron que el ácido predominante al momento de alcanzar la madurez de consumo es el ácido tartárico, el cual fue observado casi sin cambios desde la cosecha y los otros ácidos, eran casi imperceptibles que poco contribuirían a la acidez de la palta.

Los resultados mostraron que los metabolitos polares de la palta cambiaron en función al tiempo de cosecha y la maduración que durante los periodos de almacenamiento. Algunos metabolitos disminuyeron su concentración (mannoheptulosa, perseitol, fructosa, glucosa y ácido quínico), mientras otros permanecieron estable (sacarosa, málico). Esta disminución podría estar relacionada con la mayor respiración de las frutas de cosecha tardía (kassim et al. 2013) y las tasas de producción de etileno (Adato y Gazit 1974) que impulsan la conversión de ácidos orgánicos en azúcares (Hurtado-Fernández et al. 2014).

4.4.2 Perfil de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos es el compuesto más importante que afecta el sabor de la palta (Ferreyra et al. 2016). El mesocarpio de la palta es una excelente fuente de ácidos grasos monoinsaturados y las investigaciones ha demostrado que una dieta alta puede contribuir a disminuir los riesgos de enfermedades cardiovasculares, posiblemente reduciendo los niveles de colesterol total y LDL mientras aumenta el HDL (Ledesma et al. 1996). Es bien sabido, que los cambios importantes en el perfil de ácidos grasos se producen durante el crecimiento y desarrollo del fruto, con un marcado aumento en la fracción oleica (Donetti y Terry 2014, Ozdemir y Topuz 2004, Lu et al. 2009). Sin embargo, pocos estudios han analizado cambios en el perfil de ácidos grasos durante la vida post-cosecha de la fruta y algunos autores han encontrado relativamente pocos cambios en la composición del aceite durante la madurez post-cosecha (Eaks 1990, Meyer y Terry 2008, Ozdemir y Topuz 2004).

En la Figura 15, se presenta los resultados del perfil y el contenido de los ácidos grasos en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d en AC+refrigeración, y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel. Las medias de los resultados de ácidos grasos, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 12.

En orden de predominancia, se detectaron el ácido oleico (33,8; 33,6 y 31,2 por ciento), ácido palmítico (29,3; 28,6 y 25,7 por ciento), ácido linoleico (15,6; 15,1 y 17,5 por ciento), ácido palmitoleico (14,1; 15,3 y 12,1 por ciento), el ácido iso-oleico (6,1; 6,7 y 12,7 por ciento), y el ácido α -linolénico (0,8; 0,7 y 0,8 por ciento) en el tiempo de cosecha (día 0) para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. A excepción del ácido iso-oleico, este orden de participación coincide con lo reportado por investigaciones anteriores en palta 'Hass' (Eaks 1990, Meyer y Terry 2008, Ozdemir y Topuz 2004).

Estos resultados, son comparables y similares en términos de perfil y porcentaje de ácidos grasos a estudios previos en palta 'Hass' peruana. Donetti y Terry (2014) reportaron que las paltas llegan al mercado de Reino Unido con ácido oleico entre el 40-47 por ciento; palmítico 27-23 por ciento; linoleico 14-20 por ciento; palmitoleico 13-15 por ciento; y ácido linoleico

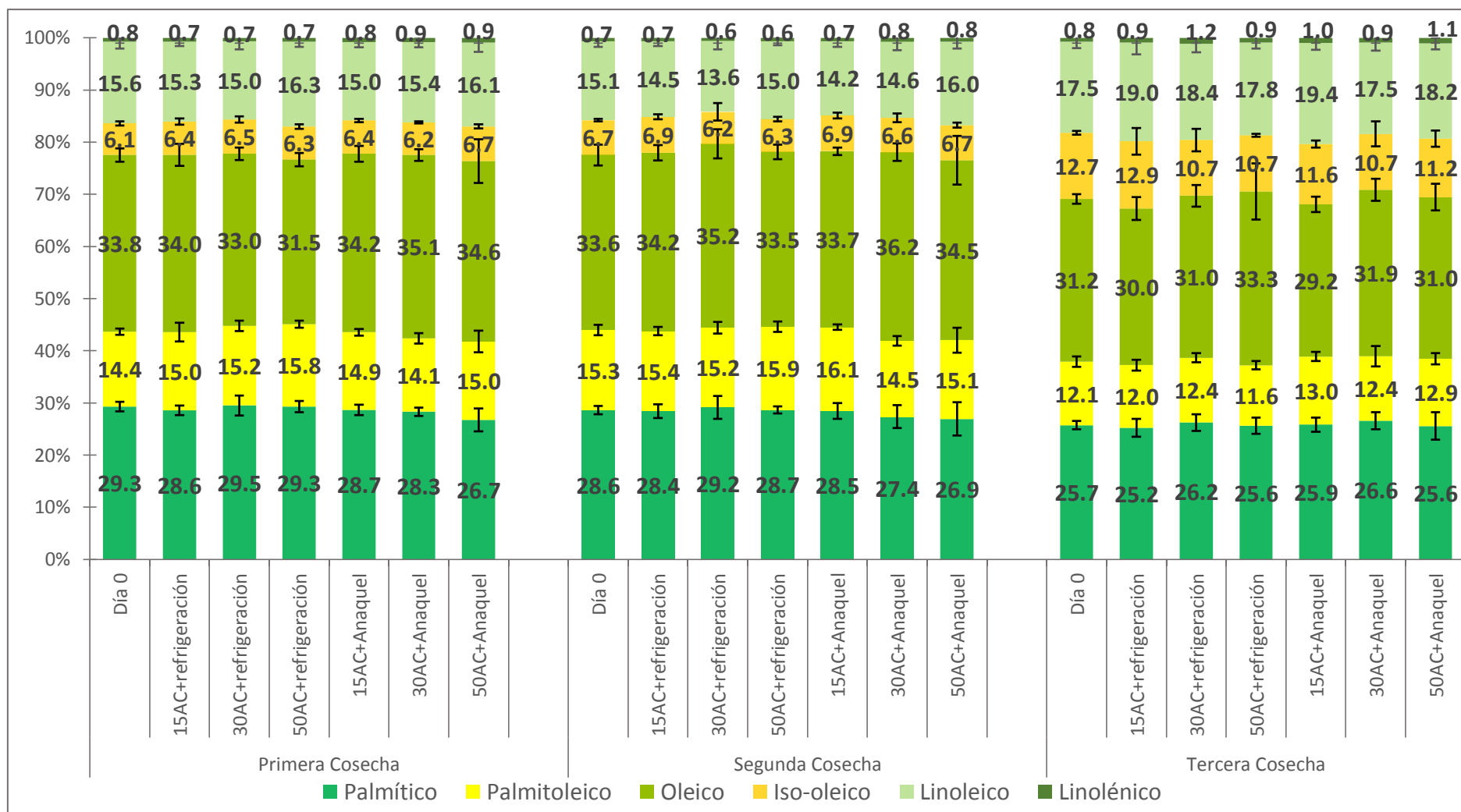


Figura 15. Perfil y contenido de ácidos grasos (% de participación en el contenido total de ésteres metílicos de ácidos grasos - FAMES) en el aceite del mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), al final del periodo de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

1-14 por ciento. También, Landahl *et al.* (2009) presentaron alrededor de 43 por ciento de ácido oleico; palmítico 28 por ciento; linoleico 15 por ciento; palmitoleico 13 por ciento y linolénico 1,2 por ciento en palta peruana de temporada temprana. Sin embargo, en el presente estudio se encontraron valores más bajos de ácido oleico y valores más altos en ácido palmítico y palmitoleico en contraste a los valores establecidos que define la calidad del aceite de palta, mencionado por Landahl *et al.* (2009): ácido oleico monoinsaturado 50-60 por ciento del contenido de ácido graso; ácido palmítico saturado 15-20 por ciento; palmitoleico insaturado 6-10 por ciento; linoleico poliinsaturado 11-15 por ciento y ácido linolénico 1 por ciento. Estas diferencias en los contenidos de los ácidos oleico, palmítico y palmitoleico, estarían influenciados por los factores climáticos y nutricionales y que la temperatura media anual máxima sería lo más importante, ya que el contenido de ácidos grasos de 18C aumenta y de 16C disminuye en las localidades con temperaturas más bajas (Ferreyra *et al.* 2016). También, Defilippi *et al.* (2015) observaron que en las zonas más bajas y templadas, el contenido de ácido palmítico y palmitoleico disminuyen y el ácido oleico aumenta respecto a zonas más altas y cálidas. Por lo que, los parámetros técnicos para la calidad e identidad del aceite de palta podrían no adoptarse universalmente.

No se observó diferencias significativas ($p>0,05$) en el contenido de ácido palmítico, palmitoleico, oleico, linoleico y el α -linoleico, por el contrario el ácido iso-oleico incrementó significativamente ($p<0,05$) con el tiempo de cosecha (día 0) entre la primera y segunda cosecha. Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron mayores contenidos de ácido iso-oleico y el ácido linoleico, mientras fueron menores el contenido del ácido palmítico, palmitoleico y el ácido oleico, y el contenido de α -linoleico fue similar a las primeras cosechas.

En general, el contenido de los ácidos grasos no varió significativamente entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración, para los tres tiempos de cosecha. El efecto del tiempo de cosecha y el periodo de almacenamiento no mostraron cambios significativos en el contenido de ácidos grasos. Estos resultados de tendencia estable están de acuerdo a los resultados reportados por Hernández *et al.* (2017) a las mismas condiciones de almacenamiento en AC a 5 °C.

No hubo variaciones estadísticamente significativas en el contenido de los ácidos grasos ($p > 0,05$) con la maduración de los frutos en anaquel para los tres tiempos de cosecha. Excepto, una disminución significativa del ácido palmítico en la primera cosecha (50AC+Anaquel). Al respecto, Donetti y Terry (2014) sostienen que las principales diferencias significativas en la composición de aceite de la palta es según el origen, y el tiempo de cosecha en lugar de la maduración post-cosecha. Asimismo, observaron en todos los orígenes del fruto (Chile, Perú y España), una disminución general del contenido de ácido palmítico conforme avanzó la maduración. También, Lu et al. (2009), mencionan que a medida que la palta madura, la grasa saturada disminuye y el ácido oleico monoinsaturado aumenta.

Tendencias similares a estos resultados ha sido descrita previamente por Ozdemir y Topuz (2004) quienes sugirieron que el perfil de ácidos grasos no estaría relacionados con el evento de la maduración en palta, aunque varía según el tiempo de cosecha. Asimismo, Pedreschi et al. (2016) al evaluar el impacto de los protocolos de maduración post-cosecha en los perfiles de ácidos grasos, demostraron que el perfil de ácidos grasos no son afectados por la temperatura y el etileno durante la maduración post-cosecha.

El ácido iso-oleico, registró contenidos más alto para tercera cosecha (de la localidad La Molina) seguido por la segunda cosecha (de la localidad Cañete). Esto puede ser explicado con los resultados de Carvalho y Velásquez (2015), quienes observaron que en todas las localidades estudiadas predominó el ácido oleico; sin embargo disminuyó drásticamente su contenido a bajas altitudes. Además, la composición de aceite difiere según el área de producción (Lu et al. 2009), el origen y el tiempo de cosecha (edad fisiológica del fruto), lo que sugiere al ácido oleico como un marcador potencial en origen distintivo de la fruta (Donetti y Terry 2014). También, es bien sabido que la composición del perfil de ácidos grasos en la palta 'Hass' es influenciado principalmente por el crecimiento y las condiciones ambientales, composición del suelo, prácticas agronómicas, etc. (Pedreschi et al. 2014). Por ejemplo, Kaiser y Wolstenholme (1993) reportaron que los paltos de regiones más frías tienen ratios más altos de ácido oleico comparados con los frutos de regiones de más altas temperaturas promedio, indican que al bajar la temperatura, las plantas requieren que sus membranas estén compuestas de niveles más altos de ácidos grasos insaturados con el fin de funcionar adecuadamente.

Los resultados del ácido iso-oleico, son cercanos a los reportes de otras investigaciones, como el de Pedreschi et al. (2014), quienes lo reportaron como ácido Oleico 2 (C18:1 isómero) con un porcentaje de participación de 7 a 8 por ciento del contenido total de ácidos grasos. Plaza et al. (2009) registraron el cis-vaccénico (C18:1) como isómero del ácido oleico con un porcentaje de participación de 9 por ciento de ácidos grasos totales cuantificados.

El ácido linoleico (C18:2), registró contenidos más alto para la tercera cosecha (localidad de la Molina) en comparación a las primeras cosechas (localidad de Cañete). Los resultados están de acuerdo a lo reportado por Pedreschi et al. (2014), quienes observaron niveles más bajos de acumulación de ácido linoleico en los frutos de maduración más lenta (cosecha temprana) que en los frutos de maduración más rápida (cosecha tardía), con una diferencia de 1,55 veces, el cual podría ser debido a diferencias en la desaturación de ácidos grasos derivados de ácido oleico llevado a cabo por las desaturasas acilo-ACP (Schmid y Ohlrogge 2002).

4.5 METABOLITOS SECUNDARIOS

4.5.1 Fitoesteroles

Los fitoesteroles, son análogos vegetales del colesterol. Tienen una estructura química similar al colesterol, que difiere solo en la longitud de sus cadenas laterales, y esta similitud de estructura explica la capacidad de los fitoesteroles para reducir el colesterol (Hicks y Moreau 2001). Los fitoesteroles son un grupo predominante entre los presentes en la materia insaponificable de la palta, y el principal constituyente de este grupo es el β -sitosterol, que comprende aproximadamente el 80 por ciento de los esteroides. Otros tipos de esteroides también presentes son el campesterol, estigmasterol y colesterol (Law 2000).

En la Figura 16, se presenta el contenido de los principales fitoesteroles (β -sitosterol y campesterol) en el mesocarpio de la palta 'Hass', procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR) y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de fitoesteroles, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 14.

También, se detectaron estigmasterol pero su nivel fue inferior a la concentración mínima del estándar, por lo tanto en los resultados no fueron considerados aceptables.

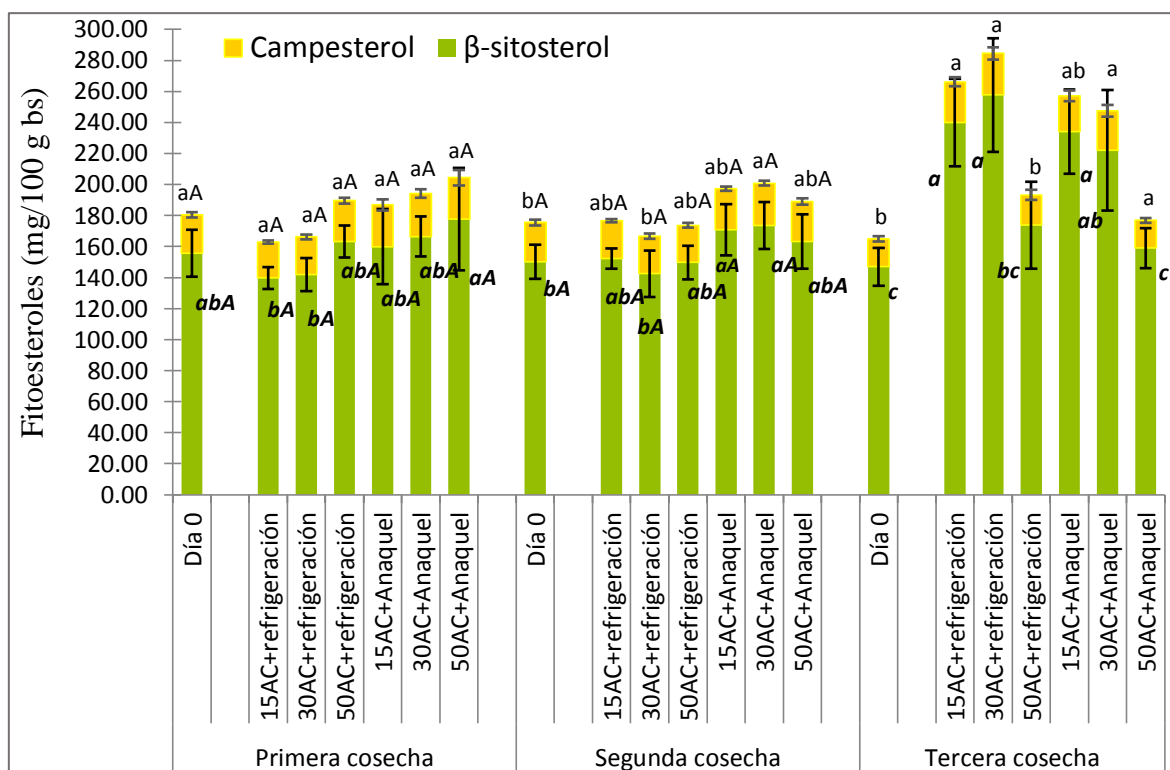


Figura 16. Contenido de principales fitoesteroles (β -sitosterol y campesterol) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

El fitoesterol predominante de la palta fue el β -sitosterol seguido del campesterol. La concentración inicial (día 0) de β -sitosterol y campesterol fueron de 149,2; 143,4; 141,9 mg/100 g bs y 23,2; 23,5; 17,9 mg/100 g bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente.

No se observó diferencias significativas ($p > 0,05$) en el contenido de β -sitosterol con el tiempo de cosecha (día 0) entre la primera y la segunda cosecha. Durante los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración el contenido de β -sitosterol no varió

significativamente ($p>0,05$) en la primera y segunda cosecha. En los frutos de la tercera cosecha (día 0), el contenido de β -sitosterol fue similar a las primeras cosechas, y durante los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración a 15 y 30 d (239,8 y 257,8 mg/100 g bs) mostraron valores altos. No hubo variaciones estadísticamente significativas en el contenido de β -sitosterol con la maduración de los frutos en anaquel para la primera y tercera cosecha ($p>0,05$), pero si se observó un incremento a 30AC+Anaquel ($p<0,05$) de la segunda cosecha.

El contenido de campesterol no cambió significativamente ($p>0,05$) con el tiempo de cosecha (día 0) entre la primera y segunda cosecha. El contenido de campesterol permaneció constante ($p>0,05$) entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración para la primera y segunda cosecha. Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentó menores contenidos de campesterol en comparación a las primeras cosechas; sin embargo, durante el periodo de almacenamiento en AC+refrigeración a 15 y 30 d (26,4 y 26,8 mg/100 g bs) mostraron valores similares a las primeras cosechas. No hubo variaciones estadísticamente significativas en el contenido de campesterol con la maduración de los frutos en anaquel para la primera y tercera cosecha ($p>0,05$), pero aumentó significativamente a 30AC+Anaquel para la segunda cosecha. El contenido más alto de β -sitosterol (257,8 mg/100 g bs) y campesterol (26,8 mg/100 g bs), se encontró a 30 d de almacenamiento en AC+refrigeración en los frutos de la tercera cosecha.

Los valores bajos de β -sitosterol en la tercera cosecha (día 0), tal vez sea debido a que previo a la extracción de aceite, la pulpa fue secada con aire caliente a 70 °C, el cual podrían haber tenido un efecto sobre el metabolismo oxidativo, lo que explicaría la reducción en la concentración de β -sitosterol. Al respecto Dos Santos et al. (2014) señalan que al usar esas temperaturas de secado implica resultados en concentraciones más pequeñas de α -tocoferol, escualeno y β -sitosterol, y mayores concentraciones relativas de campesterol y acetato de cicloartenol. También, es bien sabido, que el α -tocoferol, ayuda a preservar la calidad del aceite, ya que es un eliminador de radicales libres e inhibe la oxidación de las grasas y los fitoesteroles.

Los resultados obtenidos de fitoesteroles, son comparablemente superiores al reportado por otros autores. Piironen (2003) y Duester (2001). La USDA (2014), informó valores de β -

sitosterol y campesterol de 76 y 5 mg/100 g bh (~108,5 y 7,1 mg/100 g bs respectivamente). Asimismo, los resultados mostraron una tendencia de incremento de los fitosteroles con la maduración. Sin embargo, Lozano et al. (1993) informaron la disminución de los fitosteroles con la maduración. Estas diferencias podrían explicarse por la utilización de otra variedad y el almacenamiento previo a la maduración realizado en el presente estudio.

Un comportamiento similar, de tendencia constante durante el almacenamiento, ha sido descrito previamente por Plaza et al. (2009) quienes reportaron que al final del almacenamiento de 13 días a 8 °C, solo el contenido de estigmasterol (0,64 - 0,08 mg/100 g bh) mostró una disminución significativa en palta mínimamente procesada, contrariamente el contenido de campesterol (6,26 - 6,39 mg/100 g bh) y β -sitosterol (57,48 - 63,32 mg/100 g bh) presentaron valores más altos.

El efecto de la maduración en el contenido de fitosteroles de la palta se ha estudiado poco. La mayoría de las investigaciones se han realizado en frutas listas para comer. Pero, su cuantificación es interesante ya que los fitosteroles en la dieta reducen la absorción intestinal del colesterol, el mecanismo del efecto reductor de los fitosteroles en el colesterol sérico implica la inhibición de la absorción del colesterol intestinal y la disminución de la síntesis de colesterol hepático (Duester 2001). También, el β -sitosterol ha sido validado científicamente por su capacidad para mitigar el riesgo de cáncer y reducir el colesterol en la sangre (Jesch y Carr 2017).

4.5.2 Tocoferoles

Los tocoferoles son antioxidantes naturales que son útiles para inhibir el proceso de la peroxidación lipídica autocatalítica y la producción de radicales libres dañinos del cuerpo (Tan 2019). La principal forma de tocoferol detectada en el aceite virgen de palta prensada en frío es el α -tocoferol (70-190 mg/Kg), mientras que los tocoferoles β , δ , γ estaban presentes en cantidades menores (<10 mg/Kg) (Wong et al. 2010). Los mayores niveles de tocoferoles se encontraron en zonas donde la temperatura máxima absoluta son más altas (en enero); en árboles de baja carga; en frutas con bajos contenido de MS y altos niveles de Mg (Deffilippi et al. 2015).

En la Figura 17, se reporta el contenido de los principales tocoferoles identificados en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando llegaron a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de tocoferoles, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 13. Se detectaron también gama (δ-) y delta (γ-) tocoferol, pero su presencia estaba en o cerca del límite de detección, y por lo tanto no fueron considerados.

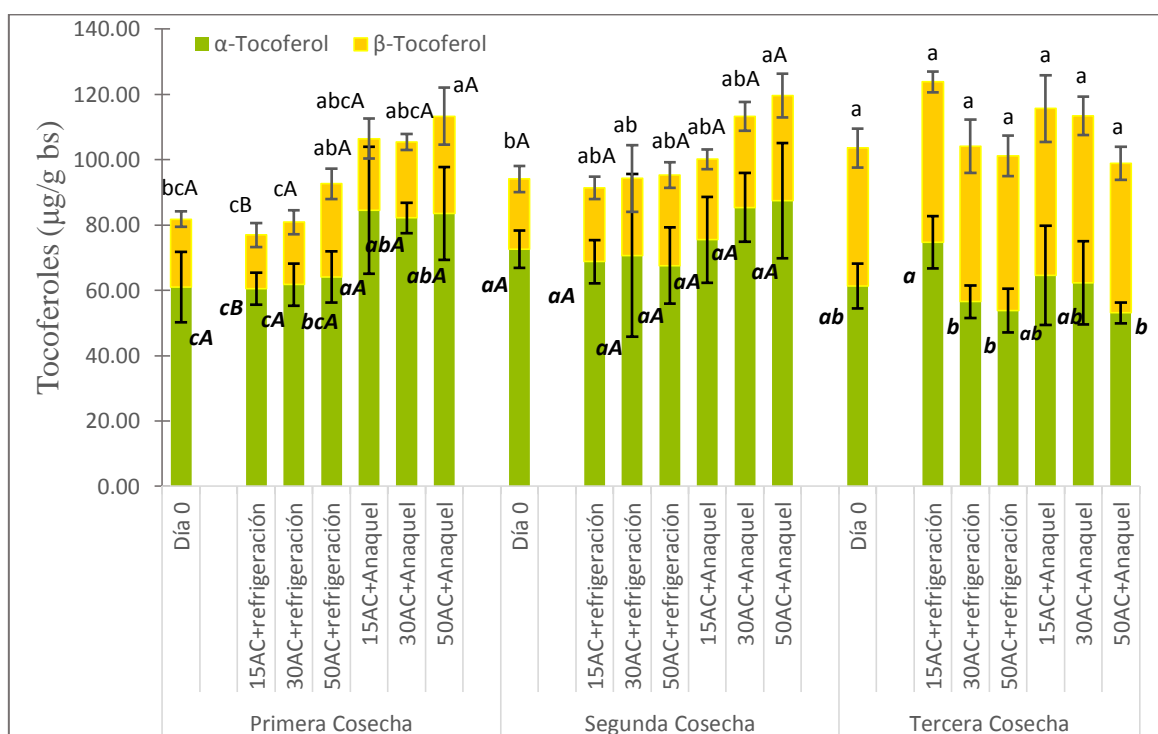


Figura 17. Contenido de los principales tocoferoles: α- y β-tocoferol en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes ± desviación estándar.

La concentración inicial (día 0) de α-tocoferol y β-tocoferol fueron 61,0; 70,2; 57,1 y 20,7; 21,5; 49,0 µg/g bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. El contenido de α-tocoferol no cambió ($p > 0,05$) con el tiempo de cosecha (primera a segunda). En los

frutos de la tercera cosecha (día 0), el contenido de α -tocoferol presentó valores similares a las primeras cosechas. Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración, el contenido de α -tocoferol no varió significativamente en los tres tiempos de cosecha, aunque se observó valores bajos a 15 d de la primera cosecha en comparación a la segunda cosecha ($p < 0,05$). El contenido de α -tocoferol aumentó ($p < 0,05$) con la maduración en anaquel, en general para los frutos de la primera cosecha, por el contrario no hubo variaciones estadísticamente significativas para la segunda y tercera cosecha. El contenido más alto de α -tocoferol fue encontrado a 15AC+Anaquel de la primera cosecha ($86,8 \pm 20,8 \mu\text{g/g bs}$).

Con respecto al β -tocoferol, su contenido no cambió ($p > 0,05$) entre la primera y segunda cosecha. Sin embargo, los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron valores más altos de β -tocoferol que las primeras cosechas. Durante el periodo de almacenamiento en AC+refrigeración, el contenido de β -tocoferol permaneció constante en los tres tiempos de cosecha; aunque se observó valores más altos a 15AC+refrigeración ($p < 0,05$) de la primera cosecha (el mismo lote que presentó valores más bajos de α -tocoferol) en comparación a la segunda cosecha. Con la maduración en anaquel, no hubo variaciones estadísticamente significativas en el contenido de β -tocoferol ($p > 0,05$) en los tres tiempos de cosecha. El contenido más alto de β -tocoferol fue encontrado a 15AC+Anaquel de la tercera cosecha ($51 \pm 10,1 \mu\text{g/g bs}$).

Los resultados obtenidos de α - y β -tocoferol mostraron valores más altos que otras investigaciones previamente han informado. La USDA (2014) reportó alfa tocoferol $2,07 \text{ mg}/100 \text{ g}$ ($\sim 29,5 \text{ ug/g bs}$ aproximadamente). Chun *et al.* (2006) encontraron $1,93$ y $0,06 \text{ mg}/100 \text{ g}$, βh ($\sim 27,57$ y $0,85 \text{ ug/g bs}$ aproximadamente) de alfa y beta tocoferol respectivamente en palta 'Hass'. Al respecto, Chun *et al.* (2006), sostienen que la concentración de tocoferoles puede variar por factores, como la variedad de la fruta, el grado de madurez, distribución desigual de tocoferoles, el tiempo y las condiciones de almacenamiento, el procesamiento etc. Asimismo, los niveles de tocoferoles son afectados por el área de producción (Lu *et al.* 2009), por el clima pero en menor magnitud que los ácidos grasos (Deffilippi *et al.* 2015).

El contenido del β -tocoferol está de acuerdo a lo reportado por Pedreschi *et al.* (2014), quienes reportaron acumulación no significativa de β -tocoferol (de $34,4$ a $41,9 \text{ ug/g bs}$) y

disminución de α -tocoferol (de 211,7 a 173,9 $\mu\text{g/g}$ bs) en palta 'Hass' clasificadas de menor a mayor número de días para llegar a madurez de consumo a 20 °C. Es decir, el α -tocoferol aumentó con el crecimiento y desarrollo del fruto, y por lo tanto los frutos de la cosecha tardía presentarían mayores contenidos. Sin embargo, el contenido y la tendencia de incremento de α -tocoferol con el tiempo de cosecha (primera a segunda) no están de acorde al de la presente investigación. Los resultados del contenido de α -tocoferol en el tiempo de cosecha, son contrarios al estudio de Lu et al. (2009) quienes informaron incrementos considerables (de 20,1 a 27,0 $\mu\text{g/g}$) entre los contenidos de α -tocoferol durante la temporada de crecimiento (de febrero a setiembre) en palta 'Hass' cultivados en las regiones del sur de California.

La tendencia estable del α -tocoferol durante el almacenamiento, están de acorde al estudio de Piironen et al. (1986) quienes mostraron que los valores de α -tocoferol de las verduras y bayas congeladas fueron comparables a lo encontrado para los productos frescos, lo que indica que el α -tocoferol es bastante estable en la congelación y durante el almacenamiento de productos congelados.

Lozano et al. (1993), investigaron el contenido de fitoesteroles y tocoferoles en cuatro variedades de palta (Zutano, Bacon, Fuerte, Lula), concluyendo que el contenido de fitoesteroles fue siempre mayor en el aceite de las frutas inmaduras (1,1- 6,2 por ciento) que en las frutas maduras (0,8-2,0 por ciento) y el contenido de tocoferol, mostró contenidos generalmente más bajos en el aceite extraído de frutas maduras (5,7-10,3 mg/100 g de aceite) que inmaduros (20,1-45,6 mg/100 g de aceite) y no encontraron variación significativa para las variedades estudiadas o las condiciones agroclimáticas de la producción de la fruta. En contraste, nuestros resultados presentan una tendencia de incremento de tocoferoles con la maduración de los frutos para la primera cosecha. Sin embargo, los autores trabajaron en condiciones distintas al presente estudio; variedad, temporada de cosecha y almacenamiento, que podrían haber tenido un efecto sobre el metabolismo oxidativo, lo que podría explicar la reducción en la concentración de tocoferol durante la maduración de los frutos.

En relación a la biosíntesis del tocoferol durante la maduración de la palta. La descomposición de la clorofila en hojas senescentes desprendidas, también se ha relacionado con un aumento en el contenido de alfa-tocoferol, posiblemente el fitol, que es liberado de

la clorofila por la clorofilasa, se utiliza para la biosíntesis de alfa-tocoferol (Rise et al. 1989). Singh et al. (2011), descubrieron que un aumento en los niveles de tocoferol durante la maduración del mango está fuertemente relacionado con la expresión génica de la enzima *p*-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa que es una enzima clave para la biosíntesis de tocoferol. También observaron incrementos en el contenido de tocoferol en respuesta a la producción de etileno, la expresión génica y al ácido abscísico. Al respecto, Smirnoff (2000), menciona que los cambios en el contenido de tocoferoles no estarían asociados al proceso de maduración, sino asociados al estrés oxidativo y presencia de antioxidantes, que permiten la regeneración de tocoferoles de su forma radical.

4.5.3 Compuestos Fenólicos Totales

Los fenólicos son compuestos bioactivos que desempeñan importantes funciones fisiológicas en los vegetales, y debido a su condición de polifenoles se oxidan con mucha facilidad y actúan como antioxidantes (Defilippi et al. 2015), y debido a sus propiedades redox, les permite actuar como agentes reductores, donantes de hidrógeno, inhibidores de radicales libres, y quelantes de metales (Frankel y Meyer 2000). La palta, contiene compuestos fenólicos que aportan 60 mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por cada 30 g (Wu et al. 2004).

En la Figura 18, se presenta la evolución de Compuestos Fenólicos Totales (CFT) presentes en la palta 'Hass', procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR) y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de CFT, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 15.

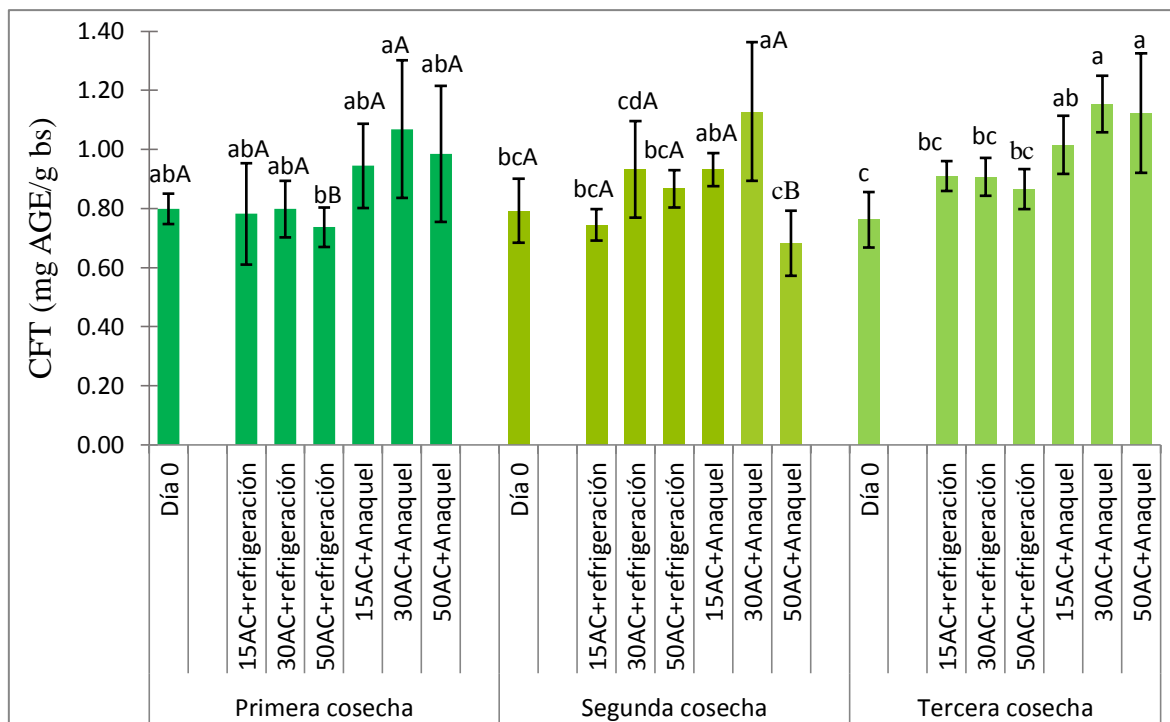


Figura 18. Evolución de CFT en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

La concentración inicial (día 0) de CFT fue 0,8; 0,7 y 0,7 mg AGE/g bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. No se observó diferencias significativas ($p > 0,05$) en el contenido de CFT con el tiempo de cosecha entre la primera y segunda cosecha. Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración el contenido de CFT fue estable ($p > 0,05$) en la primera y segunda cosecha. Los frutos de la tercera cosecha (día 0) mostró valores similares a las primeras cosechas, y permanecieron estables entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración. Estos resultados demostrarían que la atmósfera controlada limitó el stress del fruto y por tanto se redujo la síntesis de compuestos fenólicos como mecanismo de defensa.

El contenido de CFT con la maduración en anaquel, no varió significativamente ($p > 0,05$) en la primera cosecha. Por el contrario, en la segunda ($1,13 \pm 0,24$ mg AGE/g bs) y tercera ($1,15$

$\pm 0,09$ mg AGE/g bs) cosecha aumentó significativamente en los frutos madurados de 30AC+Anaquel ($p < 0,05$), siendo los contenidos más altos de CFT encontrados.

Respecto al tiempo de cosecha, Wang et al. (2012) informaron que el mayor contenido fenólico fue encontrado en la cosecha del mes de enero (150 mg GAE/100 g bh) y el más bajo fue el 30 de junio (94,22 mg GAE/100 g bh) después de 35 días de almacenamiento en frío, demostrando que la concentración de fenólicos también se ven afectados por la fecha de cosecha. Estas diferencias, es tal vez debido a fechas extremas (enero a junio); es decir, principios y finales de temporada, mientras que en los resultados de la presente investigación no se pudo apreciar por la proximidad de las primeras cosechas (abril a mayo).

Los resultados de contenido, son similares a los descritos por otras investigaciones como el de Rodríguez-Carpena et al. (2011) 92 mg GAE/100 g ($\sim 0,92$ mg/g bs), Corral-Aguayo et al. (2008) 118,3 mg GAE/100 g ($\sim 0,83$ mg/g bs) en paltas recién cosechadas y Zhang et al. (2013) 0,67 g/Kg ($\sim 0,67$ mg/g) a 9 días de cosecha. Sin embargo, Wang et al. (2010) informaron contenidos más altos (4,9 mg GAE/g bh en paltas maduras). Es bien sabido, que el contenido fenólico y el perfil están muy influenciados por el cultivar, la maduración, los tratamientos aplicados antes y después de la cosecha, las condiciones agronómicas, entre otros (Villa-Rodríguez et al. 2020). Por lo tanto, las diferencias en el contenido de CFT en este estudio podrían explicarse parcialmente por estos factores.

Respecto, a la concentración de CFT que aumenta durante la maduración de los frutos de la segunda y tercera cosecha, son consistentes con los resultados de Villa-Rodríguez et al. (2011). Mahattanatawee et al. (2006) observaron un comportamiento similar en frutas tropicales, donde los frutos maduros contenían los más altos niveles de compuestos fenólicos. Los aumentos en el contenido de fenólicos durante la maduración están relacionados con un aumento de la actividad enzimática de la fenilalanina amoniaco liasa (PAL; EC 4.3.1.5), que se debe a un aumento en la producción de etileno, es decir la enzima PAL está implicada en la biosíntesis de compuestos fenólicos (Martínez y Whitaker 1995). Los fenólicos totales, aparentemente, son los principales contribuyentes a la capacidad antioxidante total en la fracción hidrofílica durante la maduración de la fruta (Villa-Rodríguez et al. 2020).

4.6 ACIDO ABSCÍSICO

Se sabe que las hormonas vegetales endógenas desempeñan un papel vital en el crecimiento y desarrollo de la fruta, y también se producen cambios en sus proporciones durante la maduración/senescencia (Meyer et al. 2017). El etileno y el ácido abscísico se vuelven importantes para la maduración de la fruta ya que controlan estrechamente la maduración de la fruta climatérica (Pedreschi et al. 2019). Los patrones de desarrollo y maduración de la palta son diferentes a otras frutas (Tesfay et al. 2010), además de tener características anatómicas únicas, como un período prolongado de división celular, que continúa hasta la madurez de la fruta (MooreGordon et al. 1998, Tesfay et al. 2010), también la palta es fisiológicamente única por contener altos niveles de la hormona relacionada con el estrés por sequía; el ácido abscísico (ABA), que aumentan con la madurez del fruto (Cutting et al. 1986). Meyer et al. (2017) investigaron el papel del ABA endógeno durante la maduración de la palta 'Hass', sus resultados sugieren una relación entre el ABA y el metabolismo del etileno, ya que si se bloquean el etileno y, en mayor medida bloquean y eliminan el etileno, da lugar a concentraciones más bajas de ABA

En la Figura 19, se reporta la evolución del ácido abscísico (ABA) presente en el mesocarpio de la palta 'Hass', procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR) y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de ABA, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 16.

La concentración inicial (día 0) de ABA fue 1,7; 2,3 y 0,7 mg/Kg bs para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. No se observó diferencias significativas ($p > 0,05$) en el contenido de ABA con el tiempo de cosecha entre la primera y segunda cosecha. Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración el contenido de ABA fue estable ($p > 0,05$) en los frutos de la primera y segunda cosecha. Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron valores bajos de ABA en comparación a las primeras cosechas, pero durante el largo periodo en AC+refrigeración presentaron valores cercanos a la segunda cosecha y aumentó significativamente ($p < 0,05$) a 50 d de almacenamiento, lo que indicaría que estos frutos ya estaban cerca al proceso de maduración.

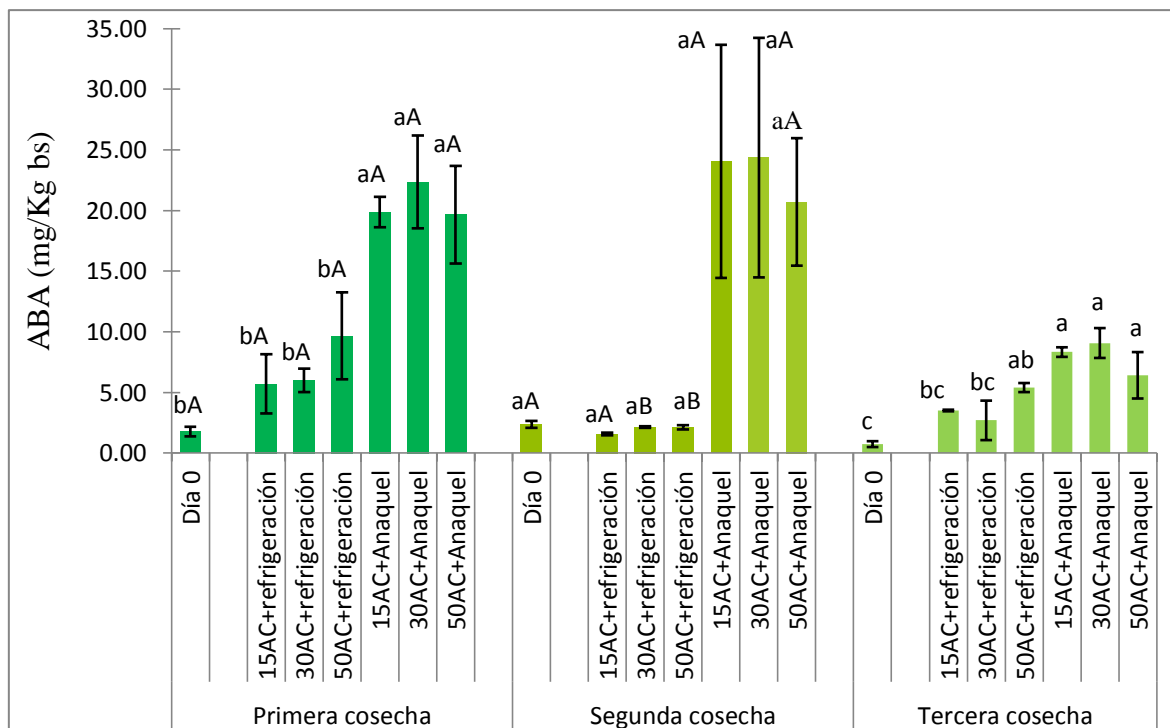


Figura 19. Evolución del ABA en el mesocarpio de la palta 'Hass', procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

El contenido de ABA con la maduración de los frutos en anaquel, incrementó significativamente ($p < 0,05$) en general para la primera cosecha y a 15 y 30AC+Anaquel para la tercera cosecha. En los frutos de la segunda cosecha ($p > 0,05$) el ABA varió no significativamente. El contenido más alto de ABA fue encontrado a 30AC+Anaquel ($24,36 \pm 9,86$ mg/Kg bs) de la segunda cosecha

Cutting *et al.* (1986), sostienen que el contenido de ABA incrementó al retrasar la temporada de cosecha para palta cv. Fuerte. Esta tendencia de incremento conforme avanzan las cosechas no se pudo apreciar, probablemente por la proximidad de las primeras cosechas (abril a mayo) en el presente estudio. Al respecto, Hurtado-Fernández *et al.* (2016) mencionan que la acumulación de ABA en palta varía ampliamente, y está influenciada por las condiciones agroclimáticas, el periodo de cosecha, las variedades y las condiciones de

almacenamiento post-cosecha de la fruta. Además en las variedades de palta “Reed” y “Bacon” observaron una disminución notable en la concentración de ABA mientras más tarde fue la temporada de cosecha, pero en palta 'Hass' no encontraron resultados concluyentes.

Blakey et al. (2009), informaron que después de la cosecha la pérdida de agua y el ABA, modulan y estimulan la maduración respectivamente. Por lo tanto, el estrés abiótico estimula la síntesis de ABA. Por ello, los resultados mostraron que durante el almacenamiento en AC+refrigeración tanto la pérdida de peso como el contenido de ABA fue constante, pero al ser transferidos a condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) para su maduración, se evidenció el incremento significativo del ABA en los frutos de la primera y tercera cosecha que probablemente se generó por la deshidratación durante el almacenamiento en anaquel. El ABA es la hormona clave en respuesta al déficit hídrico de las plantas, lo que indicaría que las paltas utilizadas fueron cultivadas posiblemente con ausencia de riego. Al respecto, el efecto del estrés hídrico en la palta se puede relacionar más con la temperatura. Cuando una planta está estresada por el agua, la temperatura de la fruta aumenta. El enfriamiento es el resultado de la pérdida de agua por evaporación del tejido de la planta (Woolf y Ferguson 2000). Una vez que se cosecha la fruta, este efecto de enfriamiento se detiene y el aumento de la temperatura se ve agravado por la exposición al sol (Kassim et al. 2013).

La tendencia de incremento del ABA con la maduración están de acorde a lo reportado por Meyer et al. (2017), quienes señalaron que la concentración de ABA en el mesocarpio de la palta aumentó a medida que la fruta maduraba según lo determinado por espectrometría de masas (LC-MS), y se correlacionó negativamente con la firmeza de la fruta. Contrariamente, algunos estudios informaron la disminución del ABA durante la maduración como indica Contreras-Gutiérrez et al. (2013) quienes observaron que la concentración del ABA disminuyó durante la maduración de la palta variedad Reed, la concentración osciló entre 13,41 y 1,91 mg/kg bs, el cual fue determinado por CE-MS y LC-MS. Asimismo, manifestó que la fitohormona; ácido abscísico es el principal actor en la mediación de la adaptación de las plantas al estrés.

Las concentraciones de ABA encontrados, son cercanos a lo reportado por Meyer et al. (2017), cuyos valores fueron de 0,57 mg/Kg bs después de 1 día a 21 °C. Los frutos de la tercera cosecha mostraron menor contenido de ABA en el día de cosecha (0,7 mg/Kg bs), y menor incremento durante la maduración, tal vez sea debido al menor tiempo de exposición en anaquel para llegar a la madurez de consumo. También, podría explicarse por el tamaño pequeño de las frutas utilizada en la primera y segunda cosecha (180 - 300 g) en comparación con los de la tercera cosecha (240 - 370 g). Al respecto, Richings et al. (2000), reportaron que en frutas fenotípicamente pequeños de palta cv. 'Hass' tuvo una mayor tasa de respiración y un mayor contenido de ABA que las frutas de mayor tamaño.

4.7 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS

La capacidad antioxidante es un parámetro importante para establecer la funcionalidad de la fruta en la salud. Los antioxidantes son más frecuentes en los tejidos expuestos al estrés, como el exocarpio y la semilla que en el tejido mesocarpial, la baja concentración de antioxidantes en el mesocarpio podría ser una de las razones principales de la susceptibilidad de las paltas a los trastornos fisiológicos (Tsfay et al. 2010). Los compuestos fenólicos carotenoides, α , β , γ y δ -tocoferoles, acetogeninas, ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados son los antioxidantes clave encontrado en la palta (Bhuyan et al. 2019).

En la Figura 20, se reporta la evolución de la capacidad antioxidante ABTS lipofílica (CAL) e hidrofílica (CAH) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) respectivamente. Las medias de los resultados de CAL y CAH, para cada tratamiento se presentan en el Anexo 17.

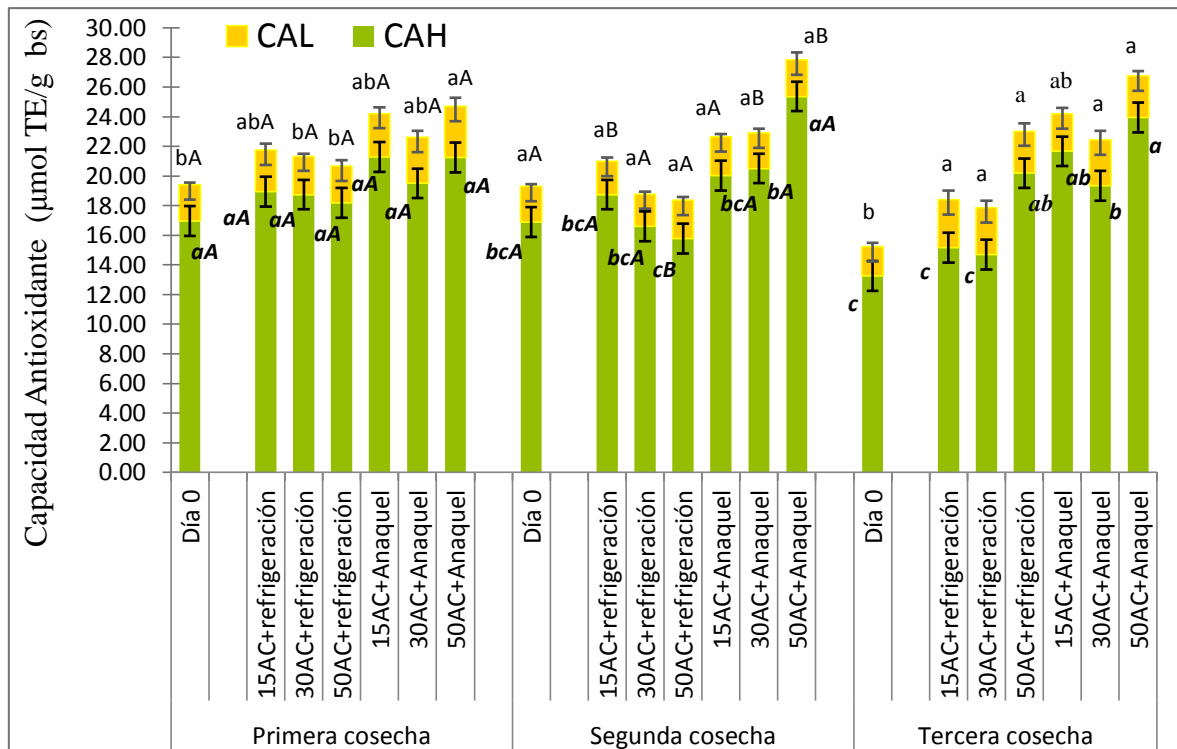


Figura 20. Evolución de la capacidad antioxidante ABTS lipofílica (CAL) e hidrofílica (CAH) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha medidos al inicio (día 0), final del almacenamiento en AC+refrigeración y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cosecha y letras diferentes en mayúscula indican diferencia significativa entre cosechas. Los valores de cada columna son medias de 10 repeticiones independientes \pm desviación estándar.

La concentración inicial (día 0) de CAL y CAH fue 2,4; 2,4; 1,9 y 16,9; 16,8; 13,3 $\mu\text{mol TE/g bs}$ para la primera, segunda y tercera cosecha respectivamente. No se observó diferencias significativas ($p > 0,05$) en el contenido de CAL y CAH con el tiempo de cosecha (primera y segunda). Entre los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración el contenido de CAL y CAH se mantuvo estable ($p > 0,05$) para la primera y segunda cosecha. Los frutos de la tercera cosecha (día 0) presentaron valores bajos de CAL y CAH, en comparación a las primeras cosechas, sin embargo durante el periodo de almacenamiento en AC+refrigeración los valores de CAL fueron cercanos a las primeras cosechas y se mantuvieron constantes entre los periodos de almacenamiento, pero CAH incrementó significativamente a 50 d de almacenamiento ($p < 0,05$).

Durante la maduración en anaquel, CAL aumentó ($p < 0,05$) a 50AC+Anaquel de la primera cosecha, mientras que se mantuvo estable en los frutos de la segunda y tercera cosecha. Existen diferencias estadísticamente significativas entre la primera y la segunda cosecha, ya que los frutos madurados de 30 y 50AC+Anaquel provenientes de la primera cosecha presentaron valores más altos de CAL que la segunda cosecha. Con respecto, al contenido de CAH no varió significativamente ($p > 0,05$) durante la maduración de los frutos en anaquel en la primera cosecha; sin embargo, incrementó ($p < 0,05$) en 50AC+Anaquel de la segunda cosecha, y en general en la tercera cosecha. La mayor CAL ($3,45 \pm 0,56 \mu\text{mol TE/g bs}$) y CAH ($23,94 \pm 3,08 \mu\text{mol TE/g bs}$) fueron encontrados en 50AC+Anaquel de la primera y tercera cosecha respectivamente.

La tendencia a disminución para CAH, al retrasar la cosecha (primera y segunda con respecto a la tercera) es consistente con los resultados de Wang et al. (2012) quienes mostraron que los frutos de cosecha temprana, retuvo mayores concentraciones de antioxidantes, que la cosecha tardía, incluso después de almacenarse a 4°C por un período prolongado de 35 días.

Los resultados indican que CAH fue mayor que CAL, lo cual coincide con los resultados de Corral-Aguayo et al. (2008) quienes mostraron mayores valores para la parte hidrofílica que la lipofílica ($222,1 \mu\text{mol}$ vs. $31,8 \mu\text{mol TE/g bh}$) en palta 'Hass' madura, aunque sus concentraciones es de aproximadamente 9 veces mayor que en el presente estudio. Estas diferencias podrían deberse a la maduración inmediatamente después de la cosecha, por lo que los antioxidantes fueron más frecuentes en esos frutos expuestos al estrés. Contrariamente a esto, Villa-Rodríguez et al. (2011) informaron una mayor capacidad antioxidante lipofílica que la parte hidrofílica, al igual que Mardigan et al. (2019), quienes estudiaron la capacidad antioxidante ORAC en la parte lipofílica de la palta variedad Margarida y encontraron $200 \mu\text{mol TE/g bh}$, estos resultados indican que la palta presenta una fuente valiosa de antioxidantes lipofílicos, y los valores más altos en comparación con el presente estudio, esta diferencia podría explicarse por el uso de β -ciclodextrina metilada para la solubilización del extracto lipofílico.

Wu et al. (2004) informaron que la palta, contiene una capacidad antioxidante total de $600 \mu\text{mol Trolox equivalent (TE)}$ por cada 30 g, este contenido coincide con los resultados de la presente investigación. En contraste, Rodríguez-Carpena et al. (2011) reportaron 0,94

mmol TE/g peso fresco (~658 μ mol TE/g bs) para el extracto hidrofílico de la palta 'Hass' madura, estos valores altos, podrían explicarse con la metodología de extracción empleados que se asemeja a lo seguido en el presente estudio pero con la diferencia que realizaron una concentración previa a la reacción. También, otros han reportado mayores valores de CAH como el estudios de García-Alonso et al. (2004) quienes evaluaron la capacidad antioxidante TEAC de 28 extractos de frutas en la fase acuosa e informaron que la palta (1 mmol/g ~1000 μ mol TE/g bh) presentó la capacidad antioxidante más baja entre ellos (caqui 406 mmol/g, mora 192 mmol/g, arándano 187 mmol/g, etc.).

Los resultados indican, que el proceso de maduración estuvo acompañado de incrementos en CAL y CAH. La capacidad antioxidante, posiblemente estuvo influenciado por el tratamiento post-cosecha en AC previo a la maduración, y al ser trasferido a condiciones de anaquel sufrió un cambio drástico ocasionando estrés del fruto y por tanto incrementaron CAL y CAH como mecanismo de defensa. Contrariamente, Villa-Rodríguez et al. (2011) reportaron que la capacidad antioxidante lipofílica, presenta la tendencia a disminuir conforme transcurre la maduración, mientras que para la parte hidrofílica la tendencia es mantenerse constante durante la maduración de la palta 'Hass'.

4.7.1 Correlación entre la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos

Villa- Rodríguez et al. (2011) indican que los fitoquímicos lipófilos pueden contribuir en mayor medida que los fitoquímicos hidrófilos a la capacidad antioxidante de la palta. Con el fin de describir la relación entre la capacidad antioxidante y los compuestos bioactivos estudiados (CFT, tocoferoles, fitoesteroles), se realizaron pruebas de Correlación de Pearson (donde r es significativa al nivel 0,01).

En general, hubo una correlación buena y significativa entre CAH y CFT para la primera ($r = 0,65$) y tercera cosecha ($r = 0,725$), el cual indica que a mayor CAH mayor es el contenido de CFT. Aunque se observó una correlación baja para la segunda cosecha ($r = 0,119$), lo que indicaría que los CFT no son los únicos y/o mayores contribuyentes a la capacidad antioxidante de la palta. Al respecto, Wang et al. (2012) y Corral-Aguayo et al. (2008) reportaron correlaciones significativas y positivas entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de los extractos de palta, determinados por diferentes métodos.

También, se encontró una correlación media entre la capacidad antioxidante lipofílica ABTS (CAL) y el contenido total de tocoferoles para la primera ($r = 0,398$) y tercera cosecha ($r = 0,217$). También, se observó una correlación media entre CAL y el contenido de fitoesteroles totales para la primera ($r = 0,295$), segunda ($r = 0,401$) y tercera cosecha ($r = 0,473$). Estos resultados, parecen indicar que otros fitoquímicos no medidos en el presente trabajo (por ejemplo los carotenoides) podrían contribuir a la capacidad antioxidante lipofílica de la palta. Asimismo, es necesario tener en cuenta la posible sinergia y/o efectos antagonistas de esos compuestos (Plaza et al. 2009).

4.8 EVALUACIÓN DE LA HETEROGENEIDAD DE MADURACIÓN EN ANAQUEL

Los días a madurez de consumo de la palta 'Hass' en anaquel (a 20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR), fue inversamente proporcional a la duración de los periodos de almacenamiento en AC+refrigeración, la cual fue confirmada con la medida de la firmeza de la fruta (4 a 13 N), es decir a mayor periodo de almacenamiento y/o tiempo de cosecha, fue menor los días para alcanzar la madurez de consumo. La firmeza de la palta es un determinante vital para evaluar el grado de maduración y se puede describir como la resistencia a la penetración (Mizrach y Flitsanov 1999).

En la Figura 21, se reporta el histograma de frecuencia del número de días para alcanzar la madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en anaquel de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, después de 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración y en el Cuadro 2, se reporta los valores promedio de firmeza (N) respectivamente.

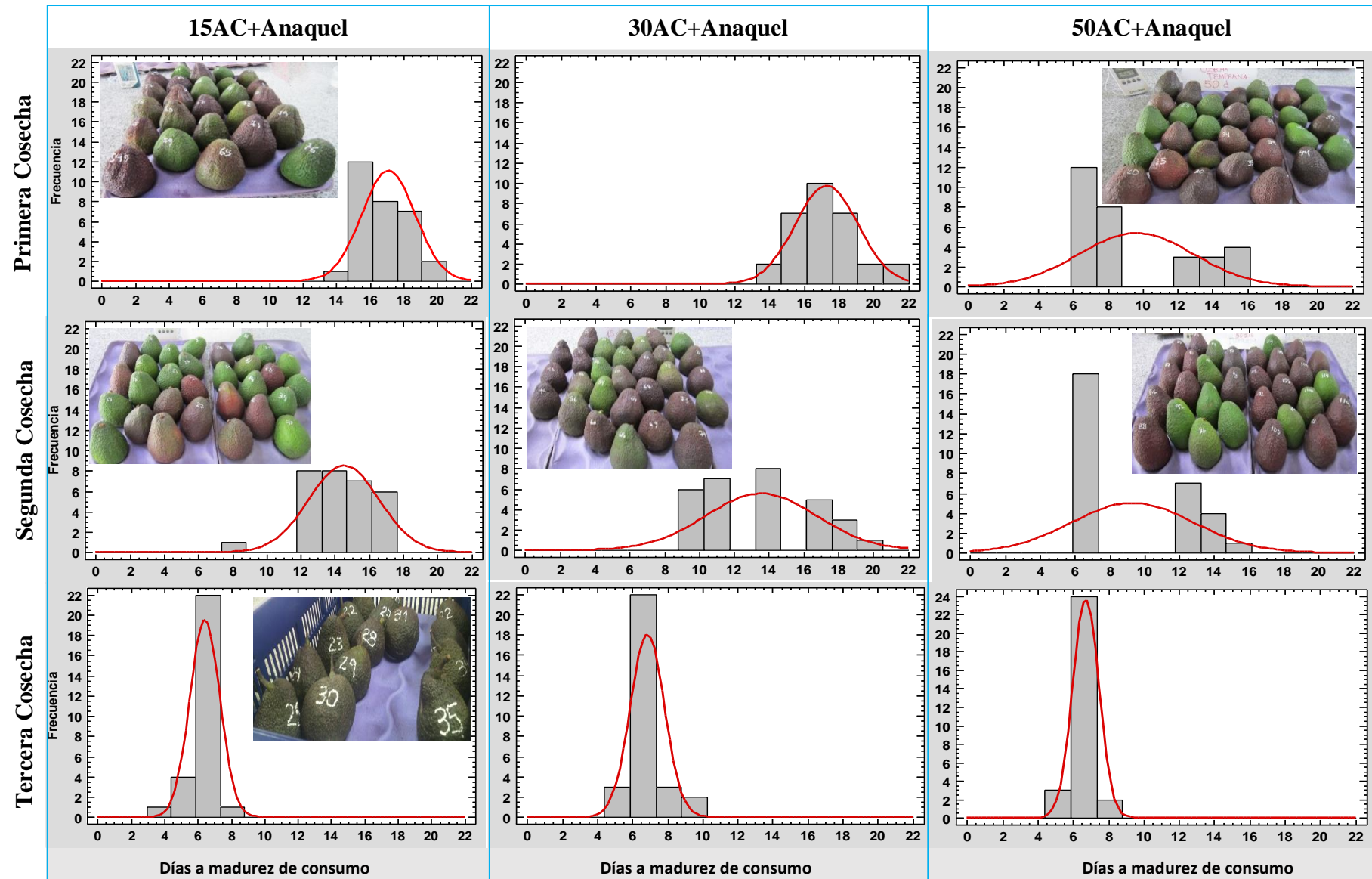


Figura 21. Evaluación de la maduración heterogénea de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C y 60-70 por ciento HR) después de 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR). El Histograma de frecuencia monitoreó el tiempo de maduración individual de paltas (n=30) por tratamiento. Las barras presentan el número de paltas que alcanzaron la madurez de consumo por día.

Cuadro 2: Valores de firmeza (N) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, al alcanzar la madurez de consumo en anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR), después del periodo de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR).

Cosecha Tiempo, Lugar	Maduradas en anaquel			p-valor
	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
Primera (Cañete)	6,1 ±1,4 ^{aa}	5,9 ±1,1 ^{aa}	5,6 ±1,3 ^{aa}	0,296
Segunda (Cañete)	5,6 ±0,7 ^{aa}	5,5 ±1,1 ^{aa}	5,3 ±0,9 ^{aa}	0,283
p-valor	0,342	0,095	0,250	
Tercera (La Molina)	7,3 ±1,4 ^b	8,6 ±0,3 ^a	8,5 ±1,5 ^{ab}	0,016

Los valores de cada tratamiento es la media de 30 determinaciones independientes \pm desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Los días a madurez de consumo (etapa lista para comer “*ready to eat*”) para los frutos de la primera cosecha llegaron a partir del día 15 al 19 (teniendo el día 16, el 40 por ciento de paltas maduras); del día 14 al 19 (teniendo el día 16, el 33 por ciento de paltas maduras) y del día 7 al 14 (teniendo el día 7, el 42 por ciento de paltas maduras) para 15, 30 y 50 (AC+Anaquel) respectivamente. Los frutos de la segunda cosecha, presentaron un valor promedio de firmeza de 5,5 N, llegando a madurez de consumo a partir del día 8 al 16; del día 10 al 19 y del día 7 al 15 (teniendo el día 7, el 62 por ciento de paltas maduras) para 15, 30 y 50 (AC+Anaquel) respectivamente. Sin embargo, para la primera y segunda cosecha, el intervalo de confianza (campana roja de la Figura 21) mostró mayor dispersión de días para terminar la maduración del lote (n=30). Los frutos de la tercera cosecha, alcanzaron la madurez de consumo (7 N de firmeza promedio) a partir del día 4 al 7 para 15AC+Anaquel y del día 5 al 8 para 30 y 50 (AC+Anaquel), contando en el día 6 con casi el 80 por ciento de paltas maduras en todos los tratamientos.

Pedreschi et al. (2014), señalan que el comportamiento de maduración desigual de las frutas de la cosecha temprana se ha atribuido a la falta de homogeneidad en el contenido de materia seca, con muchas frutas que no cumplen con el mínimo de 23 por ciento de materia seca necesaria para llegar a la madurez fisiológica. Asimismo, Blakey et al. (2009) informaron que las primeras temporadas de cosecha presentan una mayor heterogeneidad de maduración en comparación con la fruta de temporada tardía. También, Donetti y Terry (2014) mencionaron que la fruta cosechada al final de la temporada, se caracteriza por una mayor

madurez con la concomitante de reblandecimiento más rápido del mesocarpio independientemente de su origen.

De los resultados obtenidos se destaca que, la fruta de la tercera cosecha presenta una menor variabilidad en cuanto a los días para llegar a alcanzar la madurez de consumo, del cual se puede inferir que el número de días para llegar a madurez de consumo, se ve influenciado por el tiempo de cosecha y la duración del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración. Al respecto, Littmann (1972), Adato y Gazit (1974) mencionan que el estrés hídrico causado por un almacenamiento prolongado puede resultar en un aumento de la producción de etileno que a su vez puede mejorar los procesos de maduración en menor tiempo. También, Wang et al. (2012) observaron que la fruta llegó a madurar entre los 3 y 7 días después de 35 y 21 días a 4 °C de almacenamiento. Estos resultados sugieren que el tiempo de maduración depende de las condiciones y del tiempo de almacenamiento previo, además de una variabilidad temporal de la cosecha, lo cual es consistente con nuestros resultados.

Un comportamiento similar de días a madurez de consumo para los tres tiempos de cosecha en palta 'Hass' chilena, ha sido descrito previamente por Fuentealba et al. (2017), por ejemplo reportaron que casi toda la fruta de la temporada tardía maduró entre 8 y 10 d después de 30 d en AC a 5 °C a las mismas condiciones de AC aplicados en el presente estudio. Asimismo, confirmaron que los frutos de la cosecha tardía tuvieron menos dispersión de días para alcanzar la madurez de consumo.

El comportamiento de los frutos de las primeras cosechas, en relación de días a madurez de consumo podría estar relacionado con el mayor contenido de la manoheptulosa a diferencia de los frutos de la tercera cosecha. Ya que a medida que el fruto está creciendo y madurando, disminuye la concentración de azúcares (perseitol) (Liu et al. 1999). Por lo tanto, es probable que los frutos de la primera cosecha necesiten más tiempo para alcanzar el punto del climaterio que los frutos de la tercera cosecha. Al respecto Contreras-Gutiérrez et al. (2013) señalan que es probable que, la fruta necesite un suministro continuo de azúcares y algunos otros compuestos de las hojas, y una reducción de este suministro podría comenzar el proceso de maduración, la cosecha de los frutos podría tener el mismo efecto induciendo la maduración. Aunque, Pedreschi et al. (2014) no lograron demostrar una correlación entre la

concentración de estos azúcares C7 en el mesocarpio de la palta con los días para alcanzar la madurez de consumo.

Usando los datos de la evaluación de la maduración heterogénea (Figura 21), se determinó los indicadores de heterogeneidad (Anexo 18), manifestado en los días necesarios (días promedio \pm desviación estándar) que demoraron las paltas en llegar a madurez de consumo; en la primera cosecha ($17 \pm 1,6$; $16,5 \pm 1,9$ y $10,4 \pm 3,6$ días), segunda cosecha ($13,2 \pm 3,11$; $14,8 \pm 3,8$ y $12,3 \pm 3,6$ días) y tercera cosecha ($5,5 \pm 1,3$; $6,5 \pm 1,3$ y 6 ± 1 días) para 15, 30 y 50AC+Anaquel respectivamente. Siendo no tan importante saber cuánto días demora en madurar la palta, sino cuan amplio o reducido es la desviación estándar, el cuál es el marcador de cómo es que la heterogeneidad se ha visto incrementada al adelantar el tiempo de cosecha.

4.9 TRASTORNOS FISIOLÓGICOS

Los trastornos fisiológicos ocurren cuando la palta 'Hass' se almacena durante más de 4 a 6 semanas aproximadamente (Woolf 2005). Los trastornos clave son la decoloración del mesocarpio, el pardeamiento vascular y la mancha pulpar, que son síntomas del daño interno por frío (IC) (Eaks 1976). Otros incluyen lixiviación vascular (pardeamiento del mesocarpio alrededor de los haces vasculares), tejido vascular fibroso (engrosamiento y separación de las cadenas vasculares) y ennegrecimiento de la capa más externa del mesocarpio (Woolf 2005). También están considerados los daños severos en la epidermis (manchas negras en la cáscara) (Meir et al. 1995). Los trastornos fisiológicos están influenciados por factores previos a la cosecha y también por el tiempo que transcurre desde la recolección hasta el consumo (Ginsberg 1985). Asimismo, las atmósferas controladas o modificadas que exponen a concentraciones de CO₂ demasiado bajas o demasiado altas pueden provocar trastornos (Ferguson et al. 1999).

En la Figura 22, se reporta la incidencia de IC interno presentados en la palta 'Hass' procedentes de la primera cosecha, al alcanzar la madurez de consumo en anaquel. Asimismo, en el Anexo 19, se presenta imágenes del fruto ideal para el consumidor (sin daños internos) de los tres tiempos de cosecha.



Figura 22: Trastornos fisiológicos presentados en la palta 'Hass' de la primera cosecha: A) Decoloración rosada en el mesocarpio y B) Pardeamiento de fibras o vascular.

De los tres tiempos de cosecha, solo se presenciaron incidencias de IC interno en los frutos de la primera cosecha, que resultaron con presencia de decoloración rosada en el mesocarpio de una palta de 15AC+Anaquel (3,33 por ciento) y pardeamiento de fibras o vascular en otra palta de 30AC+Anaquel (3,33 por ciento). La incidencia se consideró como la cantidad (%) de frutas que presentaron el daño interno del número total (n=30) de frutas en cada tratamiento afectado.

Los resultados indican una baja incidencia de IC interno, evidencia de que las condiciones de almacenamiento bajo AC+refrigeración han contribuido a la reducción de IC. Al respecto Kader y Arpaia (2014), sostienen que una de las ventajas de la AC es la reducción de los IC y la conservación de la calidad de la palta 'Hass' hasta por 9 semanas. Asimismo, el momento del desarrollo de IC y su gravedad depende del cultivar, el área de producción, y el estado de maduración del fruto.

Carrillo (1991), sostiene, que en general la susceptibilidad a trastornos fisiológicos aumenta al retrasarse la cosecha. También, Ginsberg (1985) menciona que un tiempo de maduración rápido significa una vida útil corta. Esto y el hecho de que las frutas cosechadas tardíamente tienden a ser más susceptibles tanto a los trastornos fisiológicos como a la descomposición de los hongos. Cutting et al. (1992), señalan que al retrasar la cosecha, en general la concentración de calcio en el tejido disminuye afectando la estabilidad de las membranas lo

que explica por qué la fruta de cosecha tardía es más sensible a los desórdenes fisiológicos y que la concentración de fenoles (sustratos de la polifenoloxidasas) se incrementa en la medida que los frutos presentan mayor madurez. Por el contrario, en los resultados de esta investigación se encontró la incidencia de IC interno en los frutos madurados de la primera cosecha. Tal vez, estas diferencias se deben a incidencias leves encontradas, por lo que no se puede definir si la incidencia es mayor al principio del tiempo de cosecha.

4.10 ANÁLISIS MULTIVARIADO PLS-DA

Adicionalmente, se empleó el análisis multivariado PLS-DA, para encontrar marcadores predictivos a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos, metabolitos primarios y secundarios y capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica), que estarían relacionados con la heterogeneidad que presenta la palta al alcanzar la madurez de consumo o la etapa listo para comer “*ready to eat*”. Para lo cual, se determinó el promedio de los días a madurez de consumo de las paltas (n=30) (AverRTE) y la desviación estándar de los mismos (RTEDEV) por periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (15, 30 y 50 días), teniendo en cuenta que mientras mayor valor presenta la desviación estándar, más heterogéneo será el lote al madurar, siendo por ello la respuesta a relacionar el valor de la desviación estándar (RTEDEV) con los diferentes marcadores evaluados citados previamente.

En las Figuras 23, 24 y 25 se presentan los resultados del análisis multivariado de la evolución de los diversos marcadores a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos y metabolitos primarios y secundarios) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido a 15, 30 y 50 d de almacenamiento en Ac+refrigeración y después cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel respectivamente.

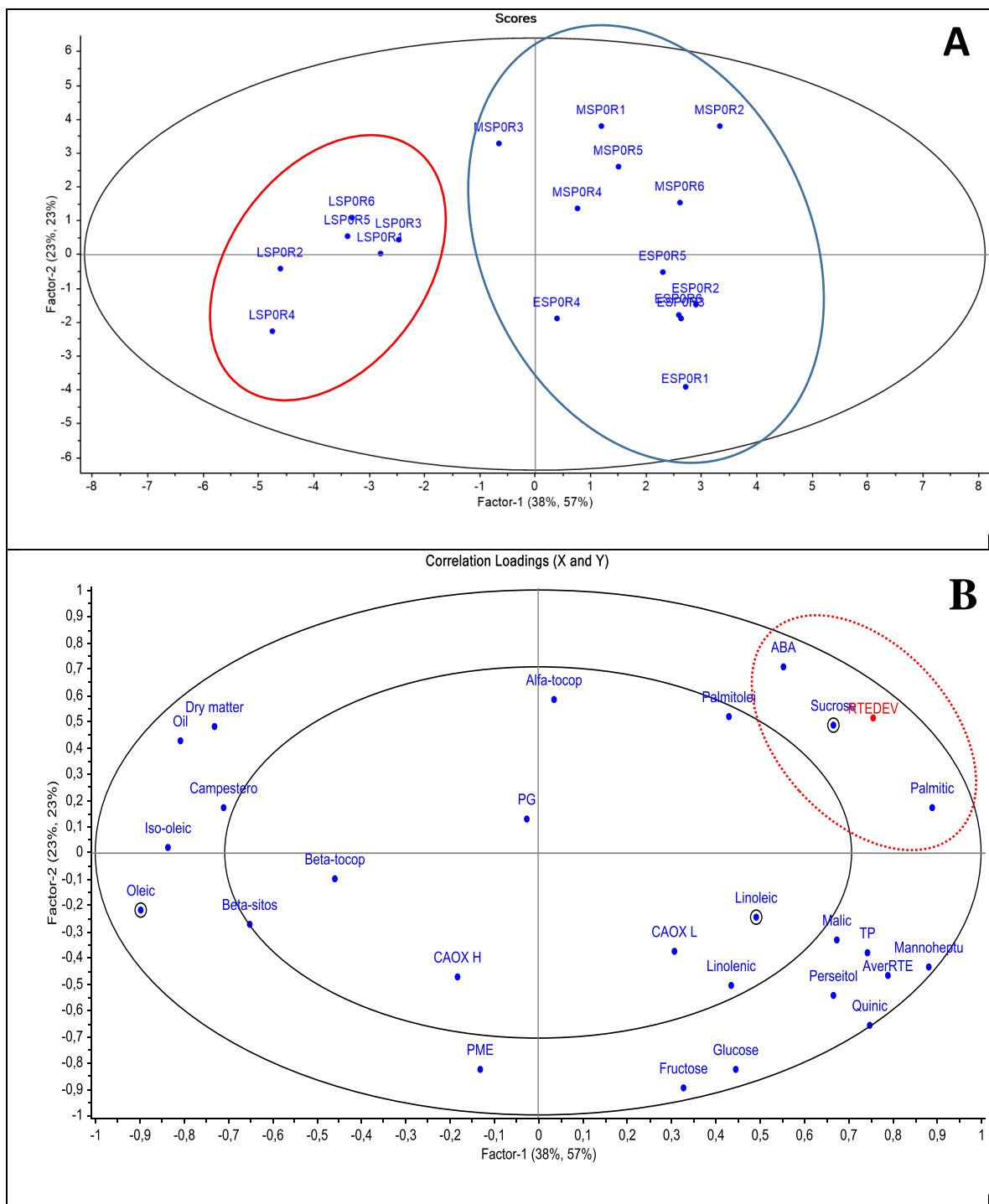


Figura 23. Análisis de PLS para la evolución de los diversos marcadores a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos y metabolitos primarios y secundarios) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha: primera (ESP), segunda (MSP) y tercera (LSP), medido a 15 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂ y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

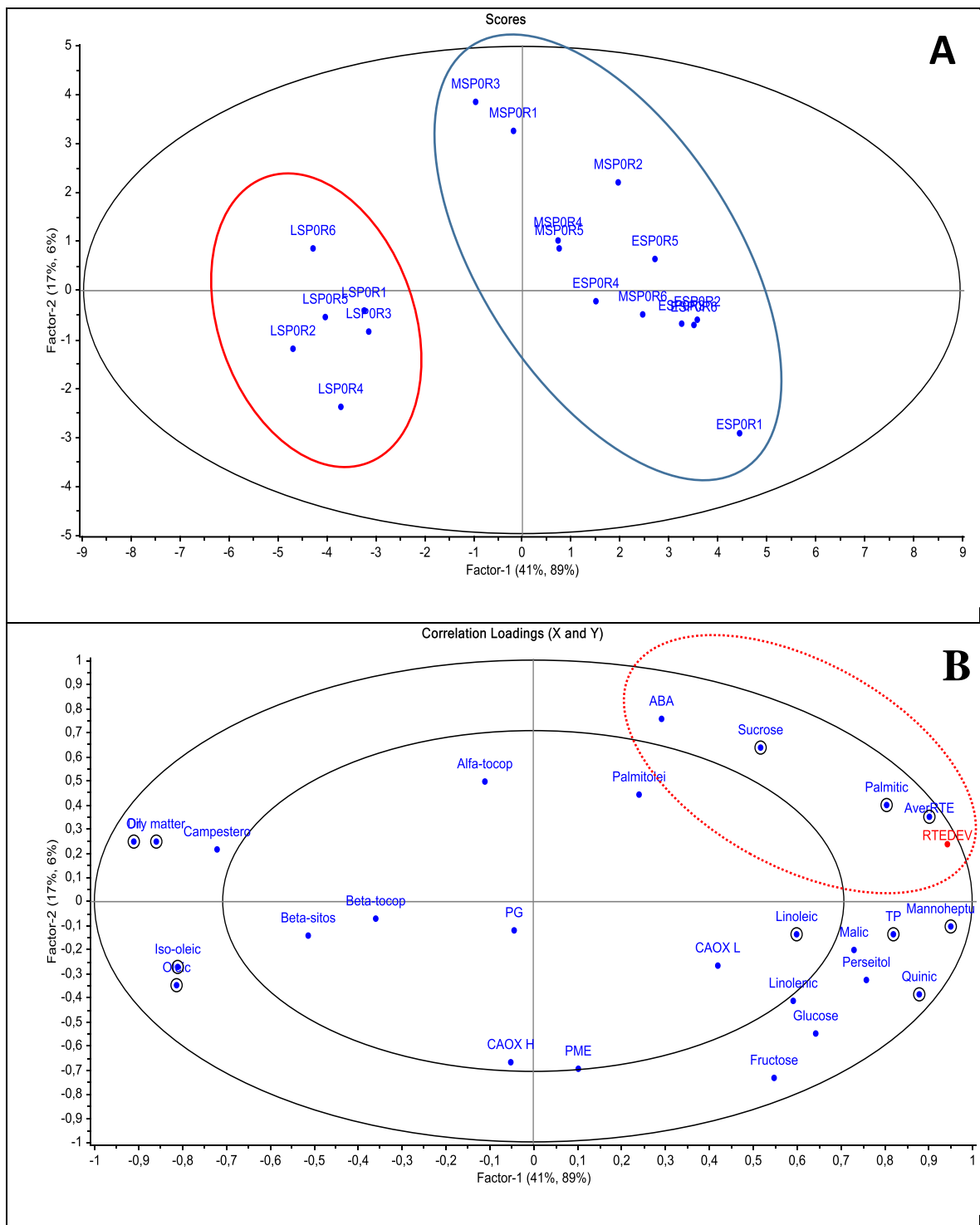


Figura 24. Análisis de PLS para la evolución de los diversos marcadores a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos y metabolitos primarios y secundarios) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha: primera (ESP), segunda (MSP) y tercera (LSP), medido a 30 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂ y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR) .

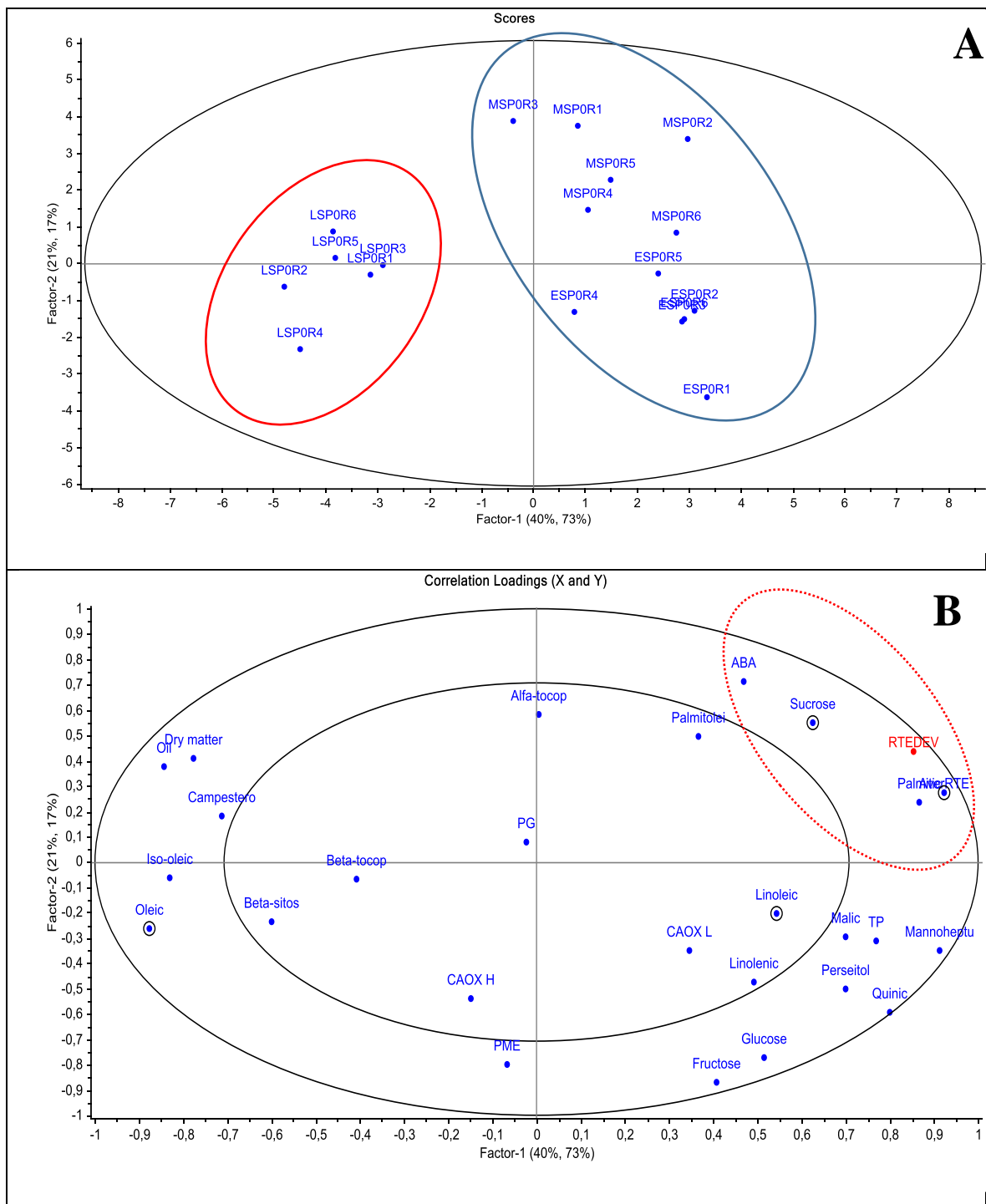


Figura 25. Análisis de PLS para la evolución de los diversos marcadores a cosecha (físicoquímicos, enzimáticos y metabolitos primarios y secundarios) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha: primera (ESP), segunda (MSP) y tercera (LSP), medido a 50 días de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂ y 7 °C, 80-90 por ciento HR), y cuando alcanzaron la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

En las Figuras 23A, 24A y 25A, primeramente se observa, la formación de dos grupos separados; en azul corresponde a las paltas recolectadas en la primera (ESP) y segunda (MSP) cosecha, y en rojo pertenece a las paltas de la tercera cosecha (LSP), lo que indica que ambos grupos manifiestan diferentes comportamientos al alcanzar la madurez de consumo y este mismo comportamiento siguen las paltas maduradas de 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración. Por otro lado, en las Figuras 23B, 24B y 25B, se observa que el análisis del PLS discriminó a las variables encontradas como más influyentes en el proceso evaluado, siendo aquellas que se hallan en la región ocupada entre los dos círculos. Asimismo, se observó que la variable respuesta a evaluar RTEDEV (en rojo) se presentó cercano a los marcadores ácido palmítico, sacarosa y el ácido abscísico (ABA); los cuales estarían relacionados directamente con la heterogeneidad de la maduración de la palta 'Hass', independientemente del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (15, 30 y 50 d), obsérvese por transposición de las figuras A y B, en la línea vertical central a la derecha que esta respuesta se presentó en las paltas recolectadas de la primera y segunda cosecha. Asimismo, los marcadores contrarios a la variable respuesta RTEDEV, fue el ácido oleico e iso-oleico, indicando que ellos están indirectamente relacionados con la heterogeneidad de la palta al alcanzar la madurez de consumo y esta respuesta se relacionó a las paltas recolectadas en la tercera cosecha. Los puntos marcados con círculo negro indican que estos marcadores tienen una incidencia en afinidad.

V. CONCLUSIONES

1. Al retrasar la cosecha (primera a segunda), se encontró mayor acumulación de MS, aceite y ácido iso-oleico y disminución de la mannoheptulosa, glucosa, fructosa, actividad PME y la disminución de los parámetros de color (L^* , h°) de la cáscara del fruto.
2. Los frutos de la tercera cosecha presentaron mayores contenidos de MS, aceite, ácido iso-oleico y linoleico, β -tocoferol y menores contenidos de mannoheptulosa, perseitol, sacarosa, ácido málico y quínico, y actividad PME que las primeras cosechas.
3. Se encontró que el tiempo de cosecha y el período de almacenamiento en AC+refrigeración tienen un efecto significativo en la evolución de las características fisiológicas, fisicoquímicas y de los metabolitos de la palta. Se retrasó el pico climaterico en los frutos de la primera cosecha; y este se presentó a 50 y 30 días de almacenamiento en la segunda y tercera cosecha. Los frutos de la tercera cosecha, durante el almacenamiento en AC mostraron un incremento en la luminosidad de la cáscara del fruto a lo largo del periodo de almacenamiento (50 d), un aumento en el contenido del β -sitosterol y campesterol hasta los 30 d; aumento de ABA y CAH a 50 d; y un aumento de CAL en todos los periodos de almacenamiento. También, disminuyeron la mannoheptulosa y perseitol, en general para todos los periodos de almacenamiento en los frutos de la primera y tercera cosecha.
4. Durante la maduración en anaquel; la pérdida de peso aumentó siendo mayores en los frutos de la primera cosecha, el color de cáscara cambió de verde a púrpura para la primera y segunda cosecha y de verde a negro para la tercera cosecha, la actividad PME disminuyó y PG aumentó en las tres cosechas. Los metabolitos primarios disminuyeron con la maduración: la mannoheptulosa y el perseitol en general para las tres cosechas, la glucosa y el ácido palmítico (para la primera cosecha) y la fructosa (para la tercera cosecha) después de 50 d de almacenamiento. Los metabolitos secun-

darios aumentaron durante la maduración: el α -tocoferol (en general para la primera cosecha), el β -sitosterol y campesterol (después de 30 d de almacenamiento para la segunda cosecha) y los CFT (en general para la segunda y tercera cosecha). Asimismo, el ABA (en general para la primera cosecha y después de 15 y 30 d de almacenamiento para la tercera cosecha), CAH (después de 50 d de almacenamiento en la segunda cosecha y en general para la tercera cosecha) y CAL (después de 50 d de almacenamiento para la primera cosecha) aumentaron con la maduración.

5. Se determinó los días a madurez de consumo de la palta para la primera ($17 \pm 1,6$; $16,5 \pm 1,9$ y $10,4 \pm 3,6$ días), segunda ($13,2 \pm 3,11$; $14,8 \pm 3,8$ y $12,3 \pm 3,6$ días) y tercera cosecha ($5,5 \pm 1,3$; $6,5 \pm 1,3$ y 6 ± 1 días) después de 15, 30 y 50 días de almacenamiento en AC+refrigeración respectivamente, teniendo en cuenta que mientras mayor valor presentó la desviación estándar, más heterogéneo fue el lote al madurar.
6. Los desórdenes fisiológicos como la decoloración rosada en el mesocarpio (3,33 por ciento) y el pardeamiento de fibras o vascular (3,33 por ciento) se presentaron solo en los frutos madurados de la primera cosecha.
7. El análisis multivariado PLS-DA, discriminó la tercera cosecha de la primera y segunda cosecha, lo que indicaría que los frutos presentan diferentes comportamientos al alcanzar la madurez de consumo. Asimismo, presentó el ácido palmítico, la sacarosa y el ácido abscísico como posibles principales marcadores predictivos a cosecha altamente correlacionados con la heterogeneidad de la maduración de la palta 'Hass', mientras que los principales marcadores predictivos a cosecha que contribuirían con la homogeneidad de la maduración sería el ácido oleico e iso-oleico mediante su acumulación.

VI. RECOMENDACIONES

- La evaluación en una investigación posterior de la calidad de la fruta en relación con el tiempo de cosecha, podría estar respaldada por un panel sensorial confiable, para juzgar aspectos como la madurez, la palatabilidad, la textura, el gusto, etc., y determinar el índice de madurez aceptable en relación con el tiempo de cosecha, sea tal, que la fruta pueda ser entregada a los mercados en una condición sólida y madurada de manera uniforme después de la comercialización minorista.
- Un trabajo adicional debería centrarse en el análisis de otras tecnologías “ómicas”, como la proteómica, como herramientas adicionales para obtener más información sobre los posibles mecanismos involucrados en la heterogeneidad de la maduración de la palta 'Hass'.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA (American Dietetic Association). 2009. Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *J. Am. Diet Assoc.* 99: 1278-1285.

Adato, I.; Gatiz, S. 1974. Water-deficit stress, ethylene production and ripening in avocado fruit. *Plant Physiol.* 53, 899-902.

Agraria.pe. 2018. <http://www.agraria.pe/noticias>. Consultado el 29/10/2018.

Alamar, MC.; Collings, E.; Cools, K.; Terry, LA. 2017. Impact of controlled atmosphere scheduling on strawberry and imported avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology* 134: 76-86.

Alós, E., Rodrigo, MJ., Zacarias, L. 2019. Chapter 7- Ripening and Senescence. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Pg. 131-155.

Amaral, J.; Casal, S.; Torres, D.; Seabra, R.; Oliveira, B. 2005. Simultaneous Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Hazelnuts by a Normal Phase Liquid Chromatographic Method. *Analytical Sciences*. 21: 1545-1549.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist International). 2007. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Edit. AOAC International. Maryland, USA. 1694 pp.

AOAC (Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemistry). 1995. 16th ed, Ed. By Hoorwitz, N., P. Chialo, y H. Reynold, Washington, USA.

AOAC (Official methods of analysis (16th ed). 1994. Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists.

Arnao, MB. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Foods Science and Technology* 11: 419 - 421.

Arpaia, ML., Ontai, SL., Reints Jr, JS., 1992. Protecting the postharvest quality of avocado fruit. *Calif. Avocado Soc. Yearb.* 76, 93-97.

Arpaia, ML., Collina, S., Sieverta, J., Obenland, D. 2018. Hass avocado quality as influenced by temperature and ethylene prior to and during final ripening. *Postharvest Biology and Technology* 140: 76-84.

Ashton, OB.; Wong, M.; Mcghie, TK.; Vather, R.; Wang, Y.; Requejo-Jackman, C.; Ramankutty, P.; Woolf, AB. 2006. Pigments in avocado tissue and oil. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 10151-10158.

Ataucusi, S. 2015. Manejo técnico del cultivo de palto. Cáritas del Perú. I Edición. Perú.

Awad, M., Young, R. 1980. Avocado pectinmethylesterase activity in relation to temperature, ethylene, and ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science.* 105 (5): 638 - 641.

Awad, M., Young, R. 1979. Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase, and pectinmethylesterase in avocado (*Persea americana Mill, cv. Fuerte*) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiology*, 64(2), 306 - 308.

Bapat, VA., Trivedi, PK., Ghosh, A., Sane, VA., Ganapathi, TR., Nath, P., 2010. Ripening of fleshy fruit: Molecular insight and the role of ethylene. *Biotech. Adv.* 28, 94-107.

Barmore, CR., Rouse, AH. 1976. Pectinesterase activity in controlled atmosphere stored avocados. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101: 294 - 296.

Berastegi, I.; Barriuso, B.; Ansorena, D.; Astiasarán, I. 2012. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. *Food Chemistry* 132: 439-446.

Berger, H. 1996. Nuevas opciones en el manejo de fruta después de cosecha. En: Cultivo del palto y perspectivas de mercado. Publicaciones Misceláneas Agrícolas N°45. Departamento de Producción Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile. 123p.

Bernal, J., Díaz, C., Osorio, C., Tamayo, A., Osorio, W., Córdoba, O., Londoño, M. 2014. Actualización Tecnológica y Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en el Cultivo de Aguacate. Disponible en <https://docplayer.es/41801465-Actualizacion-tecnologica-y-buenas-practicas-agricolas-bpa-en-el-cultivo-de-aguacate.html>

Bertling, I.; Tesfay, SZ.; Bower, JP. 2007. Antioxidants in 'Hass' avocado. *S. Afr. Avocado Growers' Assoc. Yearb.* 30, 17-19.

Bertling, I., Bower, JP. 2005. Sugars as energy sources - is there a link to avocado fruit quality. *South African Avocado Growers Association Yearbook* 28: 24-27.

Biale, JB., Young, RE. 1971 The avocado pear. In: Hulme, A.C. (Ed.), *The Biochemistry of Fruits and their Products*, Vol. 2. Academic Press, London, pp. 2-63.

Bill, M; Sivakumar, D; Thompson, AK; Korsten, L. 2014. Avocado Fruit Quality Management during the Postharvest Supply Chain. *Food Reviews International* 30(3): 169-202.

Blakey, R.; Tesfay, S.; Bertling, I.; Bower, J., 2012. Changes in sugars, total protein and oil in Hass avocado (*Persea americana* Mill.) fruit during ripening. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 87, 381-397.

Blakey, R.; Bower, J.; Bertling, I.; 2009. Influence of water and ABA supply on the ripening pattern of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit and the prediction of water content using near infrared spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 53, 72-76.

Blakey, R., Bower, J., 2007. The feasibility of a hot water treatment for South African avocados (*Persea americana* [Mill.] cv Hass). *S. Afr. Avocado Grow. Assoc. Yearb.* 30, 66-68.

Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science* 161: 839-851.

Bhuyan, DJ.; Alsherbiny, MA.; Perera, S.; Low, M.; Basu, A.; Devi, OA.; Papoutsis, K. 2019. The Odyssey of Bioactive Compounds in Avocado (*Persea americana*) and Their Health Benefits. *Antioxidants* 2019, 8, 426.

Carvalho, CP., Velásquez, MA. 2015. Fatty acid content of avocados (*Persea americana* Mill. cv. Hass) in relation to orchard altitude and fruit maturity stage. *Agronomía Colombiana* 33(2), 220-227.

Carrillo, CH. 1991. Almacenaje de frutos de palto (*Persea americana* Mill.) cv. Fuerte en atmósfera controlada. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Santiago, Chile. 84p.

Chen, H., Morrell, PL., Ashworth, VET., De La Cruz, M., Clegg, MT., 2009. Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. *J. Hered.* 100, 56-65.

Chernys JT.; Zeevaart, JAD. 2000. Characterization of the 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene family and the regulation of abscisic acid biosynthesis in avocado. *Plant Physiol* 124: 343-53.

Chun, J.; Lee, J.; Ye, I.; Exler, J.; Eitenmiller, R. 2006. Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 196-204.

Chrispeels, MJ.; Holuigue, L.; Latorre, R.; Luan, S.; Orellana, A.; Peña-Cortes, H.; Raikhel, N.; Ronald, P.; Trewavas, A. 1999. Signal transduction networks and the biology of plant cells. *Biological Research* 32(1): 35-60.

Contreras-Gutiérrez, PK.; Hurtado-Fernández, E.; Gomez-Romero, M.; Hormaza, JI.; Carrasco-Pancorbo, A.; Fernández-Gutiérrez, A. 2013. Determination of changes in the metabolic profile of avocado fruits (*Persea americana*) by two CE-MS approaches (targeted and non-targeted). *Electrophoresis*. 34, 2928-2942.

- Corral-Aguayo, RD., Yahia, EM. 2008. Correlation between Some Nutritional Components and the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. *J. Agric. Food Chem.* 56, 10498-10504.
- Cowan, AK.; Wolstenholme, BN. 2016. Avocado. Encyclopedia of Food and Health. *Elsevier*. Pg. 294-300.
- Cowan, AK. 2004. Metabolic control of avocado fruit growth: 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase, active oxygen species and the role of C7 sugars. *S. Afr. J. Bot.* 70:75-82.
- Cox, K.; Mcghie, T.; White, A., Woolf, A. 2004. Skin colour and pigment changes during ripening of “Hass” avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287– 294.
- Crane, JH.; Balerdi, CF.; Maguire, I. 2013. Avocado Growing in the Florida Home Landscape. Horticultural Sciences Department, UF/IFAS Extension CIR1034, pp. 1_12.
- Cukrov, D.; Brizzolara, S.; Tonutti, P. 2019. Physiological and Biochemical Effects of Controlled and Modified Atmospheres. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, 425-441 Woodhead Publishing.
- Cutillas-Iturralde, A.; Zarra, I.; Lorences, E. 1993. Metabolism of cell wall polysaccharides from persimmon fruit. Pectin solubilization during fruit ripening occurs in apparent absence of polygalacturonase activity. *Physiologia Plantarum* 89: 369-375.
- Cutting, JG.; Bower, JP. 1987. Effect of harvest date and abscisic acid on browning potential of avocado fruit. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 10, 130-132.
- Cutting JG, Bower JP, Wolstenholme BN. 1986. Stress, delayed harvest and fruit quality in Fuerte avocado fruit. *S Afr Avocado Grow Assoc Yrb* 9:39-42.
- Da Costa, P.; Ballus, C.; Texeiro-Filho, J.; Teixeira, H. 2010. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. *Food Research International* 43: 1603-1606.

Dreher, ML.; Davenport, AJ., 2013. Hass avocado composition and health effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53, 738-750.

defilippi, B.; Robledo, P.; Ferreyra, R.; Karlezi. 2012. Heterogeneidad en postcosecha de los huertos de palta Hass en Chile. Factores que afectan la postcosecha de la palta. In: Ferreyra, R., Defilippi, B. (Eds.), Factores de pre-cosecha que afectan la post-cosecha de palta 'Hass'. *Clima, suelo y manejo. Boletín INIA N° 248.* , pp. 1-102c

Defilippi, B.; Ferreyra, R.; Rivera S. 2015. Optimización de la calidad de palta 'Hass': herramientas para enfrentar nuevos desafíos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. *Boletín INIA N° 307*, pp. 1-142c

Defilippi, B.; Troy Ejsmentewicz, T.; Covarrubias, MP.; Gudenschwager, O.; Campos-Vargas, R. 2018. Changes in cell wall pectins and their relation to postharvest mesocarp softening of “Hass” avocados (*Persea americana* Mill.). *Plant Physiology and Biochemistry* 128: 142-151.

Dixon, J.; Smith, DB.; Elmsley, TA., Pak HA. 2003. Quality of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit after high humidity storage and/or exogenous ethylene removal, *NZ Avocado Growers' Association Annual Research Report*, 3, 100 - 107.

Donetti, M.; Terry, LA. 2014. Biochemical markers defining growing area and ripening stage of imported avocado fruit cv. Hass. *Journal of Food Composition and Analysis* 34(1): 90-98.

Donetti, M. 2011. Postharvest biochemical and physiological characterisation of imported avocado fruit. PhD Thesis. Cranfield University.

Dos Santos, M.; Alicieo, T.; Pereira, C.; Ramis-Ramos, G.; Mendonc, A.C. 2014. Profile of Bioactive Compounds in Avocado Pulp Oil: Influence of the Drying Processes and Extraction Methods. *J Am Oil Chem Soc* 91:19-27.

Ducheteau, G.; Bauer - Plank; C.; Louter, A.; Van Der Ham, M.; Boerma, J.; Van Rooijen, J.; Zandbelt, P. 2002. Fast and accurate method for total 4- desmethyl sterol(s) content in spreads, fat - blends, and raw materials. *JAOCS*.79 (3): 273-278.

Duester, K. C. 2001. Avocado fruit is a rich source of beta-sitosterol. *J. Am. Diet. Assoc.* 101(4):404-405.

Dunn, WB.; Bailey, N.; Johnson, HE., 2005. Measuring the metabolome: current analytical technologies. *Analyst*. 130, pp. 606-625.

Edreva, A.; Velikova, V.; Tsonev, T.; Oagnon, S.; Gesheva, E., 2008. Stress-protection role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. *Gen. Appl. Plant Physiol.*, 34, 67-78.

Eaks, IL. 1990. Change in the fatty acid composition of avocado fruit during ontogeny, cold storage and ripening. *Acta Hort.* 269:141-152.

Eaks, IL. 1976. Ripening, chilling injury and respiratory response of "Hass" and "Fuerte" avocado fruits at 20°C following chilling. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101: 538 - 540.

Eksteen, GJ.; Truter, AB.; Vorster, LL. 1992. Long-distance controlled atmosphere transport of avocados. In: *Proceedings of Second Avocado Congress 2*: 463-466.

FAO. 2018. Countries by commodity. Retrieved from http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity.

Faubion, DF.; Mitchell, FG.; Mayer, G. 1992. Response of 'Hass' avocado to postharvest storage in controlled atmosphere conditions. *Proceedings of Second World Avocado Congress*, April 21-26 1991, Orange, California, USA, 467-472.

Franciosi, R. 2003. El Palto: producción, cosecha y post-cosecha. Ediciones Cimagraf, Lima, Perú.

Fresh Produce. 2017. Holy Guacamole: Increased EU Avocado Consumption Is No Picnic for Suppliers. Rabobank. Recuperado de: <https://research.rabobank.com/far/en/sectors/regional-food-agri/Increased-EU-Avocado-Consumption.html>. 2017, setiembre.

Ferguson, I.; Volz, R.; Woolf, A. 1999. Preharvest factors affecting physiology disorders of fruit. *Posth. Biol. Technol.* 15(3):255-262.

Ferreya, R.; Sellés, G.; Saavedra, J.; Ortiz, J.; Zúñiga, C.; Troncoso, C.; Rivera, S.A.; González-Aguero, M.; Defilippi, B. 2016. Identification of pre-harvest factors that affect fatty acid profiles of avocado fruit (*Persea americana* Mill) cv. 'Hass' at harvest. *South African Journal of Botany* 104: 15-20.

Ferreya, R.; Defilippi, B.; Sellés, G.; Arpaia, ML. 2012. Factores que afectan la postcosecha de la palta. In: Ferreya, R., Defilippi, B. (Eds.), Factores de pre-cosecha que afectan la post-cosecha de palta 'Hass'. Clima, suelo y manejo. Boletín INIA N° 248, pp. 1-102.

Frankel, EN.; Meyer, AS. 2000. The problems of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants - review. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1925-1941.

Fuentealba, C.; Hernández, I.; Olaeta, J.A.; Defilippi, B.; Meneses, C.; Campos-Vargas, R.; Lurie, S.; Carpentier, S.; Pedreschi, R. 2017. New insights into the heterogeneous ripening in Hass avocado via LC-MS/MS proteomics. *Postharvest Biology and Technology* 132: 51-61.

Gamble, J.; Harker, FR.; Jaeger, SR.; White, A.; Bava, C.; Beresford, M.; Stubbings, B.; Wohlers, M.; Hofman, PJ.; Marques, R.; Woolf, A. 2010. The impact of dry matter, ripeness and internal defects on consumer perceptions of avocado quality and intentions to purchase. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 35-43.

Gandolfo, SP. 2008. Factores ecofisiológicos relacionados con el crecimiento vegetativo, Floración y Desarrollo del fruto de Aguacate. PhD thesis, Universidad Politecnica de Valencia.

García-Alonso, M.; Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, JC. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruit. *Food Chem* 84, 13-18.

Ginsberg, L. 1985. Post harvest physiological problems of avocados. *South African Avocado Growers' Association Yearbook* 8:8-11.

Gomez-Lopez, VM. 2002. Some biochemical properties of polyphenol oxidase from two varieties of avocado. *Food Chem* 77: 163-169.

Gross, J., Gabai, M., Lifshitz, A., 1973. Carotenoids in pulp, peel and leaves of *Persea americana*. *Phytochemistry*. 12, 2259-2263.

Golukcu, M., Ozdemir, F., 2010. Changes in phenolic composition of avocado cultivars during harvesting time. *Chem. Nat. Compd.* 46, 112-115.

Hatoum, D.; Hertog, M.; Geeraerd, A.; Nicola, B. 2016. Effect of browning related pre- and postharvest factors on the 'Braeburn' apple metabolome during CA storage. *Postharvest Biology and Technology*, 111:106-116.

Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Ocio, MJ., Gavara, R. 2006. Effect of calcium dips and chitosan coating on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology Technology*, 39: 247-253.

Hernández, I.; Fuentealba, C.; Olaeta, JA; Poblete-Echeverría.; Defilippi, BG.; González-Agüero, M.; Campos-Vargas, R.; Susan Lurie, S.; Pedreschi, R. 2017. Effects of heat shock and nitrogen shock pre-treatments on ripening heterogeneity of Hass avocados stored in controlled atmosphere. *Scientia Horticulturae* 225, 408-415.

Herrera-González, JA.; Salazar-García, S.; Martínez-Flores, HE.; Ruiz-García, J. 2017. Preliminary signs of physiological maturity and postharvest performance of Méndez avocado fruit. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 40 (1): 55 - 63, 2017.

Hicks, KB; Moreau, R. 2001. Phytosterols and phytostanols: Functional food cholesterol busters. *Food technol*, 55, 23.

Hiwasa-Tanase, K.; Ezura, H. 2014. Climacteric and non-climacteric ripening. In: Nath, P., Bouzayen, M., Mattoo, A.K., Pech, J.C. (Eds.), *Fruit Ripening: Physiology, Signalling and Genomics*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 1-14.

Hofman, P.J.; Jobin-Décor, M.; Giles, J. 2000. Percentage of dry matter and oil content are not reliable indicators of fruit maturity or quality in late-harvested Hass avocado. *HortScience*, 35, 694-695.

Hofman, P.; Fuch, Y.; Milne, D. 2002. Harvesting, packing, postharvest technology, transport and processing. In: Whiley, A., Schaffer, B., Wolstenholme, B. (Eds.), *The avocado: botany, production and uses*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 363-391.

Hounsome, N; Hounsome, B; Tomos, D; Edward-Jones, G. 2008. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal of Food Science* 73(4). 48-65.

Hurtado-Fernández, E.; Fernández-Gutiérrez, A; Carrasco-Pancorbo, A. 2018. Avocado fruit-Persea americana. Exotic Fruits Reference Guide. *Elsevier*. Pages 37-48.

Hurtado-Fernández, E.; González-Fernández, JJ; Hormaza, JI; Aadil. B.; Fernández-Gutiérrez, A; Carrasco-Pancorbo, A. 2016. Targeted LC-MS Approach to Study the Evolution over the Harvesting Season of Six Important Metabolites in Fruits from Different Avocado Cultivars. *Food Anal. Methods. Food analytical methods* 9(12): 3479-3491.

Hurtado-Fernández, E.; Pacchiarotta, T.; Mayboroda, A.; Fernández-Gutiérrez, A. 2014. Quantitative characterization of important metabolites of avocado fruit by gas chromatography coupled to different detectors (APCI-TOF MS and FID). *Food Research International* 62, 801-811.

IDEXCAM. 2014. <https://www.camaralima.org.pe/repositorioaps/0/0/par/estudiopaltas/paltas>. PDF. Consultado el 29/01/2020.

Ishizu, T.; Winarno, H.; Tsujino, E.; Morita, T.; Shibuya, H. 2002. Indonesian medicinal plants. XXIV. Stereochemical structure of perseitol·K⁺ complex isolated from the leaves of *Scurrula fusca* (Loranthaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50, 489-492.

Jesch, ED.; Carr, TP. 2017. Food ingredients that inhibit cholesterol absorption. *Preventive Nutrition and Food Science*, 22(2), 67-80.

Kader, A. 1992. Modified atmospheres during transport and storage. In; Postharvest technology of horticultural crops. USA, University of California. División of Agriculture and Natural Resources. Publication N° 3311. 296 p.

Kader, AA. 1985. Postharvest biology and technology: an overview. En: postharvest technology of horticultural crops. Cooperative Extensión, University of California. División of Agriculture and Natural Resources, USA. 192 p.

Kader, A.; Arpaia, L. 2014. Avocado, recommendations for maintaining postharvest quality. Postharvest Technology Research and Information Center. Disponible en <http://ucanr.edu/sites/postharvest/PFfruits/Avocado>

Kader, A.; Arpaia, L. 2011. Avocado, recommendations for maintaining postharvest quality. Postharvest Technology Research and Information Center. Disponible en <http://ucanr.edu/sites/postharvest/PFfruits/Avocado>.

Kader, A.; Arpaia, L. 2003. Avocado, recommendations for maintaining postharvest quality. Postharvest Technology Research and Information Center. Disponible en <http://ucanr.edu/sites/postharvest/PFfruits/Avocado>.

Kader, AA. 2001. Atmósfera controlada bibliografía (1981-2000) y las recomendaciones Atmósfera controlada (2001). CD ROM. Poscosecha Horticultura Serie N° 22 Postharvest Tecnología Centro de Investigación y Documentación de la Universidad de California, Davis, EE.UU.

Kaiser, C.; Wolstenholme, BN. 1994. Aspects of delayed harvest of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) fruit in cool subtropical climate. I. Fruit lipid and fatty acid accumulation. *Jour Hort Sci.* 69: 437-445.

Kassim, A.; Workneh, TS.; Bezuidenhout, CN. 2013. A review on postharvest handling of avocado fruit. *African J. Agric. Res.* 8, 2385-2402.

Kays, SJ. 1991. Postharvest physiology of Perishable Plant Products. Ed. AVI, USA. Pp 75-95.

Keys, A.; Anderson, JT.; Grande, F. 1957. "Essential" fatty acids, degree of unsaturation and effect of corn (maize) oil on the serum cholesterol level in man. *The Lancet*, 1, 66-68.

Landahl, S.; Terry, LA. 2010. Textural, Biochemical and Micro-Structural Changes in Mesocarp Tissue of Imported Avocado from Peru during Ripening. Proc. 6th International Postharvest Symposium. Eds.: M. Erkan and U. Aksoy. *Acta Hort.* 877, ISHS 2010. Pp. 1063-1070

Landahl, S.; Meyer, MD.; Terry, LA. 2009. Spatial and temporal analysis of textural and biochemical changes of imported avocado cv. Hass during fruit ripening. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 7039-7047.

Larepublica.pe. 2020. <https://larepublica.pe/economia/2020/01/28/palta-hass-de-la-sierra-central-del-peru-podra-exportarse-a-chile-desde-esta-semana/> Consultado el 29/01/2020.

LAW, M. 2000. Plant sterol and stanol margarines and health. *BMJ* volume 320(7238): 861-864.

Ledesma, MD.; Medina M.; Avila J. 1996. The in vitro formation of recombinant tau polymers: effect of phosphorylation and glycation. *Mol Chem Neuropathol.* 27(3):249-58.

Lee, J.; Koo, N.; Min, D. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3(1), 21-33.

Lee, SK.; Young, RE.; Schiffman, PM.; Coggins, CW. 1983. Maturity studies of avocado fruit based on picking dates and dry weight, *J Amer Soc Hort Sci*, 108, 390-394.

Lewis, C., 1978. The maturity of avocados - a general review. *J. Sci. Food Agric.* 29, 857-866.

Littmann, MD. 1972. Effect of water loss on the ripening of climacteric fruits. *Queensland J. Agric. Animal Sci.* 29, 103-113.

Liu, X.; Sievert, J.; Arpaia, ML.; Madore, MA. 2002. Postulated physiological roles of the seven-carbon sugars, mannoheptulose, and perseitol in avocado. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(1), 108-114.

Liu, X.; Robinson, PW.; Madore, MA.; Witney, GW.; Arpaia, ML. 1999. Fluctuaciones de hidratos de carbono de aguacate Hass II. El crecimiento y la maduración de la fruta. *Diario de la Sociedad Americana de Ciencias Hortícolas*, 124, pp. 676-681.

López-Cobo, A.; Gómez-Caravaca, AM.; Pasini, F.; Caboni, MF.; Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. 2016. HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado. *LWT-Food science and Technology*, 73, 505-513.

Lozano, YF.; Dhuique, C.; Bannon, C., Gaydou, EM. 1993. Unsaponifiable matter, total sterol and tocopherol contents of avocado oil varieties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(6), 561-565.

Lu, QY.; Zhang, Y.; Wang, D.; Lee, R.; Gao, K.; Byrns, R.; Heber, D. 2009. California Hass avocado: profiling of carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57 (21), 10408-10413.

Lu, QY.; Arteaga, JR.; Zhang, Q.; Huerta, S.; Go, VL.; Heber, D. 2005. Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: Role of lipid-soluble bioactive substances. *J. Nutr. Biochem.* 16:23-30.

Luza, JG.; Lizana, LA. Masson, L. 1990. Comparative lipids evolution during cold storage of three avocado cultivars. *Acta Horticulturae* 269, Tropical Fruit in International Trade.

- Mahattanatawee, K.; Manthey, J.; Luzio, G.; Talcott, S.; Goodner, K.; Baldwin, E. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7355–7363.
- Mardigan, LP.; Dos Santos, VJ., Da Silva,PT.; Visentainer, JV., Marques, ST. MATSUSHITA, M. 2019. Investigation of bioactive compounds from various avocado varieties (*Persea americana* Miller). *Food Sci. Technol, Campinas*, 39(Suppl. 1): 15-21.
- Martinez, M.; Whitaker, J. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science & Technology*, 6(6), 195–200.
- Martins, E.; Robaldinho, R.; Meneghini, R. 1995. Oxidative stress induced activation of a cytosolic protein responsible for control of iron uptake. *Archives of Biochemistry and Biophysic* 316:128-134.
- Mcguire, RG. 1992. Reporting of objective colour measurements. *HortScience* 27, 1254-1255.
- Megías, Z.; Martínez, C.; Manzano, S.; Barrera, A.; Rosales, R.; Valenzuela, JL., Garrido, D.; Jamilena, M. 2014. Cold-induced ethylene in relation to chilling injury and chilling sensitivity in the non-climacteric fruit of zucchini (*Cucurbita pepo* L.). *LWT - Food Sci. Technol* 57, 194-199.
- Meneghini, R.; Hoffmann, ME.; Duran, N.; Faljoni, A; Cilento, G. 1978. DNA damage during the peroxidase-catalyzed aerobic oxidation of isobutanal. *Biochimica et. Biophysica ACTA*: 518 177-180.
- Merchant, A.; Richter, A.; Popp, M.; Adams, M. 2006. Targeted metabolite profiling provides a functional link among eucalypt taxonomy, physiology and evolution. *Phytochemislrly*, 67, 402-8.
- Meir, S.; Akerman, M.; Fuchs, Y.; Zauberman, G., 1995. Further studies on the controlled atmosphere storage of avocados. *Postharvest Biol. Technol.* 5 (4), 323-330.

Meyer, MD; Chope, GA; Terry, LA. 2017. Investigation into the role of endogenous abscisic acid during ripening of imported avocado cv. Hass. *Journal of the science of food and agriculture* 97(11): 3656-3664.

Meyer, MD.; Terry, LA. 2010. Fatty acid and sugar composition of avocado cv. Hass in response to treatment with an ethylene scavenger or 1-methylcyclopropene to extend storage life. *Food Chemistry*. 121: 1203-1210.

Meyer, MD.; Terry, LA. 2008. Development of a rapid method for the sequential extraction and subsequent quantification of fatty acids and sugars from avocado mesocarp tissue. *J Agric Food Chem.*, 56: 7439-7445.

Metzidakis, J.; Sfakiotakis, EM. 1993 Inhibition of Ethylene Biosynthesis and Suppression of Cellulase and Polygalacturonase in Avocado Fruit Dubjectes to low Oxygen Storage, In: Pech, J.P.; A. Latche and C. Balague (Eds). *Cellular and Molecular Aspects of the Plant Hormone Ethylene*, pp: 129-135.

Michotte, D., 2009. Etude de la stabilité oxydative de l'huile de lin en présence de composés phénoliques naturels. Mémoire Bioingénieur en Agronomie, orientation Sciences, Technologie et Qualité des Aliments. Université Catholique de Louvain. 50p.

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2019. La Situación del Mercado Internacional de la Palta. Consultado el 20 Oct. 2019. Disponible en www.minagri.gob.pe.

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2015. “La Palta Peruana, Producto Estrella de Exportación”. Consultado el 07 Nov. 2016. Disponible en <http://minagri.gob.pe/portal/analisis-economico/analisis-15?download=6825:informe-palta-peruana>.

Mizrach, A, Flitsanov, U. 1999. Nondestructive ultrasonic determination of avocado softening process. *J. Food Eng.* 40(3):139-144.

Moore-Gordon, CS.; Cowan AK.; Bertling I.; Botha CEJ.; Cross, RHM. 1998. Sympatic solute transport and avocado fruit development: A decline cytokinin/ABA ratio is related to appearance of the ‘Hass’ small fruit variant, *Plant Cell Physiol*, 39 (10), 1,027-1,038. JSPP.

Mooz, ED.; Gaino, NM.; Shimano, MYH.; Amancio, RD.; Spoto, MHF. 2012. Physical and chemical characterization of the pulp of different varieties of avocado targeting oil extraction potential. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 32(2): 274-280.

Moretti, CL.; Mattos, LM.; Calbo, AG.; Sargent, SA. 2010. Climate changes and potential impacts on postharvest quality of fruit and vegetable crops: a review. *Food Res. Int.* 43, 1824-1832.

Obenland, D.; Collin, S.; Sievert, J.; Negm, F.; ARPAIA, M.L. 2012. Influence of maturity and ripening on aroma volatiles and flavor in 'Hass' avocado. *Postharvest Biology and Technology*, 71, 41-50.

Oberland, D.; Carrol, T. 2000. Mealiness and Pectolytic in Peaches and Nectarines in Response to Heat Treatment and Cold Storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125 (6): 723-728.

O'donoghue, EM.; Huber, DJ., Timpa, JD.; Erdos, GW.; BRECHT, JK. (1994). Influence of avocado (*Persea americana*) Cx-cellulase on the structural features of avocado cellulose. *Planta*, 194, 573-584.

Omar, AF.; Atan, H., Matjafri, MZ. 2012. NIR Spectroscopic properties of aqueous acids solutions. *Molecules* 17: 7440-7450.

Ortiz Moreno, A.; DORANTES, L.; GALIÄNDEZ, J.; GUZMAN, RI. 2003. Effect of Different Extraction Methods on Fatty Acids, Volatile Compounds, and Physical and Chemical Properties of Avocado (*Persea americana* Mill.) Oil. *J. Agric. Food Chem*, 51, 2216-2221.

Osuna-García, JA.; Doyon, G.; Salazar-Garcia, S.; Goenaga, R.; Gonzalz-Duran, IJL. 2010. Effect of harvest date and ripening degree on quality and shelf life of Hass avocado in Mexico. *Fruits* 65(6):367-375.

Özdemir, AE.; Çandır, EE.; Toplu, C.; Kaplankiran, M.; Demirkeseer, T.H.; YILDIZ, E. 2009. The effects of physical and chemical changes on the optimum harvest maturity in some avocado cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 8, 1878-1886.

Ozdemir, F.; Topuz, A. 2004. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chem.* 86: 79-83.

Paull, R.E., Duarte, O. 2010. Avocado. In: Paull, R.E., Duarte, O. (Eds.), *Tropical Fruits (Crop Production Science in Horticulture)*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 153-184.

Pedreschi, R.; Uarrota, V.; Fuentealba, C.; Alvaro, J.E.; Olmedo, P.; Defilippi, B.G.; Meneses, C.; Campos-Vargas, R. 2019. Primary Metabolism in Avocado Fruit. *Frontiers in Plant Science*. Review. Volume 10 | Article 795.

Pedreschi, R.; Hollaka, S.; Harkema, H.; Otma, E.; Robledo, P.; Westra, E.; Somhorst, D.; Ferreyra, R.; Defilippi, B.G. 2016. Impact of postharvest ripening strategies on 'Hass' avocado fatty acid profiles. *South African Journal of Botany* 103 (2016) 32-35.

Pedreschi, R.; Muñoz, P.; Robledo, P.; Becerra, C.; Van Eekelen, H.; Mumm, R.; Westra, E.; De Vos, R. 2014. Metabolomics analysis of postharvest ripening heterogeneity of 'Hass' avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 92:172-179.

Pesis, E.; Fuchs, Y.; Zauberman, G. 1978. Cellulase activity and fruit softening in avocado. *Plant Physiology*, 61(3), 416.

Piironen, V.; Toivo, J.; Puupponen-Pimia, R.; Lampi, A.M. 2003. Plant sterols in vegetables, fruits and berries. *J. Sci. Food Agric.* 83, 330-337.

Piironen, V.; Syvaöja, E.L.; Varo, P., Salminen, K.; Koivistoinen, P. 1986. Tocopherols and tocotrienols in Finnish foods: vegetables, fruits, and berries. *J. Agric. Food Chem.*, 34 (4), pp 742-746.

Platt-Aloia, K.A.; Thomson, W.W. 1981. Ultrastructure of the mesocarp of mature avocado fruit and changes associated with ripening. *Annals of Botany*, 48 (4), 451-465.

Plaza, L.; Sánchez-Moreno, C.; Pascual-Teresa, S.; De Ancos, B.; Cano, P. 2009. Fatty Acids, Sterols, and Antioxidant Activity in Minimally Processed Avocados during refrigerated Storage. *J. Agric. Food Chem.* 57, 3204-3209.

Popp, M.; Smirnoff, N. 1995. Polyol accumulation and metabolism during water deficit. In: Smirnoff N ed. Environment and plant metabolism. *BIOS Scientific Publishers*. Pp. 199-216.

Prasanna, V.; Prabha, TN.; Tharanathan, RN. 2007. Fruit ripening phenomena: an overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 47, 1-19.

ProHass (Asociación de Productores de Palta Hass del Perú). 2018. Revista de la asociación de productores de palta Hass del Perú, N° 14.

Pryor, WA. 2000. Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radic. Biol. Med.*, 28, 141-164.

Purev, M.; Kim, MK.; Samdan, N.; Yang, DC. 2008. Isolation of a novel fructose-1,6-bisphosphate aldolase gene from *Codonopsis lanceolata* and analysis of the response of this gene to abiotic stresses. *Mol. Biol.* 42: 206-213.

Richings, E.; Cripps, R.; Cowan, A. 2000. Factors affecting 'Hass' avocado fruit size: carbohydrate, abscisic acid and isoprenoid metabolism in normal and phenotypically small fruit. *Physiologia Plantarum*, 109, 81-89.

Rise, M.; Cojocar, M.; Gottlieb, HE.; Goldschmidt, EE. 1989. Accumulation of alpha-tocopherol in senescing organs as related to chlorophyll degradation. *Plant Physiology* 89 (4), 1028-1030.

Rodríguez-Carpena, JG.; Morcuende, D.; Andrade, MJ.; Petri, K.; Estévez, M. 2011. Avocado (*Persea americana* mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *J. Agric. Food Chem.* 59, 5625-5635.

Salas, J.J.; Sanchez, J.; Ramli, U.S.; Manaf, A.M.; Williams, M.; Harwood, J.L. 2000. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progress in Lipid Research*, 39, 151-180.

Saldeen, A.K.; Saldeen, T. 2005. Importance of tocopherols beyond α -tocopherol: evidence from animal and human studies. *Nutrition Research* 25: 877-889.

Schmid, K.M.; Ohlrogge, J.B. 2002. Lipid metabolism in plants. In: Vance, D.E., Vance, J.E. (Eds.), *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Elsevier Science, USA, pp. 93-126.

Seymour, G.B.; Tucker, G.A. 1993. Avocado. In: *Biochemistry of Fruit Ripening*, edited by Seymour, G.B., Taylor, J.E., Tucker, G.A. Ed. Chapter VIII, 53-81.

Shivashankara, K.S.; Isobe, S.; Al-Haq, M.I.; Takenaka, M.; Shiina, T. 2004. Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin, and carotene of Irwin mango fruits stored at low temperature after high electric field pretreatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(5): 1281-1286.

Singh, R.K.; Ali, S.A.; Nath, P.; Sane, V.A. 2011. Activation of ethylene-responsive p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase leads to increased tocopherol levels during ripening in mango. *Journal of Experimental Botany* 62 (10), 3375-3385.

Singleton, L.; Rossi A. 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.

Smirnoff, N.; Wheeler, G.L. 2000. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. Critical reviews in *Plant Sciences* 19(4): 267-290.

Tan, C.X. 2019. Virgin avocado oil: An emerging source of functional fruit oil. *Journal of Functional Foods*, 54, 381-392.

Tesfay, S.Z.; Bertling, I.; Bower, J.P. 2012. D-mannoheptulose and perseitol in 'Hass' avocado: Metabolism in seed and mesocarp tissue. *South African Journal of Botany* 79 (2012) 159-165.

Tesfay, SZ.; Bertling, I.; Bower, JP. 2010. Anti-oxidant levels in various tissues during the maturation of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(2), pp. 106-112.

Tesfay, SZ. 2009. Special carbohydrates of avocado - their function as "sources of energy" and "antioxidants". PhD Thesis, University of KwaZulu-Natal, South Africa.

Thompson, AK. 1998. Controlled Atmosphere Storage of Fruits and Vegetables. CAB International.

Thorp, TG.; Hutching, D.; Lowe, T.; Marsh, KB. 1997. Survey of fruit mineral concentrations and postharvest quality of New Zealand-grown 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *New Zealand J. Crop Hortic.* 25, 251-260.

Toivonen, PMA. 2016. Postharvest physiology of fruits and vegetables. In: Pareek, S. (Ed.), Postharvest Ripening Physiology of Crops. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 49-80.

Tucker, ML.; Laties GG. 1984. Interrelationship of Gene Expression, Polysome Prevalence, and Respiration during Ripening of Ethylene and/or Cyanide-Treated Avocado Fruit. *Plant Physiol.* Feb; 74(2): 307-15.

USDA (United States Department of Agriculture). 2014. Nutrient Data Laboratory, Food and Nutrition Information Center (FNIC) and Information Systems Division of the National Agricultural Library. USDA national nutrient database for standard reference. Available from <http://ndb.nal.usda.gov/>

Vieira, G.; Viégas, PA. 1994. Fisiología e manejo pós-colheita do abacate. Informe Agropecuário, v. 17, n. 179.

Villa-Rodríguez, JA.; Molina-Corral, FJ.; Ayala-Zavala, JF.; Olivas, GI.; González-Aguilar, GA. 2011. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. *Food Research International* 44: 1231-1237.

Villa-Rodríguez, JA.; Yahia, EM.; González-León, A.; Ifie, I.; Robles-Zepeda, RE.; Domínguez-Avila, JA.; González-Aguilar, GA. 2020. Ripening of “Hass” avocado mesocarp alters its phytochemical profile and the in vitro cytotoxic activity of its methanolic extracts. *South African Journal of Botany*, 128, 1-8.

Wang, M.; Yusheng, Z.; Toan, K.; Lovatt, CJ. 2012. Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in ‘Hass’ avocado during storage. *Food chemistry* 135 (2), pp. 694-698.

Wang, M.; Yusheng, Z.; Toan, K.; Lovatt, C. 2016. Developmental differences in antioxidant compounds and systems in normal and small-phenotype fruit of “Hass” avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia Horticulturae*. 206, pp. 15-23.

Werman, MJ.; Neeman, T. 1987. Avocado oil production and chemical characteristics. *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 64, 232-279.

whiley, AW. 2002. Crop management. In: Whiley, A.W., Schaffer, B., Wolstenholme, B.N. (Eds.), *The Avocado: Botany, Production and Uses*. *CABI Publishing, Wallingford*, pp. 231-258.

Williams, LO. 1977. The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subgen. *Persea*. *Economic Botany* 31: 315-320.

Wolf, A.; Wong, M.; Eyres, L.; Mcghe, T.; Lund, C.; Olsson, S. 2008. Avocado oil. In R. A. Moreau & A. Kamal-Eldin (Eds.), *Gourmet and health-promoting specialty oils* (pp. 73-125). Urbana: AOCs Monograph Series on Oil seeds.

Wolf, A.; Requejo-Tapia, C.; Cox, KA.; Jackman, RC.; Gunsona, A.; Arpaia, ML.; White, A. 2005. 1-MCP reduces physiological storage disorders of ‘Hass’ avocados *Postharvest Biology and Technology* 35, 43-60.

Wolf, AB.; Cox, KA.; White, A.; Ferguson, IB. 2003. Low temperature conditioning treatments reduce external chilling injury of ‘Hass’ avocados. *Posth. Biol. Technol.* 28(1):113-122.

Wong, M.; Requejo-Jackman, C.; Woolf, A. 2010. What is unrefined, extra virgin coldpressed avocado oil? Retrieved from <https://www.aocs.org/stay-informed/readinform/featured-articles/what-is-unrefined-extra-virgin-cold-pressed-avocado-oil-april>.

Wu, CT.; Roan, SF.; Hsiung, TC.; Chen, IZ.; Shyr, JJ.; Wakana, A. 2011. Effect of harvest maturity and heat pretreatment on the quality of low temperature storage avocados in Taiwan. *J Facul. Agric. Kyus. Univ.* 56(2):255-262.

Wu, X.; Beecher, GR.; Holden, JM.; Haytowitz, DB.; Prior, RL. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacity of common foods in the U.S. *J. Agric. Food Chem.* 52:4026-4037.

Yahia, EM. 2012. Avocado. *Crop Post-Harvest: Science and Technology*, First Edition. Edited by Debbie Rees, Graham Farrell and John Orchard. Páginas 159-186.

Yahia, EM.; Woolf, AB. 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.). In: Yahia, E. (ed.). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: açai to citrus*. Vol. 2. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. pp. 125-185.

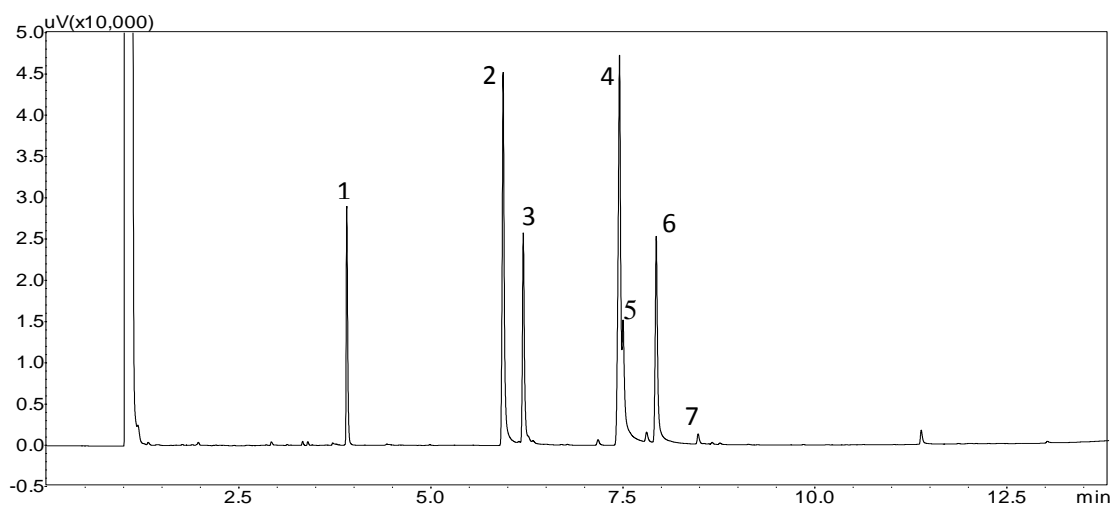
Yahia, EM. 2010. The contribution of fruits and vegetables consumption to human health. In L. A. de la Rosa, E. Alvarez-Parilla, & G. Gonzalez-Aguilar (Eds.), *Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, nutritional and stability* (pp. 3-52). Iowa: Wiley-Blackwell.

Zimmermann MH.; Ziegler H. 1975. List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. In: Zimmermann MH, Milburn JA, eds. *Transport in plants. I. Phloem transport*. Encyclopedia of Plant Physiology. Berlin: *Springer-Verlag*, 480-503.

Zhang, Z.; Huber, DJ.; RAO, J. 2013. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology* 76 (2013) 58-64.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Cromatograma GC de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) de aceite de palta 'Hass'. Los picos en el orden de tiempo de retención ascendente fueron los siguientes: 1: ácido undecanoico (estándar interno), 2: ácido palmítico, 3: ácido palmitoleico, 4: ácido oleico, 5: ácido iso-oleico, 6: ácido linoleico, y 7: ácido α -linolénico.



ANEXO 2: Resultados de la tasa de respiración (mg CO₂/kg*h) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos a temperatura ambiente (18 - 20 °C) al inicio (día 0) y final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR).

Cosecha: Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			p-valor
		15AC	30AC	50AC	
Primera (Cañete)	87,76±27,35 ^{aa}	85,99±16,82 ^{aa}	92,55±33,00 ^{aa}	104,38±10,06 ^{ab}	0,830
Segunda (Cañete)	94,2±7,82 ^{ba}	83,78±6,47 ^{ba}	99,83±5,55 ^{ba}	135,47±22,43 ^{aa}	0,000
p-valor	0,109	0,769	0,872	0,003	
Tercera (La Molina)	89,14±13,26 ^b	88,09±7,96 ^b	137,43±22,46 ^a	91,77±14,40 ^b	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 3: Resultados de pérdida de peso (%) de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Cosecha: Tiempo y Lugar	Días en AC+refrigeración			Maduradas en Anaquel			p-valor
	15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
Primera (Cañete)	0,73±0,08 ^{cb}	1,39±0,29 ^{ca}	2,42±0,30 ^{ca}	14,39±2,02 ^{aA}	13,74±1,76 ^{aA}	9,35±1,99 ^{ba}	0,000
Segunda (Cañete)	1,28±0,31 ^{ca}	1,57±0,16 ^{ca}	1,84±0,17 ^{cb}	8,95±0,79 ^{ab}	8,45±2,05 ^{ab}	6,37±1,15 ^{bb}	0,000
p-valor	0,001	0,210	0,001	0,000	0,000	0,000	
Tercera (La Molina)	1,52±0,21 ^c	1,70±0,29 ^c	3,21±2,37 ^c	8,11±1,33 ^b	9,81±1,42 ^a	9,47±4,39 ^{ab}	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración en la cosecha y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 4: Resultados de los parámetros de color (Luminosidad L*; Cromo C* y Ángulo Hue h°) en la cáscara de palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Para- metro	Cosecha: Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeracion			Maduradas en anaquel			p- valor
			15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
L*	Primera (Cañete)	36,73±0,39 ^{aA}	36,11±1,26 ^{aA}	37,07±2,71 ^{aA}	34,75±1,05 ^{aA}	28,29±1,53 ^{bA}	28,21±1,29 ^{bA}	27,57±1,23 ^{bA}	0
	Segunda (Cañete)	32,67±1,91 ^{bB}	36,67±1,30 ^{aA}	35,56±1,94 ^{aA}	35,84±0,92 ^{aA}	27,63±1,73 ^{cA}	27,03±0,93 ^{cA}	28,37±0,48 ^{cA}	0
	p-valor	0,003	0,471	0,290	0,000	0,685	0,013	0,170	
	Tercera (La Molina)	30,85±1,25 ^b	30,81±1,24 ^b	31,87±1,41 ^{ab}	32,9±1,24 ^a	27,72±1,24 ^{cdA}	28,76±1,17 ^c	26,80±1,29 ^d	0
C*	Primera (Cañete)	21,66±0,76 ^{aA}	19,55±2,35 ^{aA}	21,71±4,08 ^{aA}	19,75±1,57 ^{aB}	9,25±1,503 ^{bA}	7,85±1,35 ^{bA}	8,13±1,49 ^{bA}	0
	Segunda (Cañete)	21,06±2,93 ^{bA}	21,99±1,31 ^{abA}	25,20±2,55 ^{aA}	21,88±1,64 ^{abA}	8,83±1,33 ^{cA}	8,20±2,02 ^{cA}	9,73±2,54 ^{cA}	0
	p-valor	0,000	0,050	0,000	0,044	0,000	0,356	0,001	
	Tercera (La Molina)	13,61±2,32 ^{ab}	12,09±1,06 ^b	13,66±1,15 ^{ab}	14,33±1,21 ^a	5,45±0,62 ^c	7,12±1,19 ^c	5,57±0,51 ^c	0
h°	Primera (Cañete)	126,24±0,50 ^{aA}	126,50±1,08 ^{aA}	125,11±1,77 ^{aA}	125,35±1,93 ^{aA}	60,58±10,37 ^{bA}	47,73±8,57 ^{bcA}	46,70±13,61 ^{cA}	0
	Segunda (Cañete)	121,24±2,64 ^{ab}	124,86±0,67 ^{aA}	123,55±1,48 ^{aA}	124,69±1,12 ^{aA}	42,92±11,96 ^{bB}	38,43±7,68 ^{bA}	34,49±5,98 ^{bA}	0
	p-valor	0,001	0,000	0,000	0,002	0,021	0,000	0,071	
	Tercera (La Molina)	123,33±1,49 ^a	121,71±2,77 ^a	123,41±1,74 ^a	122,43±1,31 ^a	86,88±5,02 ^c	95,787±6,80 ^b	83,91±3,50 ^c	0

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 5: Resultados del contenido de materia seca (%) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Cosecha Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+ refrigeración			Maduradas en anaquel			p- valor
		15AC	30AC	50AC	15AC+Anaqu	30AC+Anaquel	50AC+Anaqu	
Primera (Cañete)	20,08±0,77 ^{ab}	22,24±2,18 ^{aA}	22,15±1,22 ^{ab}	22,23±1,00 ^{ab}	21,49±1,06 ^{ab}	22,42±3,14 ^{aA}	21,01±2,09 ^{aA}	0,190
Segunda (Cañete)	22,38±1,40 ^{aA}	23,89±1,09 ^{aA}	24,13±1,22 ^{aA}	23,62±0,64 ^{aA}	24,20±1,06 ^{aA}	22,88±1,59 ^{aA}	22,93±1,79 ^{aA}	0,173
p-valor	0,005	0,126	0,018	0,016	0,001	0,755	0,126	
Tercera (La Molina)	31,10±0,96 ^{ab}	28,90±1,79 ^b	32,07±2,70 ^a	30,40±2,03 ^{ab}	31,38±2,70 ^{ab}	30,21±2,02 ^{ab}	28,30±1,26 ^b	0,005

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 6: Resultados del contenido de aceite (%) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Cosecha Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			p- valor
		15AC	30AC	50AC	15AC+Anaqu	30AC+Anaquel	50AC+Anaqu	
Primera (Cañete)	10,47±0,97 ^{Ab}	11,69±1,93 ^{ab}	12,14±1,20 ^{ab}	11,94±1,06 ^{ab}	12,9±0,58 ^{ab}	13,20±2,03 ^{aA}	12,24±2,21 ^{aA}	0,058
Segunda (Cañete)	13,09±1,70 ^{aA}	13,82±1,02 ^{aA}	14,47±0,96 ^{aA}	14,57±0,73 ^{aA}	14,81±1,02 ^{aA}	14,87±1,58 ^{aA}	14,45±1,44 ^{aAA}	0,159
p-valor	0,008	0,038	0,000	0,011	0,000	0,143	0,066	
Tercera (La Molina)	19,15±0,66 ^{abc}	18,26±1,08 ^{bc}	19,61±1,52 ^{abc}	19,55±0,77 ^{abc}	20,26±1,69 ^a	19,89±1,49 ^{ab}	17,37±2,16 ^c	0,001

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 7: Resultados de la actividad PME (μeq éster hidrolizado/ $\text{g}\cdot\text{min}$ bs) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O_2 y CO_2 , 7°C , 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel ($20 \pm 2^\circ\text{C}$, 60-70 por ciento HR).

Cosecha: Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			p-valor
		15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
Primera (Cañete)	8,31 \pm 0,61 ^{abA}	9,50 \pm 0,79 ^{aA}	7,37 \pm 1,13 ^{bcA}	6,30 \pm 1,6 ^{cA}	2,29 \pm 0,35 ^{dA}	1,93 \pm 0,04 ^{dA}	2,66 \pm 0,49 ^{dA}	0,000
Segunda (Cañete)	6,55 \pm 0,59 ^{aB}	7,02 \pm 0,73 ^{aB}	7,29 \pm 1,40 ^{aA}	6,90 \pm 0,56 ^{aA}	1,94 \pm 0,30 ^{bA}	2,40 \pm 0,36 ^{bA}	1,8 \pm 0,44 ^{bB}	0,000
p-valor	0,000	0,002	0,097	0,188	0,118	0,040	0,037	
Tercera (La Molina)	7,84 \pm 0,95 ^b	10,65 \pm 0,79 ^a	8,47 \pm 0,99 ^b	8,17 \pm 2,03 ^b	2,2 \pm 0,23 ^c	2,34 \pm 0,26 ^c	2,65 \pm 0,54 ^c	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes \pm desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 8: Resultados de la actividad PG (U (μmol Acido Galacturónico)/ $\text{g}\cdot\text{min}$ bs) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O_2 y CO_2 , 7°C , 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel ($20 \pm 2^\circ\text{C}$, 60-70 por ciento HR).

Cosecha: Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			p-valor
		15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
Primera (Cañete)	3,86 \pm 1,89 ^{cA}	3,29 \pm 0,52 ^{cB}	5,19 \pm 2,19 ^{cA}	6,93 \pm 1,19 ^{cA}	25,87 \pm 3,75 ^{bA}	22,53 \pm 4,21 ^{bB}	33,50 \pm 5,21 ^{aA}	0,000
Segunda (Cañete)	4,88 \pm 1,34 ^{cA}	5,36 \pm 1,01 ^{cA}	5,13 \pm 0,89 ^{cA}	6,47 \pm 0,99 ^{cA}	28,41 \pm 5,02 ^{bA}	32,51 \pm 5,70 ^{abA}	38,00 \pm 6,01 ^{aA}	0,000
p-valor	0,096	0,001	0,417	0,149	0,345	0,000	0,195	
Tercera (La Molina)	5,62 \pm 0,77 ^c	6,02 \pm 0,50 ^c	4,58 \pm 0,49 ^c	5,90 \pm 1,15 ^c	21,61 \pm 0,26 ^a	16,77 \pm 2,44 ^b	24,05 \pm 4,44 ^a	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes \pm desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 9: Resultados del contenido de azúcares en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Azúcares (mg/g bs)	Cosecha: Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			p- valor
			15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
Manohep tulosa	Primera (Cañete)	87,4±15,89 ^{aA}	59,42±24,98 ^{bcA}	66,61±18,72 ^{abA}	37,84±1,16 ^{cA}	1,03±0,20 ^{dA}	1,09±0,37 ^{dA}	9,33±6,03 ^{dA}	0,000
	Segunda (Cañete)	54,08±18,70 ^{aB}	35,43±9,19 ^{aB}	34,47±10,02 ^{abB}	23,50±2,08 ^{abA}	0,96±0,16 ^{bA}	1,52±0,13 ^{bA}	3,24±1,74 ^{bA}	0,059
	p-valor	0,004	0,009	0,005	0,004	0,000	0,228	0,010	
	Tercera (La Molina)	5,30±0,66 ^a	4,31±1,93 ^a	2,11±0,86 ^{bc}	2,35±1,10 ^b	0,32±0,08 ^c	0,88±0,50 ^{bc}	0,33±0,07 ^c	0,005
Sacarosa	Primera (Cañete)	2,26±0,69 ^{bcA}	2,24±1,01 ^{bcB}	5,12±1,13 ^{abB}	6,13±1,23 ^{aB}	2,10±1,37 ^{cA}	1,84±0,68 ^{cB}	7,03 ±3,00 ^{aA}	0,000
	Segunda (Cañete)	3,59±0,42 ^{aA}	6,02 ±2,11 ^{aA}	11,58±0,65 ^{aA}	9,93±0,51 ^{aA}	4,29±1,11 ^{aA}	9,68±5,46 ^{aA}	7,57±1,37 ^{aA}	0,117
	p-valor	0,094	0,013	0,000	0,000	0,091	0,043	0,108	
	Tercera (La Molina)	0,45±0,27 ^a	0,54 ±0,46 ^a	0,64±0,32 ^a	2,18±1,81 ^a	1,36±0,49 ^a	2,74±0,1,73 ^a	1,99 ±1,42 ^a	0,051
Glucosa	Primera (Cañete)	2,34±0,58 ^b	2,36±0,43 ^{bcA}	1,30±0,43 ^{cdA}	4,93±0,94 ^{aA}	0,62±0,39 ^{dA}	2,15±0,59 ^{bc}	0,55±0,34 ^d	0,000
	Segunda (Cañete)	ND	0,58 ±0,34 ^{ab}	1,06±1,04 ^{aA}	2,58±0,81 ^{aB}	0,28±0,04 ^{aA}	ND	ND	0,111
	p-valor	0,024	0,001	0,503	0,022	0,024	0,630	0,003	
	Tercera (La Molina)	3,78±0,73 ^a	2,61±0,51 ^{ab}	1,78±0,90 ^b	3,83 ±0,90 ^a	1,48±0,66 ^b	2,03±0,88 ^b	1,69±0,63 ^b	0,000
Fructosa	Primera (Cañete)	3,37±0,83 ^{abA}	2,72±0,30 ^{bcA}	1,84±0,44 ^{cdA}	3,98±0,16 ^{aA}	1,17±0,30 ^{dA}	1,38±0,16 ^d	0,87±0,20 ^d	0,000
	Segunda (Cañete)	1,06±0,46 ^{aB}	0,92±0,14 ^{aB}	1,37±0,40 ^{aA}	1,15 ±0,09 ^{aB}	0,88±0,12 ^{aA}	ND	ND	0,372
	p-valor	0,006	0,000	0,327	0,000	0,568	0,024	0,124	
	Tercera (La Molina)	2,59±0,60 ^a	1,86±0,39 ^{ab}	1,39±0,52 ^b	2,59±0,41 ^a	1,17±0,41 ^b	1,67±0,31 ^b	1,13±0,31 ^b	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 10: Resultados del contenido de azúcar alcohol: Perseitol en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Cosecha: Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			P- valor	
		15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel		
Perseitol (mg/g bs)	Primera (Cañete)	32,62±7,06 ^{aA}	23,35 ±4,07 ^{bA}	26,99±8,28 ^{abA}	11,57±1,73 ^{cA}	0,16±0,05 ^{dA}	0,41±0,01 ^{dA}	6,22±2,73 ^{cdA}	0,000
	Segunda (Cañete)	22,03±6,57 ^{aA}	19,68±4,67 ^{abA}	20,20±6,73 ^{aA}	9,06±0,71 ^{abA}	0,43±0,21 ^{bA}	3,46±3,44 ^{abB}	4,45 ±0,21 ^{abA}	0,065
	p-valor	0,112	0,334	0,230	0,130	0,064	0,095	0,550	
	Tercera (La Molina)	16,12±2,24 ^{bc}	20,24±3,05 ^{ab}	21,20±2,29 ^a	12,94±2,68 ^c	2,39±0,69 ^d	5,45±3,33 ^d	5,09±1,88 ^d	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 11: Resultados del contenido de los principales ácidos orgánicos en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Ac.Orgán (mg/g bs)	Cosecha: Tiempo y Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			P- valor
			15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
Málico	Primera (Cañete)	7,43±0,97 ^{aA}	7,59±1,22 ^{aA}	8,70±1,20 ^{aA}	7,90±0,72 ^{aA}	7,61±0,66 ^{aA}	7,90±1,50 ^{aA}	8,98±0,94 ^{aA}	0,117
	Segunda (Cañete)	6,88±0,02 ^{bA}	7,36±0,74 ^{abA}	7,62±0,29 ^{abA}	7,92±0,17 ^{abA}	6,54±0,19 ^{bA}	9,19±0,61 ^{aA}	8,79±0,19 ^{aA}	0,079
	p-valor	0,000	0,000	0,000	0,008	0,000	0,006	0,006	
	Tercera (La Molina)	4,31 ±0,41 ^{ab}	4,28±0,46 ^{ab}	3,95±0,128 ^{ab}	4,77±0,63 ^a	3,03±0,72 ^b	4,33±0,44 ^{ab}	3,13±0,75 ^b	0,001
Quínico	Primera (Cañete)	2,14±0,61 ^{abA}	1,03 ±0,51 ^{bA}	2,05±0,61 ^{abA}	1,78 ±0,35 ^{abA}	2,89±0,89 ^{aA}	2,68±0,86 ^{aA}	2,27±0,71 ^{abA}	0,002
	Segunda (Cañete)	0,68±0,02 ^{ab}	0,94±0,51 ^{aA}	1,24±0,08 ^{aA}	1,29±0,04 ^{aA}	0,92±0,24 ^{ab}	1,54±0,30 ^{aA}	1,51±0,49 ^{aA}	0,198
	p-valor	0,004	0,102	0,129	0,104	0,001	0,128	0,223	
	Tercera (La Molina)	0,07 ±0,05 ^b	0,24±0,18 ^b	ND	ND	0,10±0,07 ^b	0,65±0,22 ^a	0,12±0,04 ^b	0,007

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda. ND = No detectado.

ANEXO 12: Resultados del perfil y contenido de los ácidos grasos (en % de participación en el contenido total de ésteres metílicos de ácidos grasos - FAMES) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Ác. Grasos	Cosecha: Tiempo y Lugar	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			P-valor	
		Día 0	15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel		50AC+Anaquel
Palmítico	Primera (Cañete)	29,31±0,94 ^{aA}	28,60±0,95 ^{abA}	29,51±1,91 ^{aA}	29,30±1,16 ^{aA}	28,68±1,07 ^{abA}	28,32±0,81 ^{abA}	26,50±2,22 ^{bA}	0,014
	Segunda (Cañete)	28,60±0,77 ^{aA}	28,41±1,33 ^{aA}	29,15±2,22 ^{aA}	28,66±0,69 ^{aA}	28,45±1,55 ^{aA}	27,36±2,26 ^{aA}	26,93±3,25 ^{aA}	0,438
	p-valor	0,000	0,001	0,019	0,002	0,003	0,227	0,691	
Palmito- leico	Primera (Cañete)	14,38±0,65 ^{aA}	14,97±1,84 ^{aA}	15,23±1,09 ^{aA}	15,80±0,72 ^{aA}	14,86±0,66 ^{ab}	14,07±1,06 ^{aA}	14,74±2,13 ^{aA}	0,396
	Segunda (Cañete)	15,34±1,09 ^{aA}	15,35±0,83 ^{aA}	15,24±1,19 ^{aA}	15,94±1,05 ^{aA}	16,06±0,50 ^{aA}	14,53±0,96 ^{aA}	15,09±2,41 ^{aA}	0,452
	p-valor	0,000	0,001	0,000	0,002	0,002	0,826	0,152	
Oleico	Primera (Cañete)	33,84±1,35 ^{aA}	34,00±2,13 ^{aA}	33,01±1,24 ^{aA}	31,54±1,36 ^{aA}	34,21±1,51 ^{aA}	35,14±1,17 ^{aA}	35,32±4,22 ^{aA}	0,071
	Segunda (Cañete)	33,59±2,00 ^{aA}	34,17±1,47 ^{aA}	35,25±2,82 ^{aA}	33,51±1,41 ^{aA}	33,73±0,74 ^{aA}	36,17±1,67 ^{aA}	34,49±4,71 ^{aA}	0,456
	p-valor	0,802	0,004	0,105	0,064	0,000	0,001	0,162	
Iso- Oleico	Primera (Cañete)	6,07±0,37 ^{ab}	6,40 ±0,59 ^{aA}	6,54±0,61 ^{aA}	6,33±0,47 ^{aA}	6,38±0,29 ^{aA}	6,23±0,25 ^{aA}	6,66±0,43 ^{aA}	0,428
	Segunda (Cañete)	6,66±0,26 ^{aA}	6,90 ±0,48 ^{aA}	6,15±1,65 ^{aA}	6,29±0,43 ^{aA}	6,88±0,56 ^{aA}	6,59±0,86 ^{aA}	6,71±0,48 ^{aA}	0,616
	p-valor	0,013	0,002	0,000	0,006	0,001	0,003	0,001	
Linoleico	Primera (Cañete)	15,62±1,29 ^{aA}	15,32±0,87 ^{aA}	14,99±1,50 ^{aA}	16,28±1,09 ^{aA}	15,00±0,98 ^{aA}	15,36±1,05 ^{aA}	15,87±1,83 ^{aA}	0,588
	Segunda (Cañete)	15,12±1,19 ^{abA}	14,48±0,90 ^{abA}	13,59±1,63 ^{bA}	14,96±0,82 ^{abB}	14,21±1,16 ^{abA}	14,58±1,65 ^{abA}	15,99±1,27 ^{aA}	0,075
	p-valor	0,519	0,003	0,153	0,040	0,000	0,777	0,020	
α-lino- leico	Primera (Cañete)	0,77±0,06 ^{aA}	0,71±0,07 ^{aA}	0,70±0,09 ^{aA}	0,72±0,07 ^{aA}	0,84±0,08 ^{aA}	0,90 ±0,13 ^{aA}	0,88±0,18 ^{aA}	0,041
	Segunda (Cañete)	0,67±0,08 ^{aA}	0,66±0,09 ^{aA}	0,60±0,05 ^{ab}	0,62±0,04 ^{aA}	0,65±0,08 ^{ab}	0,75±0,10 ^{aA}	0,77±0,13 ^{aA}	0,048
	p-valor	0,075	0,365	0,044	0,000	0,003	0,196	0,107	
	Tercera (La Molina)	0,78±0,07 ^a	0,87±0,19 ^a	1,18±0,57 ^a	0,90±0,11 ^a	1,02±0,15 ^a	0,90±0,13 ^a	1,10±0,41 ^a	0,011

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 13: Resultados del contenido de los principales tocoferoles en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Tocoferol (µg/g bs)	Cosecha Tiempo, Lugar	Días en AC+refrigeración				Maduradas en anaquel			P- valor
		Día 0	15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
α-tocoferol	Primera (Cañete)	61,06±10,79 ^{cA}	60,50±5,36 ^{cB}	61,78±6,80 ^{cA}	64,89±8,46 ^{bcA}	86,84±20,85 ^{aA}	81,37±4,68 ^{abA}	83,45±15,92 ^{abA}	0,000
	Segunda (Cañete)	70,20±8,15 ^{aA}	68,77±6,57 ^{aA}	70,71±24,87 ^{aA}	67,59±11,70 ^{aA}	75,46±13,22 ^{aA}	85,39±10,54 ^{aA}	87,43±17,67 ^{aA}	0,108
	p-valor	0,155	0,032	0,308	0,554	0,138	0,002	0,000	
β-tocoferol	Tercera (La Molina)	57,12±6,51 ^{ab}	74,74±7,95 ^a	56,51±4,91 ^b	53,82±6,83 ^b	64,65±6,71 ^{ab}	62,28±12,79 ^{ab}	53,09±3,18 ^b	0,014
	Primera (Cañete)	20,74±2,35 ^{bcA}	16,43±2,87 ^{cB}	19,15±3,80 ^{cA}	29,01±4,96 ^{abA}	22,36±6,74 ^{abcA}	23,35±2,70 ^{abcA}	27,56±7,68 ^{aA}	0,000
	Segunda (Cañete)	21,57±4,05 ^{bA}	22,61±3,41 ^{abA}	23,54±10,16 ^{abA}	27,69±3,89 ^{abA}	24,68±3,02 ^{abA}	27,85±4,39 ^{abA}	32,23±6,71 ^{aA}	0,031
p-valor	0,003	0,013	0,007	0,000	0,002	0,001	0,002		
	Tercera (La Molina)	49,08±3,13 ^a	48,53±4,50 ^a	47,63±8,13 ^a	47,33±6,17 ^a	51,05±10,19 ^a	43,25±7,76 ^a	45,81±5,10 ^a	0,276

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar.

ANEXO 14: Resultados del contenido de los principales fitosteroles (mg/100 g bs) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7°C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

	Cosecha Tiempo y Lugar	Días en AC+refrigeración				Maduradas en anaquel			p valor
		Día 0	15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
β-sitosterol	Primera (Cañete)	149,26±3,30 ^{abA}	139,77±7,01 ^{bA}	141,87±10,55 ^{bA}	163,38±10,31 ^{abA}	157,75±26,55 ^{abA}	166,38±12,93 ^{abA}	177,72±32,90 ^{aA}	0,01
	Segunda (Cañete)	143,42±12,27 ^{bA}	152,23±6,54 ^{abA}	142,55±15,02 ^{bA}	149,68±10,91 ^{abA}	170,86±16,64 ^{aA}	173,52±15,12 ^{aA}	163,10±17,55 ^{abA}	0,00
	p-valor	0,770	0,000	0,003	0,139	0,000	0,038	0,354	
	Tercera (La Molina)	141,97±13,63 ^c	239,8±28,2 ^a	257,8±36,6 ^a	173,8±28,1 ^{bc}	234,0±27,2 ^a	222,0±38,9 ^{ab}	159,09±12,88 ^c	0,00
Campes Terol	Primera (Cañete)	23,24±2,48 ^{aA}	23,26±1,05 ^{aA}	24,4±1,49 ^{aA}	26,19±1,86 ^{aA}	26,65±3,92 ^{aA}	27,95±2,80 ^{aA}	26,71±5,02 ^{aA}	0,02
	Segunda (Cañete)	23,50±2,07 ^{bA}	24,52±1,09 ^{abA}	24,06±1,72 ^{bA}	24,00±1,53 ^{abA}	25,52±1,30 ^{abA}	27,40±1,47 ^{aA}	25,99±2,02 ^{abA}	0,00
	p-valor	0,000	0,068	0,169	0,000	0,084	0,355	0,003	
	Tercera (La Molina)	17,92±1,68 ^b	26,43±3,04 ^a	26,84±3,94 ^a	19,52±3,42 ^b	23,16±3,49 ^{ab}	25,63 ±3,73 ^a	17,81±1,61 ^b	0,00

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar.

ANEXO 15: Resultados de compuestos fenólicos totales (CFT) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

	Cosecha Tiempo, Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			P- valor
			15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
CFT (mg AGE/ g bs)	Primera (Cañete)	0,80±0,05 ^{abA}	0,78±0,17 ^{abA}	0,80±0,1 ^{abA}	0,74±0,07 ^{bB}	0,95±0,14 ^{abA}	1,07±0,23 ^{aA}	0,98±0,23 ^{abA}	0,018
	Segunda (Cañete)	0,79±0,11 ^{bcA}	0,74±0,05 ^{bcA}	0,93±0,16 ^{cdA}	0,87±0,06 ^{bcA}	0,93±0,06 ^{abA}	1,13±0,24 ^{aA}	0,68±0,11 ^{cB}	0,001
	p-valor	0,718	0,519	0,134	0,005	0,363	0,753	0,015	
	Tercera (La Molina)	0,76±0,09 ^c	0,91±0,05 ^{bc}	0,90±0,06 ^{bc}	0,86±0,06 ^{bc}	1,01±0,09 ^{ab}	1,15±0,09 ^a	1,12±0,19 ^a	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 16: Resultados de la concentración de Ácido abscísico (ABA) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medido al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR) y después de alcanzar la madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

	Cosecha Tiempo, Lugar	Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			P- valor
			15AC	30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel	
ABA (mg/kg bs)	Primera (Cañete)	1,79±0,40 ^{bA}	5,72±2,43 ^{bA}	6,01±0,97 ^{bA}	9,68±3,60 ^{bA}	19,87±1,26 ^{aA}	22,36±3,84 ^{aA}	19,64±4,03 ^{aA}	0,000
	Segunda (Cañete)	2,37±0,30 ^{aA}	1,58±0,13 ^{aA}	2,16±0,06 ^{aB}	2,13±0,19 ^{aB}	24,05±9,62 ^{aA}	24,36±9,86 ^{aA}	20,72±5,25 ^{aA}	0,077
	p-valor	0,239	0,138	0,030	0,438	0,604	0,814	0,838	
	Tercera (La Molina)	0,74±0,25 ^c	3,50±0,06 ^{bc}	2,71±1,63 ^{bc}	5,41±0,39 ^{ab}	8,33±0,40 ^a	9,08±1,24 ^a	6,42±1,92 ^{ab}	0,001

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 17: Resultados de la capacidad antioxidante ABTS lipofílica (CAL) e hidrofílica (CAH) en el mesocarpio de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, medidos al inicio (día 0), final del periodo de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR), y al llegar a madurez de consumo en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR).

Cosecha		Día 0	Días en AC+refrigeración			Maduradas en anaquel			P-valor
Tiempo, Lugar	15AC		30AC	50AC	15AC+Anaquel	30AC+Anaquel	50AC+Anaquel		
(CAL) (μmol TE/g bs)	Primera (Cañete)	2,44±0,14 ^{ba}	2,81±0,42 ^{abA}	2,59±0,15 ^{ba}	2,46±0,40 ^{ba}	2,92±0,40 ^{abA}	3,10±0,44 ^{abA}	3,45±0,56 ^{aA}	0,003
	Segunda (Cañete)	2,41±0,13 ^{aA}	2,25±0,24 ^{abB}	2,18±0,18 ^{aA}	2,58±0,25 ^{aA}	2,64±0,18 ^{aA}	2,39±0,30 ^{abB}	2,47±0,51 ^{abB}	0,074
	p-valor	0,000	0,019	0,000	0,308	0,167	0,030	0,009	
	Tercera (La Molina)	1,97±0,26 ^b	3,22±0,63 ^a	3,14±0,46 ^a	2,83±0,52 ^a	2,54±0,40 ^{ab}	3,09±0,61 ^a	2,82±0,32 ^a	0,000
(CAH) (μmol TE/g bs)	Primera (Cañete)	16,96±2,12 ^{aA}	18,94±2,84 ^{aA}	18,74±1,79 ^a _A	18,18±1,60 ^{aA}	21,28±3,36 ^{aA}	19,50±2,27 ^{ba}	21,25±3,44 ^{aA}	0,061
	Segunda (Cañete)	16,89±1,68 ^{bcA}	18,74±1,83 ^{bcA}	16,60±2,67 ^{bc} _A	15,77±1,04 ^{cb}	20,02±1,16 ^{bcA}	20,50±4,23 ^{ba}	25,37±3,22 ^{aA}	0,004
	p-valor	0,001	0,009	0,133	0,011	0,494	0,788	0,117	
	Tercera (La Molina)	13,26±0,89 ^c	15,17±0,93 ^c	14,70±1,48 ^c	20,19±2,54 ^{ab}	21,66±2,34 ^{ab}	19,34±2,5 ^b	23,94±3,08 ^a	0,000

Los valores de cada tratamiento es la media de 10 determinaciones independientes ± desviación estándar. Letras en superíndices en minúscula diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) durante el periodo de almacenamiento y posterior maduración frente a la fruta recién cosechada (día 0) y letras en superíndices en mayúscula diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre cosechas (primera y segunda) a igual periodo de almacenamiento y posterior maduración por la Prueba de Tukey o Bonferroni según corresponda.

ANEXO 18: Indicadores de la heterogeneidad en la maduración de la palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, al llegar a madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) en condiciones de anaquel (20 ± 2 °C, 60-70 por ciento HR), después de 15, 30 y 50 d de almacenamiento en AC+refrigeración (4 y 6 por ciento de O₂ y CO₂, 7 °C, 80-90 por ciento HR).

	Primera Cosecha			Segunda Cosecha			Tercera Cosecha		
	15AC+Anaq	30AC+Anaq	50AC+Anaq	15AC+Anaq	30AC+Anaq	50AC+Anaq	15AC+Anaq	30AC+Anaq	50AC+Anaq
	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*	N° de Día paltas*
	15 1	14 2	7 12	8 1	10 6	7 18	4 1	5 3	5 3
	16 12	15 7	8 8	13 8	11 7	13 7	5 4	6 22	6 25
	17 8	16 10	12 3	14 8	14 8	14 4	6 24	7 3	7 2
	18 7	17 7	13 3	15 7	17 5	15 1	7 1	8 2	8 0
	19 2	18 2	14 4	16 6	18 3				
		19 2			19 1				
Días Promedio	17,0	16,5	10,8	13,2	14,8	12,3	5,5	6,5	6
Desv. Estándar	1,6	1,9	3,1	3,1	3,8	3,6	1,3	1,3	1

(*) Número de paltas que alcanzaron la madurez de consumo por día.

ANEXO 19: Palta 'Hass' procedente de tres tiempos de cosecha, en madurez de consumo (firmeza 4 a 13 N) después de 15(A), 30(B) y 50(C) días de almacenamiento en AC+refrigeración.

