

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**“SISTEMA ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICO, MARCADOR DE
ESTRÉS OXIDATIVO Y DESORDEN FISIOLÓGICO EN PALTA
(*Persea americana*) cv. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

MIRTHA YANINA MENDOZA VARGAS

LIMA - PERÚ

2022

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 - Reglamento de Propiedad Intelectual)**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**“SISTEMA ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICO, MARCADOR DE
ESTRÉS OXIDATIVO Y DESORDEN FISIOLÓGICO EN PALTA
(*Persea americana*) cv. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN”**

Presentado por:

MIRTHA YANINA MENDOZA VARGAS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. Indira M. Betalleluz Pallardel
PRESIDENTE

Dr. Luis A. Condezo Hoyos
MIEMBRO

Mg. Sc. Silvia M. García Torres
MIEMBRO

Dra. Rosana S. Chirinos Gallardo
ASESORA

Dr. David C. Campos Gutiérrez
CO-ASESOR

Lima – Perú

2022

DEDICATORIA

A Dios por siempre estar conmigo y guiarme en mi camino.

A mi mamá Marcelina quien, con su amor infinito, trabajo y sacrificio me ha permitido lograr un sueño más.

A mis hermanas Erika, Liliana y Yuli por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi carrera universitaria.

AGRADECIMIENTO

Agradecer, en primera instancia a la Universidad Nacional Agraria La Molina por ofrecerme una educación de alto nivel y permitirme concluir este importante logro en mi carrera profesional.

De igual forma agradezco infinitamente a la Dra. Rosana Chirinos por brindarme la oportunidad de llevar a cabo esta investigación con su impecable asesoría; así como su paciencia, orientación y guía en el desarrollo de la tesis. Al Dr. David Campos por permitirme formar parte del Instituto de Biotecnología (IBT) como tesista y por su valioso aporte realizado en esta investigación. A Cinthya por su disponibilidad en todo momento y sobre todo por compartir sus conocimientos y experiencias conmigo en el desarrollo experimental de esta tesis.

También agradecer a Adelaida por su disposición en ayudarme en la parte experimental, a mis compañeros del IBT en especial a Johana, Karolina, Nasha y Jahaira que me brindaron su amistad y apoyo en todo momento.

Finalmente, agradezco a mi familia, por su compañía y apoyo incondicional, en especial a mi madre y mis hermanas.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. LA PALTA.....	3
2.1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	3
2.1.2. MORFOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	3
2.1.3. VARIEDADES (CULTIVARES)	4
2.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL.....	6
2.1.5. IMPORTANCIA ECONÓMICA	8
2.2. FISIOLÓGÍA POSTCOSECHA Y ALMACENAMIENTO.....	10
2.2.1. ÍNDICE DE MADUREZ PARA LA COSECHA DE PALTA.....	10
2.2.2. FISIOLÓGÍA DE LA PALTA	12
2.3. ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN	14
2.4. DAÑO POR FRÍO.....	15
2.5. DESÓRDENES FISIOLÓGICOS EN PALTA	17
2.5.1. PARDEAMIENTO DE PULPA.....	17
2.5.2. PARDEAMIENTO VASCULAR	18
2.6. SISTEMA DE DEFENSA ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA	18
2.6.1. CAROTENOIDES	18
2.6.2. TOCOFEROLES.....	21
2.7. FITOESTEROLES	23
2.8. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	26
III. METODOLOGÍA	29
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.....	29
3.2. MATERIA PRIMA	29

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	29
3.3.1. MATERIALES	29
3.3.2. EQUIPOS	29
3.3.3. REACTIVOS.....	29
3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	30
3.4.1. DETERMINACIÓN DE TASA DE RESPIRACIÓN.....	30
3.4.2. DETERMINACIÓN DE PÉRDIDA DE PESO.....	31
3.4.3. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA SECA	31
3.4.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ACEITE Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS.	31
3.4.5. DETERMINACIÓN DE FIRMEZA	32
3.4.6. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA.	33
3.4.7. DETERMINACIÓN DE CAROTENOIDES TOTALES.....	33
3.4.8. DETERMINACIÓN DE TOCOFEROLES	34
3.4.9. DETERMINACIÓN DE FITOESTEROLES.....	34
3.4.10. MEDIDA DE LAS SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO(TBARS).....	35
3.4.11. DETERMINACIÓN DE DESÓRDENES FISIOLÓGICOS INTERNOS EN LA PALTA: PARDEAMIENTO DE PULPA Y PARDEAMIENTO DE HACES VASCULARES.....	36
3.4.12. DETERMINACIÓN DE LA EXTENSIÓN DEL PARDEAMIENTO DE PULPA EN LA PALTA.....	37
3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	37
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	39
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1. CARACTERÍSTICAS INICIALES DE LA PALTA CV. HASS.....	43

4.2. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y FISICOQUÍMICAS DE LA PALTA CV. HASS SOMETIDA AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y SU CORRESPONDIENTE MADURACIÓN EN ANAQUEL (~20°C).....	46
4.2.1. TASA DE RESPIRACIÓN.....	46
4.2.2. PÉRDIDA DE PESO.....	48
4.2.3. MATERIA SECA Y CONTENIDO DE ACEITE.....	50
4.3. DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ DE CONSUMO DE PALTA CV. HASS ALMACENADA EN ANAQUEL.....	52
4.4. SISTEMA DE DEFENSA NO ENZIMÁTICO LIPOFÍLICO DE LA PALTA CV. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACIÓN EN ANAQUEL.....	54
4.4.1. EVOLUCION DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES	54
4.4.2. EVOLUCIÓN DE LOS TOCOFEROLES.....	56
4.5. EVOLUCIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA	59
4.6. EVOLUCIÓN DE LOS FITOESTEROLES.....	60
4.7. EVOLUCIÓN DE LAS SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) DE LA PALTA CV. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACION EN ANAQUEL.....	63
4.8. DESORDENES FISIOLÓGICOS EN LA PULPA DE LA PALTA CV. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACIÓN EN ANAQUEL	65
4.9. CORRELACIÓN ENTRE LOS VARIABLES RESPUESTAS EVALUADAS EN LAS PALTAS CV. HASS ALMACENADAS EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACION EN ANAQUEL	71
V. CONCLUSIONES.....	74
VI. RECOMENDACIONES.....	75
VII. BIBLIOGRAFIA.....	76
VIII. ANEXOS	99

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la palta.....	4
Tabla 2: Contenido nutricional de 100 g de pulpa de palta	7
Tabla 3: Producción mundial de palta para años seleccionados desde 2011	8
Tabla 4: Fuente de alimentos y plantas de los cuatro carotenoides principales	19
Tabla 5: Características iniciales de la palta cv. Hass	43
Tabla 6: Porcentaje de palta cv. Hass con incidencia de pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular durante el almacenamiento en refrigeración (7°C y 85 por ciento de HR) y a madurez de consumo en anaquel (~20 °C).....	67
Tabla 7: Paltas cv. Hass almacenadas durante 10, 20 y 30 días en refrigeración (7°C) y su correspondiente almacenamiento en anaquel (~20 °C) hasta alcanzar la madurez de consumo.	70
Tabla 8: Extensión del pardeamiento de pulpa (%) en la pulpa de palta cv. Hass almacenada durante 10, 20 y 30 días en refrigeración (7°C) y correspondiente almacenamiento en anaquel (~20 °C) hasta alcanzar la madurez de consumo.	70
Tabla 9: Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre las variables respuestas	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Partes del fruto de la palta.....	5
Figura 2: Exportación de paltas frescas peruanas	10
Figura 3: Vía metabólica para la síntesis de carotenoides.....	20
Figura 4: Estructuras de tocoferol y tocotrienol. El número y la posición de los grupos metilo en el anillo de cromanol de α -, β -, γ - y δ -tococromanoles se indican en la tabla insertada.	22
Figura 5 : Biosíntesis simplificada de los tocoferoles	23
Figura 6: Estructuras de esteroides vegetales: a) Campesterol; b) β -sitosterol y c) estigmasterol.....	24
Figura 7: Vía metabólica de los fitosteroides en plantas.....	26
Figura 8: Escala cuantitativa (E1, E2, E3, E4, E5) de los desórdenes fisiológicos (pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular) en la palta cv. Hass	36
Figura 9: Diseño experimental para la evaluación de las características fisicoquímicas, fisiológicas, sistema antioxidante lipofílico y desórdenes fisiológicos en palta cv. Hass sometidas a almacenamiento en refrigeración y posterior maduración en anaquel.....	41
Figura 10: Perfil de ácidos grasos (%) de la palta cv. Hass después de la cosecha.....	44
Figura 11: Tasa de respiración ($\text{mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de palta cv. Hass determinada al momento de la cosecha (día 0) y a 10, 20 y 30 días en refrigeración (7°C).	46
Figura 12: Pérdida de peso (%) de palta cv. Hass sometida al almacenamiento en refrigeración (7°C) y a su correspondiente maduración en anaquel ($\sim 20^\circ\text{C}$) hasta alcanzar la madurez de consumo.....	48
Figura 13: Materia seca y contenido de aceite (%) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7°C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel ($\sim 20^\circ\text{C}$).	50

Figura 14: Histograma del número de días para alcanzar la madurez de consumo de la palta cv. Hass almacenada en anaquel (~20 °C), después del almacenamiento en refrigeración por 10, 20 y 30 días, respectivamente.....	52
Figura 15: Contenido de carotenoides (mg β caroteno/100 g, b.s.) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).....	55
Figura 16: Composición de tocoferoles (μ g /g, b.s.) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).....	57
Figura 17: Capacidad Antioxidante lipofílica de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).	59
Figura 18: Composición de fitosteroles (μ g /g, b.s) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).	61
Figura 19: Sustancias reactivas al TBARS (mg MDA/Kg bs) en pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).	64

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: ECUACIONES DE CURVAS ESTÁNDAR.....	99
ANEXO 2: CROMATOGRAMA DE LA COMPOSICIÓN DE FITOESTEROLES Y TOCOFEROLES DE PALTA VAR HASS SOMETIDAS A ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN ANAQUEL (~ 20 °C) HASTA ALCANZAR LA MADUREZ DE CONSUMO	100
ANEXO 3: PESO DE LAS 100 PALTAS VAR HASS QUE HAN SIDO EVALUADAS PREVIO ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN	106
ANEXO 4: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - TASA DE RESPIRACIÓN DE LA PALTA VAR HASS ALMACENADA DURANTE 10, 20 Y 30 DÍAS EN REFRIGERACIÓN (7 °C)107	
ANEXO 5: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - PÉRDIDA DE PESO DE LA PALTA VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C).....	107
ANEXO 6: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - CONTENIDO DE MATERIA SECA DE LA PALTA VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)	108
ANEXO 7: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - CONTENIDO DE ACEITE DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)	109
ANEXO 8: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES DE LAS PALTAS HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)109	
ANEXO 9: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE TOCOFEROLES (α , β y γ TOCOFEROL) DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)	110

ANEXO 10: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)	111
ANEXO 11: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE FITOESTEROLES (β -SITOSTEROL Y CAMPESTEROL) DE LAS PALTAS HASS SOMETIDAS A ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C).....	112
ANEXO 12: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE SUSTANCIAS REACTIVAS AL TBARS DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C).....	113
ANEXO 13: COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LAS VARIABLES RESPUESTAS.....	114

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue estimar el efecto del almacenamiento en refrigeración (7°C y 85 % HR) por períodos de 10, 20 y 30 días con su respectiva maduración en anaquel (~20 °C y 75-80 % HR) sobre las características fisicoquímicas, estado oxidativo (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS), compuestos antioxidantes lipofílicos: tocoferoles, y carotenoides, el contenido de fitoesteroles, capacidad antioxidante lipofílica y su relación con la aparición de las manchas oscuras a nivel de pulpa en la palta cv. Hass. Se evaluaron las características fisicoquímicas previo almacenamiento, donde el contenido de materia seca y aceite fueron de 25.67 y 14.49 por ciento, respectivamente. La tasa de respiración mostró un comportamiento climatérico típico, alcanzando un valor máximo a los 20 días de almacenamiento en frío; la pérdida de peso se incrementó durante el proceso de maduración en anaquel después del almacenamiento en frío, mientras que el contenido de aceite y materia seca no mostraron diferencias significativas. El tiempo de almacenamiento en frío por 20 y 30 días influyeron en la calidad del fruto, presentando mayor incidencia y gravedad de pardeamiento de pulpa. La extensión de la peroxidación lipídica indicada por los valores de TBARS aumentó con el incremento de la duración del almacenamiento en frío y las condiciones de almacenamiento en anaquel, mostrando una correlación alta y positiva con el porcentaje de pardeamiento de pulpa. Bajo las condiciones de refrigeración y posterior madurez de consumo de las paltas, se encontraron bajas correlaciones entre los contenidos de los antioxidantes lipofílicos (carotenoides y tocoferoles), el contenido de fitoesteroles y la capacidad antioxidante lipofílica, respecto al daño por frío y al contenido de TBARS.

Palabras claves: Palta, estrés oxidativo, capacidad antioxidante lipofílica, carotenoides, tocoferoles, fitoesteroles, daño por frío, peroxidación lipídica y desórdenes fisiológicos.

ABSTRACT

The objective of this study was to estimate the effect of refrigerated storage (7 ° C and 85% RH) for periods of 10, 20 and 30 days with their respective ripening on the shelf (~ 20 ° C and 75-80% HR) on the characteristics physicochemical, oxidative state (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS), lipophilic antioxidants compounds: tocopherols and carotenoids, the content of phytosterols, lipophilic antioxidant capacity and their relationship with the appearance of dark spots at the pulp level in avocado cv. Hass. The physicochemical characteristics were evaluated prior to storage, where the dry matter and oil content were 25.67 and 14.49 percent, respectively. The respiration rate showed a typical climacteric behavior, reaching a maximum value after 20 days of cold storage; weight loss increased during the shelf ripening process after cold storage, while oil and dry matter content did not show significant differences. The cold storage time for 20 and 30 days influenced the quality of the fruit, presenting a higher incidence and severity of pulp browning. The extent of lipid peroxidation indicated by the TBARS values increased with increasing cold storage duration and shelf storage conditions, showing a high and positive correlation with the percentage of pulp browning. Under the refrigeration conditions and subsequent edible ripeness of the avocados, low correlations were found between the content of lipophilic antioxidants (carotenoid and tocopherol), the content of phytosterols and the lipophilic antioxidant capacity, with respect to cold damage and to the content of TBARS.

Keywords: Avocado, oxidative stress, lipophilic antioxidant capacity, carotenoids, tocopherols, phytosterols, cold damage, lipid peroxidation and physiological disorders.

I. INTRODUCCIÓN

La palta (*Persea americana*) es un fruto tropical perteneciente a la familia de las Lauraceas, es originario de México y Centroamérica. Existen diversos cultivares de palta, pero la más comercial es el cultivar Hass. La pulpa es la fracción más consumida de este fruto y está constituida de hasta un 21 por ciento por grasas (principalmente monoinsaturadas), proteínas, carbohidratos, minerales, vitaminas; además es una fuente importante de compuestos antioxidantes (carotenoides, flavonoides, fitoesteroles y compuestos fenólicos) a los que se les atribuyen efectos protectores a las células frente al daño generado por especies reactivas al oxígeno (EROS) (Dreher & Davenport, 2013; Pedreschi *et al.*, 2019).

Debido a su completo contenido nutricional, a sus propiedades sensoriales y versatilidad en el consumo; actualmente la palta cv. Hass es catalogada como un superalimento indispensable en la dieta. La demanda es cada vez mayor y en los últimos diez años el mercado mundial de esta fruta ha experimentado un crecimiento exponencial (MINAGRI, 2019). El 75% de la producción mundial proviene de América, siendo los mercados de Estados Unidos y Unión Europea los principales importadores de esta fruta (FAOESTAT, 2018). Perú se ha posicionado como el segundo productor mundial y exportador de palta cv. Hass; sólo siendo precedido por México y para la campaña del 2021 se proyecta que las exportaciones crecerán en un 27 por ciento (Gestión, 2021).

El almacenamiento en refrigeración es una tecnología postcosecha ampliamente utilizada, siendo el tratamiento más eficaz y económico para ralentizar los procesos metabólicos y de reducción del crecimiento de patógenos, asegurando la calidad comercial de las frutas y hortalizas (Vicente *et al.*, 2007). Aunque, las temperaturas bajas retardan la senescencia, se ha señalado que pueden inducir trastornos fisiológicos cuando la temperatura cae por debajo del umbral recomendado y que son influenciadas tanto por el tiempo de exposición como

por la intensidad del frío (Lurie & Crisosto, 2005), el citado efecto es conocido como daño por frío y se asocia a los cambios en la integridad de las membranas celulares y da lugar al estrés oxidativo con la producción de EROS (Valenzuela *et al.*, 2017). Como consecuencia, se activa el sistema de defensa antioxidante enzimático y no enzimático, manteniendo en equilibrio la producción de EROS; sin embargo, si el estrés continúa y sobrepasa al sistema antioxidante del fruto, se producirá el daño celular irreversible y luego la muerte celular (Toivonen, 2004).

Dado que la palta cv. Hass es una fruta climatérica típica, la cual presenta una alta tasa de respiración y producción de etileno, el manejo de la temperatura es crítico (Burdon *et al.*, 2017). Las temperaturas de almacenamiento recomendadas oscilan entre 4 a 7.5 °C, considerando que la elección de la temperatura óptima va a depender del estado de madurez fisiológica de la fruta (Bill *et al.*, 2014; Hernández *et al.*, 2016). Las paltas peruanas son transportadas vía marítima hacia diferentes mercados empleando diferentes tecnologías de almacenamiento; una de ellas es la refrigeración que puede considerar tiempos de transporte de hasta 30 días, esta condición la hace susceptible a sufrir daño por frío que son evidenciados en el punto de llegada y posterior maduración en anaquel (Bill *et al.*, 2014). Los principales síntomas del daño por frío son: el pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular (Hofman *et al.*, 2000 y Defilippi *et al.*, 2015). Toivonen (2004) enfatizó la importancia de comprender el papel de los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos en respuesta a las condiciones de estrés postcosecha en curso del tiempo con múltiples muestreos. Actualmente, no se dispone de información definida sobre el comportamiento de los sistemas antioxidantes durante el estrés por frío en muchas frutas, incluidas las paltas cv. Hass. Por lo tanto, esta investigación tuvo como objetivo: Evaluar el efecto del almacenamiento en refrigeración (~7 °C, humedad relativa de 85 por ciento) por 10, 20 y 30 días seguido de su respectiva madurez de consumo (Firmeza de 4 a 8 N) en condiciones de anaquel, sobre las características fisicoquímicas, fisiológicas y el estado oxidativo de la palta cv. Hass evaluada mediante: la determinación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, de los compuestos que conforman el sistema antioxidante no enzimático lipofílico (contenido y perfil de tocoferoles, carotenoides) y la capacidad antioxidante lipofílica, así como también la evaluación de la aparición y extensión de manchas oscuras, a nivel de pulpa, adicionalmente se evaluó el contenido y perfil de fitoesteroles.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LA PALTA

2.1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La palta o aguacate, es el fruto de un árbol originario de un ámbito que comprende áreas tropicales y subtropicales de México y Centroamérica; cuyo consumo data durante los últimos 10 000 años. Se encontraron semillas de aguacate entre los restos de muchas otras especies de plantas cultivadas en depósitos de cuevas en el valle de Tahuacán, Puebla, México (Zafar & Sidhu, 2011).

Se ha determinado que el centro de origen de esta fruta es la parte central de México, pasando por Guatemala hacia América Central. En esta región, se puede encontrar el stock genético natural, que puede ser útil para la mejora biotecnológica de la especie. Como evidencia de esta teoría, se han encontrado primitivos árboles de palta en la "Sierra Madre Oriental" a lo largo del Estado de Nuevo León (México) a Costa Rica. Desde esta región, la palta se dispersó a la parte sureste de los EE. UU., Las Indias Occidentales y luego a una gran parte de América del Sur (Colombia, Venezuela, Brasil, Ecuador, Perú, Bolivia, Chile) (Yahia & Woolf, 2011).

2.1.2. MORFOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

El árbol de palta pertenece a la familia Lauraceae, típica de los climas tropicales o subtropicales, y el género *Persea*, que se divide en tres subgéneros diferentes que abarcan a más de 150 especies, de las cuales 70 especies se cultivan en las regiones más cálidas del Norte de América Central y del Sur (Ranade & Thiagarajan, 2015).

El miembro más relevante y ampliamente estudiado del género *Persea* es *P. americana*, cuyo fruto es la palta comercial (Hurtado – Fernández *et al.*, 2018). La clasificación taxonómica se puede apreciar en la Tabla 1.

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la palta

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Laurales
Familia	Lauraceae
Genero	<i>Persea</i>
Especie	<i>Persea americana</i>

FUENTE: Bernal *et al.* (2008)

El nombre botánico para la palta es *Persea americana* Mill. y se reconocen tres razas ecológicas u hortícolas. La raza mexicana ha sido denominada *Persea americana* var. *Drymifolia*, la raza guatemalteca como *Persea americana* var. *guatemalensis*, y la raza antillana como *Persea americana* var. *Americana* (Cowan & Wolstenholme, 2016).

2.1.3. VARIEDADES (CULTIVARES)

De acuerdo a estudios sistemáticos se han clasificado más de 500 variedades; sin embargo, muchos no se producen comercialmente debido a problemas de productividad, calidad y problemas de manipulación (Yahia & Woolf, 2011). Los principales cultivares comerciales son híbridos de las tres razas y una de las diferencias más distintivas es el color de la cáscara cuando está maduro, por ejemplo, la cáscara de algunos cultivares cambia de verde a negro o morado con madurez o maduración avanzada (Cowan & Wolstenholme, 2016). Las principales variedades que se cultivan en el Perú tienen su origen híbrido, entre estas destacan: Hass, Fuerte, Nabal, Bacon y Gwen (Ministerio de Agricultura y Riego, 2015).

a. Cultivar Hass

Yahia & Woolf (2011) afirma que Hass es el principal cultivar comercial en el mundo, resultado del cruce de progenitores con genes guatemaltecos de mayor predominancia y mexicanos, fue lograda en

el Estado de California en los Estados Unidos, por Rudolp G. Hass. El Ministerio de Agricultura y Riego (2015) agrega que “los frutos de esta variedad pueden permanecer en el árbol un cierto tiempo después de alcanzar la madurez fisiológica, sin perder su calidad; son de forma oval piriforme y tamaño medio (170 a 350 g)”. La pulpa es cremosa de sabor excelente, piel gruesa, rugosa, se pela con facilidad, presenta color verde a oscuro violáceo cuando el fruto madura, no tiene fibra y su contenido de aceite fluctúa entre 18 y 22 por ciento y la semilla es de tamaño pequeño, forma esférica y adherida a la pulpa (Hofman *et al.*, 2013).

Por otro lado, Meyer *et al.* (2010) señalan que la palta (*Persea americana*) es una baya que consiste en una gran semilla central y pericarpio, que es la suma de la piel (exocarpio), la porción comestible (mesocarpio) y la capa interna que rodea la semilla (endocarpio) (Figura 1). Cabe señalar que el desarrollo del fruto de la palta es el resultado de actividades metabólicas complejas que pueden verse afectadas por factores ambientales como la temperatura, el estado de las plantas y los nutrientes, la calidad y cantidad de la luz, entre otros; así como por diferentes hormonas vegetales (Cowan *et al.*, 2001 citado por Hurtado-Fernández *et al.*, 2018).

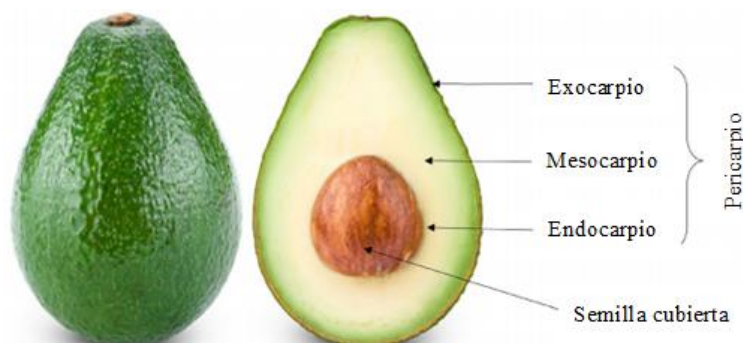


Figura 1: Partes del fruto de la palta

FUENTE: Megwaza & Tesfay (2015)

2.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL

La composición química de la palta depende de la variedad, grado de maduración, clima, composición del suelo y fertilizante (Araujo *et al.*, 2018). En general, la pulpa de la palta está constituida por un alto porcentaje de humedad del 67 al 78 por ciento, con contenido de lípidos del 12 al 24 por ciento, contenido de carbohidratos del 0.8 al 4.8 por ciento, contenido de proteínas del 1.0 al 3.0 por ciento, contenido de cenizas de 0.8 a 1.5 por ciento, contenido de fibra que varía de 1.4 a 3.0 por ciento y 100 g de pulpa aporta energía entre 140 y 228 kcal (Cowan & Wolstenholme, 2016).

Uno de los componentes principales de la palta es la grasa, y por esta característica no es sorprendente que también se la conozca como la "fruta de la mantequilla"; además el contenido de aceite de la palta aumenta durante el desarrollo del fruto (Ozdemir & Topuz, 2004). Los ácidos grasos monoinsaturados son los predominantes; el ácido oleico se destaca dentro de este grupo como uno de los más característicos. Otros ácidos grasos importantes de la palta son los ácidos: linoleico (poliinsaturado) y palmítico (saturado) (Hurtado-Fernández *et al.*, 2018). La abundancia de estas sustancias, junto a los principales beneficios saludables de la palta se han atribuido a su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados y hacen de los lípidos una de las familias químicas más estudiadas en este fruto (Villa-Rodríguez *et al.*, 2011).

La palta también es una fuente muy importante de vitaminas (especialmente vitaminas E y C), pigmentos (antocianinas, clorofilas y carotenoides), esteroides, compuestos fenólicos (Meyer & Terry, 2010), minerales, siendo abundante en potasio, fósforo, magnesio, calcio, sodio y otros (Araujo *et al.*, 2018). Es necesario incidir que, el alto contenido de potasio y el bajo contenido de sodio son beneficiosos para las personas con dietas bajas en sodio y protegen contra enfermedades cardiovasculares (Álvarez *et al.*, 2012; Cowan & Wolstenholme, 2016 y Zafar & Sidhu, 2018).

La importancia alimenticia de la palta se debe a que posee un gran número de componentes nutricionales que aportan beneficios a la salud, que se deben esencialmente a la fuente de nutrientes liposolubles o fotoquímicos (Araujo *et al.*, 2018). En la Tabla 2 se muestra la composición nutricional de 100 g de palta de porción comestible

Tabla 2: Composición química de 100 g de pulpa de palta

Nutrientes /fotoquímicos	Unidades	Valor
Energía	Kcal	160
Agua	g	73.23
Proteína	g	2.00
Lípidos totales	g	14.66
Carbohidratos	g	8.53
Fibra dietaría total	g	6.70
Azúcares	g	0.66
Ácidos grasos saturado	g	2.13
Ácidos grasos monoinsaturado	g	9.8
Ácidos grasos insaturados	g	1.82
Vitamina C (ácido ascórbico)	mg	10.00
Tiamina (B ₁)	mg	0.07
Riboflavina (B ₂)	mg	0.13
Niacina (B ₃)	mg	1.74
Piridoxina (B ₆)	mg	0.26
Folato (DFE)*	µg	89.0
Vitamina A (RAE)*	µg	7.00
Vitamina E (alfa tocoferol)	mg	2.07
Vitamina k	µg	21
Calcio (Ca)	mg	12
Hierro (Fe)	mg	0.55
Magnesio (Mg)	mg	29
Fósforo (P)	mg	52
Potasio (K)	mg	485
Sodio (Na)	mg	7
Zinc (Zn)	mg	0.64

*DFE, dietary folate equivalents; RAE, retinol activity equivalents

FUENTE: USDA (2017) citado por Hurtado-Fernández *et al.* (2018)

2.1.5. IMPORTANCIA ECONÓMICA

a. Producción y exportación mundial de la palta

A nivel mundial casi el 80 por ciento del comercio mundial de palta es del cultivar Hass. La producción de palta en el mundo evidencia un crecimiento de un 5,1 por ciento anual en el período 2000-2017, excepto en 2008, como respuesta a la expansión del consumo mundial. Siendo México el principal productor, consumidor y exportador en el mundo; representa en el 2018 el 34 por ciento de la producción mundial con una tasa de crecimiento anual de 5,09 por ciento en promedio (2000-2017), le siguen en importancia República Dominicana con un 11 por ciento de participación y un incremento de 13,3 por ciento promedio anual. El tercer país en volumen de producción de palta es el Perú, con un 8 por ciento de participación; es el país que muestra la tasa más elevada de crecimiento de su producción con un 14,4 por ciento promedio por año (Ministerio de Agricultura y Riego, 2019).

De acuerdo a la FAOESTAT (2018), el 2018 se produjo un incremento en 10 por ciento a nivel mundial, es decir se habrían producido 6,5 millones de toneladas, lo que implicaría un nuevo récord en producción. La Tabla 3 muestra los principales países productores de palta, siendo México el productor líder, seguido de República Dominicana, Perú e Indonesia.

Tabla 3: Producción mundial de palta para años seleccionados desde 2012

Países	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
México	1316104	1467837	1520695	1644226	1889354	2029886	2184663
Rep. Dom.	290011	387546	513961	526438	601349	637688	644306
Perú	268525	288387	349317	367110	455394	466796	504517
Indonesia	294200	289901	307326	382530	304938	363157	410094
Colombia	255384	294997	288739	309852	294389	308166	326666
Brasil	159903	157482	156699	180652	196545	212873	235788
Kenia	166948	177799	218692	136420	176045	217688	233933
EEUU	238495	166106	179124	207750	125237	170261	168528
Venezuela	116964	112670	121576	128601	130290	133453	139685
Israel	77500	80000	91035	93000	101500	110000	131720
Otros países	1382493	1343386	1425369	1432795	1489100	1482385	1556014
Total	4566527	4766111	5172533	5409374	5764141	6132353	6535914

FUENTE: FAOESTAT (2018)

El incremento de las exportaciones en estos últimos diecisiete años es en promedio de un 12 por ciento por año. Desde hace muchos años México es el líder mundial de la producción y exportación de palta, en el 2017 ha representado el 45 por ciento del total exportado. El segundo lugar le corresponde al Perú con 247 mil toneladas (12,4 por ciento del total), es uno de los países más dinámicos del sector exportador que ha venido creciendo a una tasa promedio de un 32 por ciento por año, durante el período 2000 al 2017, superando en ese período a los más importantes países proveedores y comercializadores del mundo (Ministerio de Agricultura y Riego, 2019).

b. Evolución de las exportaciones y producción de paltas peruanas

“Las exportaciones de palta, se registran desde finales de la década de los noventa cuando se opta por cultivar palta de variedad Hass, con características que facilitan el transporte y manejo postcosecha” (Ministerio de Agricultura y Riego, 2019). En menos de una década, Perú se ha posicionado como el segundo exportador mundial de palta cv. Hass, con volúmenes destinados al mercado internacional que superaron las 338 mil toneladas en el 2018, las 285 mil toneladas en 2019 y 367 mil toneladas en 2020, cuya evolución de las exportaciones se evidencia en la Figura 2. Cabe destacar, que las exportaciones se concentran principalmente en Europa con una participación de 61 por ciento, seguido por Estados Unidos y Asia (Ministerio de Agricultura y Riego, 2019 y ProHass, 2020). El éxito del Perú se debe al modelo hipercompetitivo, en gran parte a las condiciones climáticas y edafológicas muy particulares que prevalecen en la costa peruana y a los sistemas de irrigación instaladas desde mediados de los años noventa (Proyecto Chavimochic y Olmos). Asimismo; la producción, el área cosechada y el rendimiento de este fruto ha tenido un crecimiento sostenible a través de los años (Hass Avocado Board, 2019).

Respecto a la superficie de áreas cultivadas, la palta cv. Hass ha experimentado un crecimiento exponencial; es decir el área de cultivo, que cubría aproximadamente 100 ha en 1994, a finales del 2018 ha incrementado a 31 mil ha. Se centraliza fundamentalmente en las franjas costeras de 2000 km que va desde el norte (Chiclayo) hasta el sur (Arequipa). Existen diferentes sistemas de producción en cuatro zonas principales. De norte a sur, se tiene el sistema de irrigación de Olmos (Departamento de Lambayeque), sistema de irrigación de Chavimochic (Departamento de La Libertad), los valles bajos de la región de Lima como

Huaral, Cañete, Chincha y Ancash y las estribaciones occidentales de la Cordillera de la Sierra que involucra principalmente en el sur de los departamentos de Huancavelica, Arequipa, Cuzco, Ayacucho e Ica (Hass Avocado Board, 2019).

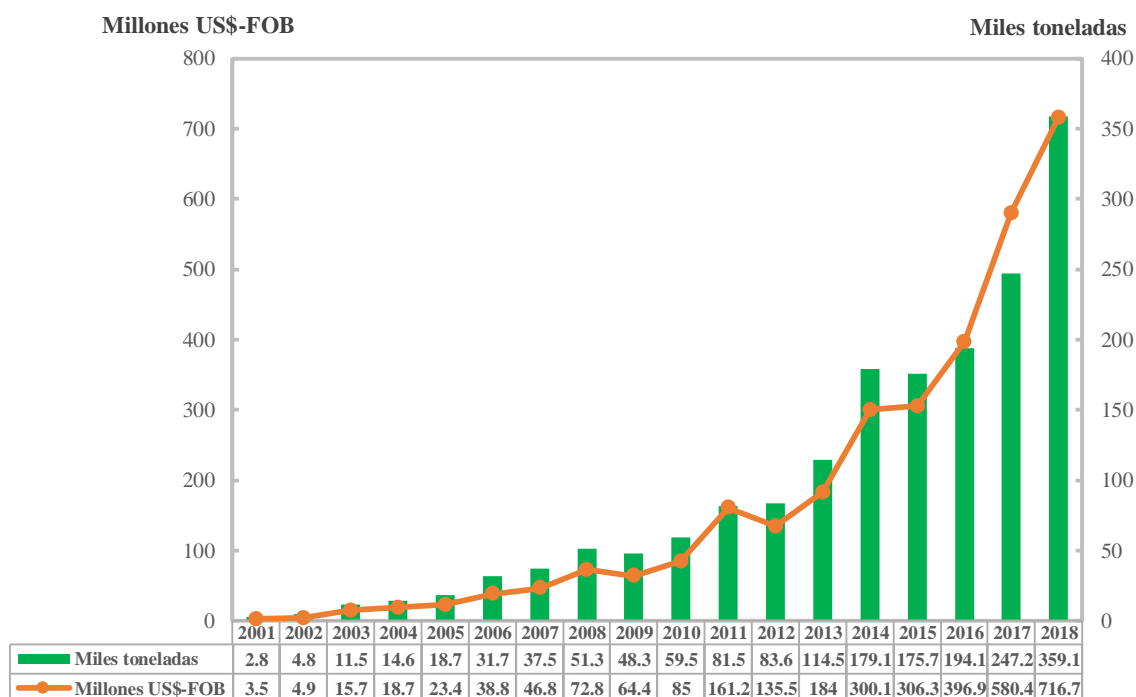


Figura 2: Exportación de paltas frescas peruanas

FUENTE: Ministerio de Agricultura y Riego (2019)

2.2. FISIOLÓGÍA POSTCOSECHA Y ALMACENAMIENTO

2.2.1. ÍNDICE DE MADUREZ PARA LA COSECHA DE PALTA

Los índices de madurez son esenciales para establecer el punto óptimo de cosecha ya que, si la palta se recolecta inmadura, existirá presencia de fibras y no madurará adecuadamente. Por otro lado, si la recolección del fruto es demasiado madura, el proceso de maduración será irregular, resultando en ambos casos, una calidad inferior de la fruta (Bill *et al.*, 2014). “La palta cv. Hass no alcanza la madurez de consumo cuando está en el árbol unido a una rama con hojas funcionales, debido a que las mismas producen un inhibidor de la maduración que pasa al fruto a través del pedúnculo” (Cerdas – Araya *et al.*, 2006). También existen varios criterios para determinar el momento adecuado de cosecha, así como el tamaño y

forma de los frutos, nivel de brillo y color en la cáscara, facilidad de desprendimiento del pedúnculo, color interno del mesocarpio, días después del cuaje de la fruta, firmeza de la pulpa, siendo el contenido de aceite y materia seca los índices de cosecha de mayor relevancia (Olaeta & Undurraga, 1995 y Cerdas - Araya *et al.*, 2014).

a. Contenido de aceite

La palta, se considera una fruta oleaginosa importante y el contenido de aceite sirve como un indicador significativo de la madurez fisiológica de la fruta (Kassim *et al.*, 2013). Esta variable comúnmente varía dependiendo del cultivar, las prácticas culturales y las condiciones ambientales. La presencia de un mínimo de 8 por ciento de aceite se utiliza como un índice de madurez adecuado o indicador para cosechar paltas. El método más preciso adoptado para la determinación de aceite es secar la pulpa (mesocarpio) y luego emplear el método de extracción con solvente para medir el contenido de aceite (Bill *et al.*, 2014), sin embargo, es un método costoso y tedioso de realizar.

b. Materia seca

La materia seca es un método indirecto para determinar la madurez de cosecha de la palta ya que, este parámetro está altamente correlacionado con el contenido de aceite (Coeficiente de Pearson de 0.98) (Olaeta & Undurraga, 1995 y Hofman *et al.*, 2000). La determinación de materia seca, es un proceso confiable, reproducible, de bajo costo y de fácil aplicación que se realiza utilizando una estufa o microondas. Por esta razón, este análisis es ampliamente usado por todo el mundo como un indicador de madurez de cosecha y se han establecido valores mínimos como estándar legal para cada cultivar. El requerimiento mínimo de materia seca varía del 19 al 25 por ciento y va a depender del cultivar y del país; por ejemplo, se han establecido 19 por ciento para paltas del cultivar Fuerte, 20,8 por ciento para Hass y 24,2 por ciento para Gwen (Hofman *et al.*, 2000; Orhevba & Jinadu, 2011 y Kassim *et al.*, 2013). Cabe considerar, que las frutas cosechadas con niveles de materia seca por debajo del umbral recomendado madurarán de manera irregular y no desarrollarán completamente sus atributos de calidad. De manera similar, los frutos cosechados con un alto contenido de materia seca experimentarán una maduración rápida y una vida útil reducida (Chun-Ta *et al.*, 2011).

2.2.2. FISIOLÓGÍA DE LA PALTA

a. Respiración

Kassim *et al.* (2013) describe a la respiración como un proceso natural que se da dentro de todos los organismos vivos, mediante el cual ocurre una descomposición oxidativa de los materiales orgánicos en productos finales como: el CO_2 , agua y energía. La tasa de respiración es un excelente indicador de la actividad metabólica del tejido y, por lo tanto, es una guía útil para determinar la vida potencial del fruto durante el almacenamiento (Wills & Golding, 2016). En efecto, la tasa de respiración se ve afectada principalmente por la temperatura, la composición atmosférica, el daño mecánico y varía entre las frutas y su etapa de madurez (Montero & Cerdas, 2012).

Un grupo significativo de frutas, presentan una variación del patrón respiratorio en el sentido de que experimenta un aumento pronunciado en la respiración coincidente con la maduración (Wills & Golding, 2016). Tal aumento en la respiración se conoce como climaterio respiratorio. La palta es un fruto que se encuentra dentro de este grupo y, como tal, se caracteriza por un aumento en la tasa de respiración y la producción de etileno al inicio de la maduración. La respiración de la palta sigue tres etapas climatéricas características (mínimo pre climatérico de mínima respiración, máximo climatérico de máxima respiración y post climatérico sinónimo de disminución de la respiración) (Kassim *et al.*, 2013). En comparación con otras frutas climatéricas, este fruto produce grandes cantidades de etileno ($80-100 \mu L kg^{-1} h^{-1}$ a $20^\circ C$) al madurar y usan a los azúcares del tipo C_7 (Manoheptulosa y perseitol) en lugar de azúcares C_6 (Glucosa, fructosa, sacarosa) como principales sustratos respiratorios (Liu *et al.*, 1999; Landalh *et al.*, 2009 y Hernández *et al.*, 2016).

b. Maduración del fruto

La maduración es un proceso complejo que implica la participación de diferentes vías metabólicas, como las enzimas modificadoras de la pared celular y las enzimas de biosíntesis de etileno que requieren energía. El proceso de maduración puede verse afectado por muchos factores, incluidos: movimiento del agua, fitohormonas, nutrición mineral, carbohidratos y enzimas de maduración (Hernández *et al.*, 2016).

Como fruta climatérica, la maduración de la palta se caracteriza por un aumento en la tasa de respiración acompañado por un aumento en la producción de etileno. Los cambios que se evidencian durante el proceso de maduración son: el ablandamiento de la fruta realizado por celulasa, pectina metil esterasa (PME), poligalacturonasa (PG), β -galactosidasa, xilanasas y xilosidasas; los cambios en el color de la cáscara de las paltas cv. Hass de verde a negro y la síntesis de los compuestos de sabor y aroma (Obenland *et al.*, 2012 y Bill *et al.*, 2014). Por otro lado, si tras su recogida se expone a la palta a una temperatura de 20 °C normalmente necesitarán entre 7 y 12 días para madurar, dependiendo de la temporada de cosecha y el proceso de maduración será heterogénea en cada lote. Sin embargo, el uso de etileno puede acortar el tiempo de maduración entre 3 a 5 días y, lo más importante, puede mejorar la uniformidad de la maduración en cada lote (Kader & Yahia, 2011).

c. Transpiración y pérdida de peso

En frutas y verduras recolectadas, la transpiración no es deseable, debido a que la pérdida de agua no podrá compensarse cuando los productos no están adheridos a la planta y por lo tanto resultará en la deshidratación del producto. La pérdida de agua induce a un estrés hídrico en los tejidos de las frutas y verduras. Este estrés hídrico puede aumentar o acelerar la senescencia de los frutos, probablemente debido a una mayor tasa de desintegración de la membrana celular y fuga de solutos (Díaz-Pérez, 2019). La transpiración postcosecha provoca pérdida de turgencia celular que se manifiesta por ablandamiento de los productos, marchitamiento, pérdida de brillo, cambios de color en la epidermis; pérdidas cuantitativas directas expresada en pérdida de peso comerciable y pérdidas de la calidad nutricional y sensorial (Bouzo & Gariglio, 2016).

El agua se puede transpirar del producto a través de la cutícula (transpiración cuticular), las estomas (transpiración estomática) y las superficies suberizadas (transpiración peridérmica) (Larcher, 2003). En muchas frutas, la mayor parte de la transpiración es cuticular porque la piel de la fruta tiene pocas estomas. La epidermis de frutas y verduras juega un papel importante en el intercambio de gases entre el producto y el aire circundante (Díaz-Pérez *et al.*, 2007).

La transpiración postcosecha está determinada por factores ambientales (temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento) y factores biológicos o intrínsecos del producto (forma de la fruta, relación superficie/peso, daños superficiales y estado de madurez) (Díaz-Pérez, 2019).

2.3. ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN

El almacenamiento en refrigeración es el método más convencional utilizado para productos frescos como las frutas y hortalizas. Estas deben manipularse y almacenarse a la temperatura de almacenamiento recomendada. Cuando la fruta cosechada llega a las instalaciones de envasado o procesamiento, su temperatura interna (calor de campo) generalmente está unos pocos grados por encima de la temperatura ambiente, y debe reducirse lo antes posible para estabilizar la fruta (Montero & Cerdas, 2012). El almacenamiento a baja temperatura reduce la tasa de respiración y la producción de etileno, lo que resulta en tasas metabólicas retardadas y una vida útil prolongada (Pérez *et al.*, 2004; Hofman *et al.*, 2013 y Kasim *et al.*, 2013). Al mismo tiempo, la mayoría de los productos frescos requieren condiciones de alta humedad relativa durante el almacenamiento para conservar su calidad. En cambio, una baja humedad relativa afecta sobre la textura y apariencia que se atribuye a la pérdida de agua (Blakey *et al.*, 2014) y una humedad alta puede promover el desarrollo de descomposición, especialmente si la humedad se condensa en la fruta (sudoración) por largos períodos de tiempo y cuando las temperaturas fluctúan durante el transporte (Bill *et al.*, 2014).

La vida postcosecha de la palta se prolonga en el almacenamiento en frío al mantener los parámetros generales de calidad, como la textura, el sabor y la composición nutricional durante la cadena de suministro y su vida útil se acorta a temperaturas más altas. El almacenamiento a baja temperatura ralentiza el aumento climatérico en la producción de CO₂ y C₂H₄ que ocurre durante la maduración. Se recomiendan varias temperaturas para extender la vida útil de la palta que varían de aproximadamente de 5 a 13 ° C (Thompson, 2010 citado por Bill *et al.*, 2014). La temperatura óptima de almacenamiento también depende de la madurez y de la etapa fisiológica del desarrollo del fruto; por ejemplo, la palta recién recolectada a principios de la temporada es mucho más susceptible a las bajas temperaturas de almacenamiento y es más probable que sufra daños por frío y se almacena mejor a 7.5 °C (Kritzinger & Kruger, 1997). Por su lado, Swarts (1984) citado por Bill *et al.*

(2014) recomendó el almacenamiento a 5-6 °C durante 28 días para 'Fuerte' y 'Hass', ambos cultivares no antillanos, antes de la aparición de trastornos fisiológicos, además propone almacenar la fruta de temporada temprana a temperaturas más altas (7.5 °C) y la fruta de temporada media y tardía a 5.5 °C o incluso menos.

Con respecto a la humedad relativa, se recomienda almacenar las paltas de 85 a 90 por ciento de HR para evitar la pérdida de peso y la desecación de la piel. La pérdida de peso está directamente relacionada con la pérdida de agua, que ocurre a través de los estomas, la cicatriz del tallo y la cutícula. La cantidad de pérdida de agua depende de la composición y grosor de la cutícula, que varía según los cultivares y la etapa de maduración (Kader & Yahia, 2011).

2.4. DAÑO POR FRÍO

El almacenamiento de la fruta en condiciones de frío es una tecnología generalizada que tiene la finalidad de evitar el deterioro rápido y preservar la calidad. Sin embargo, algunos productos son sensibles a sufrir daños por frío, desencadenando una serie de síntomas que disminuyen irreversiblemente la calidad externa e interna (Valenzuela *et al.*, 2017).

El daño por frío se refiere a un síndrome que involucra alteraciones fisiológicas, así como los síntomas característicos y reconocibles de la fruta almacenada en frío. El tipo y la incidencia de esta fisiopatía varía según la especie, el cultivar, la temperatura, tiempo de exposición al almacenamiento en frío y otros factores, incluidas las condiciones de cultivo (Wang, 1994). En general, los cambios del daño por frío ocurren a nivel celular, incluyendo alteraciones de la estructura de la membrana, plasmólisis celular y aumento de la fuga de electrolitos (Kratsch & Wise, 2000). Otros cambios implican alteraciones en el metabolismo, incluidos niveles más altos de producción de etileno y la acumulación de compuestos anormales como malonaldehído (MDA) en respuesta a la respiración anaeróbica o daño oxidativo (Megias *et al.*, 2015). Por tanto, las bajas temperaturas inducen un desacoplamiento en la cadena respiratoria, dando lugar al estrés oxidativo (Vanlillerberghe, 2013).

El estrés oxidativo se inicia con una producción elevada de EROS como resultado de diferentes eventos como la fotosíntesis, la respiración, la fotorrespiración y el estallido oxidativo, que ocurren en diferentes localizaciones celulares (De Río & López, 2016). Algunos de estas moléculas (EROS) incluyen al anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, óxido nítrico y peroxinitrito, si estas moléculas incrementan en cantidades exacerbadas, como ocurre bajo estreses bióticos y abióticos, estimulan una reacción con los lípidos de la membrana, induciendo la peroxidación, lo que conduce a la degradación y pérdida de la integridad de la membrana, dando como producto la acumulación de malonaldehído (MDA). Ante este evento fisiológico se genera una respuesta que incluyen cambios metabólicos a nivel bioquímico y molecular como la inducción de los mecanismos enzimáticos y no enzimáticos de la defensa antioxidante (Choudhury *et al.*, 2017). Así, por ejemplo, los aniones superóxido son desintoxicados por la enzima superóxido dismutasa (SOD), que produce peróxido de hidrógeno que puede ser eliminado por catalasa (CAT) y varias peroxidasas (POD).

En cuanto a los antioxidantes no enzimáticos, existen varios metabolitos en las plantas como los carotenoides, los compuestos fenólicos, el ascorbato y el glutatión que actúan como captadores de EROS (Mittler *et al.*, 2004). Asimismo, en tejidos con una alta tasa de respiración, como la fruta en desarrollo, además de los mecanismos de eliminación de EROS, la oxidasa alternativa mitocondrial (AOX) proporciona un flujo de electrones alternativo. Esta actividad puede reducir la producción de EROS en situaciones en las que la cadena de transporte de electrones está saturada o sufre algún daño (Vanlerberghe, 2013). No obstante, si el estrés oxidativo continúa y el sistema de defensa es superada puede ocurrir daño celular irreversible y luego muerte celular (Toivonen, 2004).

Por otro lado, la formación de radicales libres, en ciertos niveles, es un proceso normal e inevitable que no causa estrés oxidativo en las células ya que estas se protegen a través de una serie de mecanismos de defensa antioxidante. Cabe resaltar que el estrés en frutas y verduras puede detectarse directamente como acumulación de EROS, MDA y la aparición de pigmentos marrones añadidos a una mayor fuga de electrolitos o indirectamente como cambios en los sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Toivonen, 2004).

2.5. DESÓRDENES FISIOLÓGICOS EN PALTA

Los trastornos fisiológicos implican la descomposición del tejido vegetal que no es causado directamente por plagas y enfermedades ni por daños mecánicos (Wills & Golding, 2016). La mayoría de las frutas y vegetales de origen tropical y subtropical tales como: palta, cítricos, banana, mango y otros son muy sensibles a las bajas temperaturas de almacenamiento, mostrando un trastorno fisiológico conocido como daño por frío (Montero y Cerdas, 2012).

Con respecto a la palta, esta es afectado por una amplia gama de trastornos fisiológicos y la mayoría de estos ocurren después de largos períodos de almacenamiento a temperaturas menores de 5 °C (dos a cuatro semanas, dependiendo del cultivar) (Zentmyer, 1984 mencionado por Bill *et al.*, 2014). Los síntomas principales asociados con la lesión por frío son: decoloración de la piel, pardeamiento de la pulpa y de las fibras vasculares (marrón o grisáceo). Otros trastornos que ocurren son: la falta de pérdida de firmeza, maduración incompleta, producción reducida de etileno, cambios en el patrón respiratorio, malos olores, sabores desagradables, picaduras y oscurecimiento de la piel (Montero & Cerdas, 2012). A continuación, se detallará los trastornos fisiológicos internos de la palta.

2.5.1. PARDEAMIENTO DE PULPA

El pardeamiento de pulpa es conocido también como pardeamiento interno y es un trastorno fisiológico significativo de la palta que aparece como una decoloración con márgenes mal definidos (Van Rooyen & Bower, 2006). Yahia & Wolf (2011) añaden que la mancha a nivel de pulpa es un trastorno de baja temperatura y se observa casi exclusivamente en la palta de la variedad Fuerte, como pequeñas manchas oscuras en la pulpa o mesocarpio y el ennegrecimiento de una región que rodea los haces vasculares cortados.

Por su parte, Bower & Cutting (1988) mencionan que en la mancha pulpar como en la decoloración del mesocarpio implican reacciones de ennegrecimiento, que inciden particularmente la enzima polifenoloxidasas (PPO) y los fenólicos. Según Cutting *et al.* (1992), el pardeamiento de pulpa es fundamentalmente un desorden asociado al almacenaje refrigerado, incrementándose el problema en fruta almacenada a 5,5 °C cosechada

tardíamente, o bien puede presentarse en frutas con cosechas tardías y maduras directamente después de la cosecha.

2.5.2. PARDEAMIENTO VASCULAR

El pardeamiento vascular fue descrito por Florissen *et al.* (1996) como una decoloración del mesocarpio con endurecimiento de los filamentos vasculares y un desarrollo desagradable. Los primeros síntomas, generalmente, aparecen en la porción distal del fruto como un punteado, pudiendo extenderse a lo largo de la pulpa en casos severos (Lizana *et al.*, 1992 y Hofman *et al.*, 2000). De modo similar, Hofman *et al.* (2013) afirman que el pardeamiento vascular se asocia con pudriciones del extremo del tallo, excepto que el origen es desde el extremo del tallo de la fruta, mientras que el pardeamiento vascular fisiológico (debido a daño por frío) comienza en el extremo distal de la fruta y se puede asociarse con largos tiempos de almacenamiento en frío y / o temperaturas de almacenamiento demasiado baja.

2.6. SISTEMA DE DEFENSA ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA

2.6.1. CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos isoprenoides lipofílicos pertenecientes al subgrupo de tetraterpenoides que contienen 40 carbonos en sus cadenas principales de polieno con dobles enlaces y anillos conjugados en los extremos. Los enlaces dobles ampliamente conjugados permiten que los carotenoides absorban la luz visible, produciendo colores amarillo, naranja y rojo que los convierten en los pigmentos más visibles en las plantas (Sun *et al.*, 2018).

Se sintetizan en todos los organismos fotosintéticos (bacterias, algas y plantas), así como en algunas bacterias y hongos no fotosintéticos. Se ha informado que los carotenoides además de la función esencial de fotoprotectores y antioxidantes, actúan como sensores tras la oxidación por radicales libres (Nisar *et al.*, 2015). Su actividad antioxidante se fundamenta en su estructura de dobles enlaces conjugados, la estereo-estructura y los grupos funcionales en la molécula de carotenoides que exhiben un nivel de energía triple más cercano al del oxígeno singlete y por lo tanto la eficiencia de extinción mejorada. Además, los carotenoides

permiten deslocalizar los electrones actuando como neutralizadores de radicales libres (Edge & Truscott, 2010).

Los carotenoides se pueden clasificar en dos grupos sobre la base de grupos funcionales; xantofilas, que contienen oxígeno como grupo funcional, incluidas luteína y zeaxantina, y carotenos, que contienen solo la cadena de hidrocarburos progenitora sin ningún grupo funcional, como el α -caroteno, el β -caroteno y el licopeno (Saini *et al.*, 2015). En la mayoría de las frutas y verduras, el β -caroteno es generalmente dominante en comparación con su isómero geométrico α -caroteno. En el caso de las xantofilas, la luteína es la más abundante constituyendo entre un 40 - 45 por ciento (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017). Las fuentes de alimentos de los cuatro carotenoides principales se enumeran en la Tabla 4.

Tabla 4: Fuente de alimentos y plantas de los cuatro carotenoides principales

Fuente	Contenido de carotenoides (mg/100 g)		
	β -caroteno	Luteína + Zeaxantina	Licopeno
Albaricoque	6.640	ND	0.065
Manzana	0.031-0.072	-	0.209
Espárragos	0.493	-	-
Palta	0.053	-	-
Broccoli	0.779	2.445	ND
Col	0.140	-	ND
Zanahoria	6.5-21	-	-
Coliflor	0.130	-	-
Apio	0.770	-	-
Col rizada china	4.090	-	ND
Cebollín	0.830	-	ND
Maíz	0.030	0.884	0

FUENTE: Khoo *et al.* (2011)

a. Biosíntesis de carotenoides

La biosíntesis de carotenoides ocurre en los plástidos, que son cloroplastos en el caso de los tejidos verdes o cromoplastos en el caso de los tejidos amarillos o rojos (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017). Los carotenoides se forman a partir de isopentenil difosfato (IPP), un compuesto de cinco carbonos y el dimetilalil difosfato (DMAPP) (Figura 3). Estos

compuestos forman geranylgeranyl difosfato (GGPP) que a su vez forma fitoeno a través de la actividad de *fitoeno sintasa (PSY)*. A partir del fitoeno (incolore), por incorporación de dobles enlaces conjugados a través de cuatro reacciones de desaturación con la participación de *fitoeno desaturasa (PDS)* ζ -caroteno isomerasa (*ZISO*), ζ -caroteno desaturasa (*ZDS*) y *caroteno isomerasa (CRTISO)* se genera licopeno (Hadjipieri *et al.*, 2017).

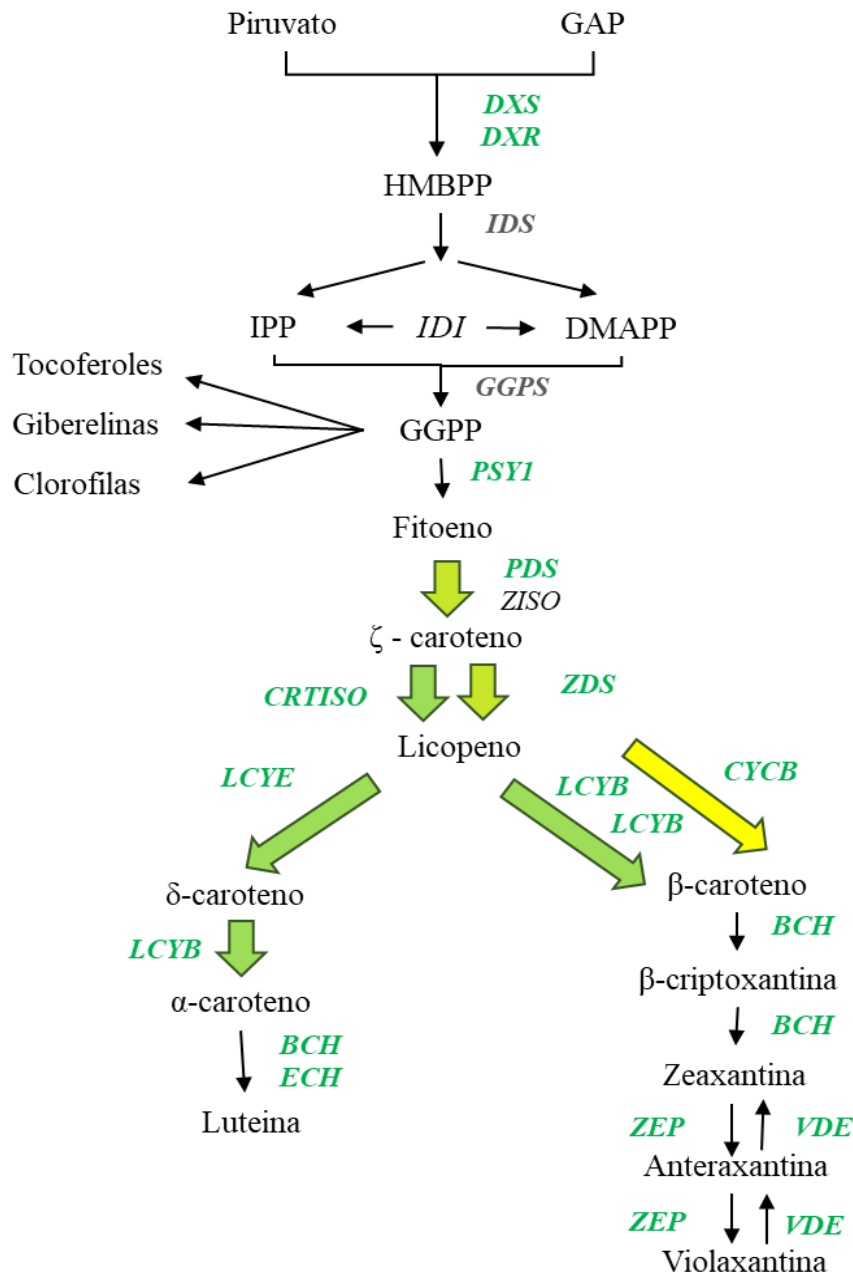


Figura 3: Vía metabólica para la síntesis de carotenoides

FUENTE: Hadjipieri *et al.* (2017)

Para dar lugar al resto de carotenoides, el licopeno es ciclado con ϵ -ciclasas de licopeno (ϵ -LCY) y β -ciclasas de licopeno (β -LCY) para formar δ caroteno y γ -caroteno, respectivamente, es el punto de ramificación clave en la biosíntesis de carotenoides. En una rama, una sola enzima, β -LCY, introduce un anillo de β -ionona en ambos extremos del licopeno para formar β -caroteno. Sin embargo, en la otra rama, que conduce a la luteína, se requiere ϵ -LCY y β -LCY para introducir un anillo de ionona y uno ϵ - en el licopeno para formar α -caroteno (Send & Sundholm, 2007 citado por Saini *et al.*, 2015). A continuación, la hidroxilación del α -caroteno da lugar a la xantofila amarilla y luteína. Por otro lado, las hidroxilaciones del β -caroteno dan resultado a diferentes xantofilas (zeaxantina, neoxantina, violaxantina) (Sun *et al.*, 2018).

2.6.2. TOCOFEROLES

Los tocoferoles y los tocotrienoles, conocidos colectivamente como tococromanoles, son antioxidantes lipofílicos que pertenecen al grupo de los compuestos de vitamina E (Lushchak & Semchuk, 2012). Su estructura básica es simple, que comprende un anillo de cromanol polar y una cadena lateral de polifenilo hidrófobo, productos de las rutas shiquimako y L-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) (Munné & Alegre, 2002). Los tococromanoles con una cadena lateral completamente saturada se denominan tocoferoles y aquellos con una cadena lateral no saturada son los tocotrienoles. El número y la posición de los grupos metilo en el sistema de anillo de cromanol define las cuatro subformas naturales α , β , γ y δ -tocoferol y tocotrienol (Figura 4) (Falk & Munné, 2010).

Son sintetizados exclusivamente por organismos fotosintéticos incluyendo plantas, algas y algunas cianobacterias. El contenido, la composición y la presencia de tocoferoles varía ampliamente en los diferentes tejidos vegetales y según varios estudios la concentración de estos compuestos se incrementa, debido a la exposición de las plantas a determinados tipos de estreses como la salinidad, bajas temperaturas, la alta intensidad lumínica y sequía (Munné & Alegre, 2002). Se pueden encontrar en semillas, frutas, raíces y tubérculos y generalmente están presentes en las partes verdes de las plantas superiores (Falk & Munné, 2010).

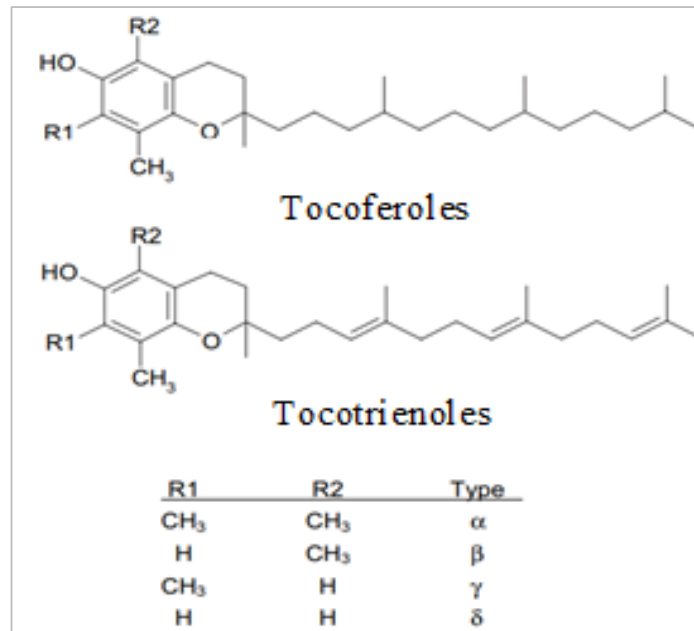


Figura 4: Estructuras de los tocoferoles y tocotrienoles . El número y la posición de los grupos metilo en el anillo de cromanol de α -, β -, γ - y δ -tococromanoles se indican en la tabla insertada.

FUENTE: Falk & Munné (2010)

a. Biosíntesis de los tocoferoles

La biosíntesis de tocoferoles (Figura 5) se inicia en el citoplasma, pero a excepción de este primer paso, su síntesis ocurre en los tejidos fotosintéticos de las plantas, específicamente en los plastidios donde se encuentran la homogentísico fitil transferasa (HPT) y tocoferol ciclasa (TC), las cuales son enzimas que se localizan en la envoltura interna o en los plastoglobulos. Para que la síntesis de tocoferoles se lleve a cabo son necesarios dos precursores, el ácido homogentísico (HGA) y fitil difosfato (PDP) que son obtenidos mediante la vía del siquimato y MEP, respectivamente (Lushchak y Semchuk 2012).

La primera reacción en la ruta de biosíntesis de los tocoferoles es la fusión de dos sustratos, PDP con HGA mediado por la enzima HPT a 2-metil-6-fetil-1,4-benzoquinol (MPBQ), precursor principal de todos los tocoferoles (Lushchak y Semchuk, 2012). MPBQ, a su vez, sirve como sustrato para el tocoferol ciclasa (TC) o la metiltransferasa MPBQ. MPBQ metiltransferasa metila MPBQ a 2,3-dimetil-6-fetil-1,4-benzoquinona (DMPBQ), mientras

que el tocoferol ciclasa transforma tanto MPBQ como DMPBQ en γ - y δ -tocoferol, respectivamente. Por último, la enzima γ -tocoferol metiltransferasa (γ -TMT) cataliza la conversión de γ - a α -tocoferol y de δ - a β -tocoferol (Fritsche *et al.*, 2017).

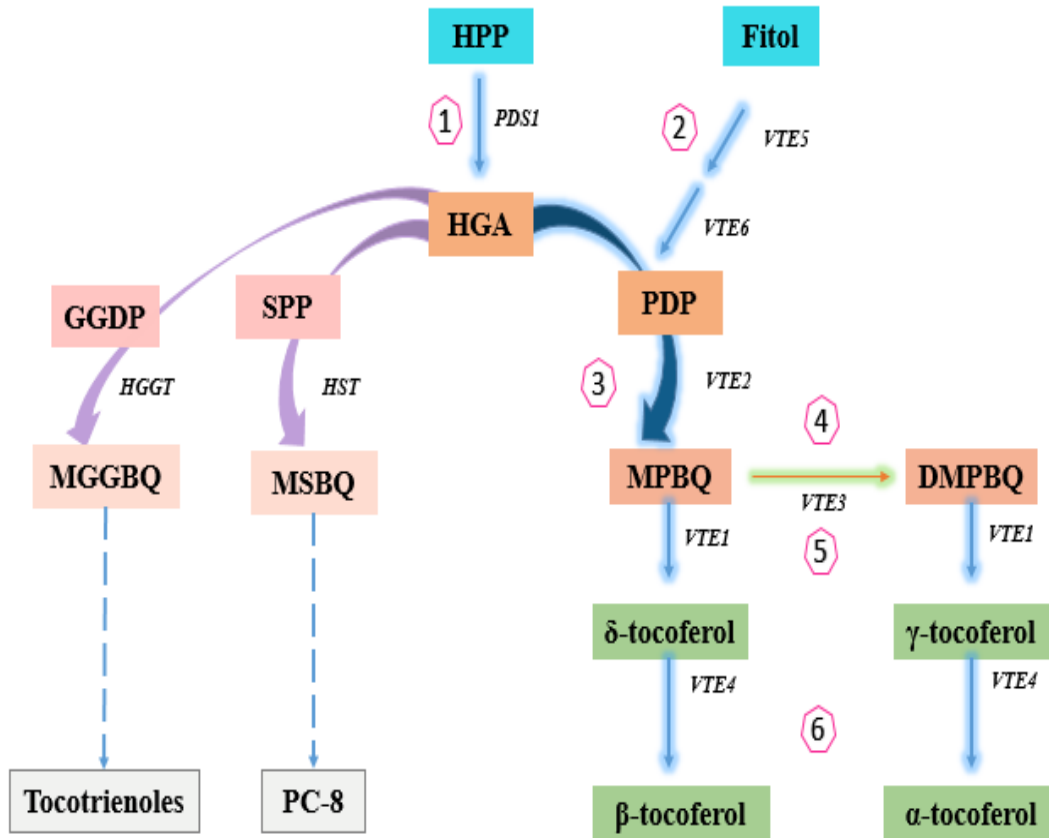


Figura 5 : Biosíntesis simplificada de los tocoferoles

FUENTE: Fritsche *et al.* (2017)

2.7. FITOESTEROLES

Los fitosteroles, pertenecientes a la familia de los lípidos, son miembros de la familia de los triterpenos: están compuestos de una estructura tetra cíclica de 28 a 29 átomos de carbono, una cadena lateral larga en el átomo de carbono C-17 y /o un doble enlace, lo que contribuye a la gran variedad de estas estructuras en la naturaleza (Moreau *et al.*, 2018; Piironen *et al.*, 2000 y Da Silva *et al.*, 2015). Se diferencian del colesterol por tener un grupo metil o etil en el C-24 (Moereau *et al.*, 2002).

Los fitoesteroles se encuentran como esteroides libres o formas conjugadas, pero están más comúnmente presentes en forma libre anclados en la membrana plasmática de todos los tejidos y regulan la fluidez y la permeabilidad de las bicapas de fosfolípidos (Piironen *et al.*, 2000). Hay algunos conjugados en los que el grupo 3 β -hidroxilo del esteroide libre se esterifica a un ácido graso o un ácido hidroxicinámico, o se glucosila con un azúcar hexosa (generalmente glucosa) (Uddin *et al.*, 2014). Hasta ahora, se han identificado más de 250 compuestos. Entre los fitoesteroles más comúnmente encontrados se encuentran el β -sitosterol (C-29), el campesterol (C-28) y el estigmasterol (C-29), que contribuyen hasta el 98% de la ingesta dietética de fitosterol en la dieta humana (Figura 6) (Da silva *et al.*, 2015).

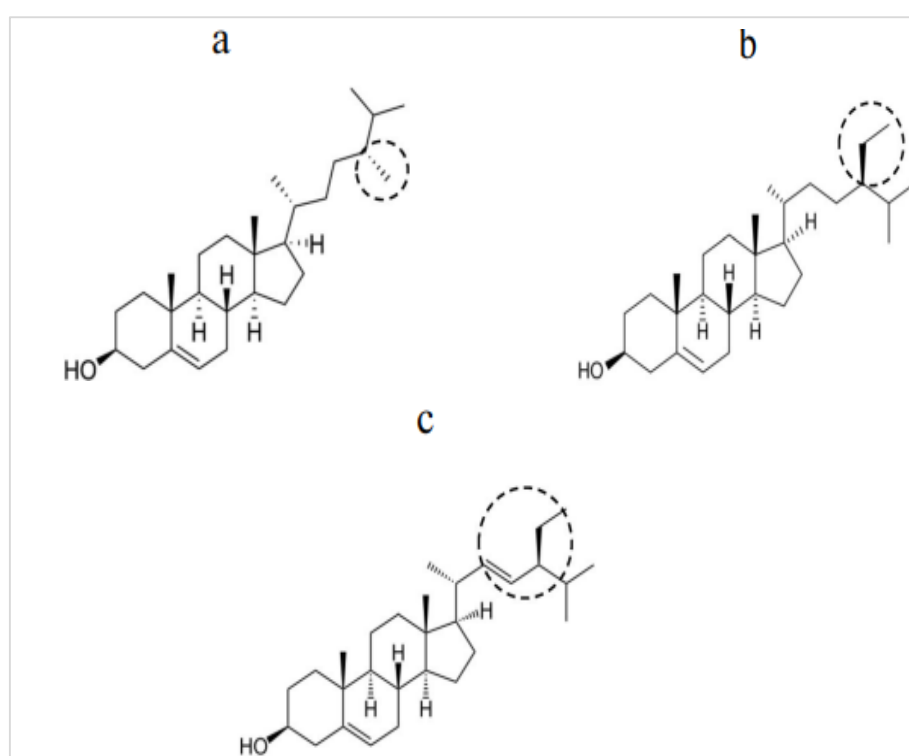


Figura 6: Estructuras de esteroides vegetales: a) Campesterol, b) β -sitosterol y c) estigmasterol.

FUENTE: Valitova *et al.* (2016)

Los fitoesteroides están presentes en las plantas en cantidades que varían desde 0,01 al 0,1 % de peso fresco (PF) que corresponde de 100-1000 mg de esteroides totales/kg PF (Neelakandan *et al.*, 2012 citado por Miras-Moreno *et al.*, 2016). Los fitoesteroides se encuentran en variedades de semillas, legumbres, verduras y aceites vegetales. Los

productos de cereales son una fuente importante de esteroides vegetales, y su contenido, expresado en base al peso fresco, es mayor que en las verduras (Lagarda *et al.*, 2006).

a. Biosíntesis de los fitoesteroides

Los fitoesteroides son compuestos isoprenoides sintetizados a partir de isopentil difosfato (IPP) (Piironen *et al.*, 2000). Se derivan por dos vías: la vía plastidial metileritritol-4-fosfato (MEP) o la vía del mevalonato (MVA), que se localiza en el citosol, el retículo endoplásmico y peroxisomas (Uddin *et al.*, 2015).

Miras-Moreno *et al.* (2016) indica que los fitosteroides generalmente se sintetizan a través de la vía citoplasmática de MVA que implica la unión de acetil-CoA y acetoacetil-CoA para formar 3-hidroxi-3 metilglutarilCoA (HMG-CoA), que es el precursor de MVA formado por la enzima 3- hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMGR). El MVA es fosforilada en MVA-5-difosfato por las enzimas MVA quinasa y fosfo-MVA-quinasa. El MVA-5-difosfato en presencia de ATP (trifosfato de adenosina) se descarboxila para formar IPP. La IPP isomerasa cataliza la isomerización de IPP a DMAPP y la condensación de dos moléculas de IPP para formar GPP (geranil difosfato). GPP se condensa con otra molécula de IPP y crea farnesil difosfato (FPP) de 15 carbonos. Finalmente, dos moléculas de farnesil difosfato se reducen por reacción enzimática para formar el escualeno que continúa su camino hacia la biosíntesis de fitosteroides (Lozano *et al.*, 2018).

Los dos primeros pasos en la biosíntesis de fitosterol implican la transformación de FPP a escualeno y la formación de 2,3-oxidosqualeno en dos reacciones catalizadas por escualeno sintasa (SS) y epoxidasa (SO), respectivamente. Luego, la cicloartenol sintasa (CAS) produce la ciclación del 2,3-oxidosqualeno para formar cicloartenol. Este se metila, lo que da como resultado 24-metilen cicloartanol, que se convierte en 24-metilenofenol a través de varias reacciones enzimáticas. El siguiente paso es la transformación de 24-metilenofenol en 24-etilenofenol que es el precursor del avenasterol, dando lugar a fucosterol, β -sitosterol y estigmasterol, consecutivamente. La otra rama de esta vía consiste en la conversión de 24 metilenofenol en campesterol a través de cuatro pasos enzimáticos (Figura 7) (Miras-Moreno *et al.*, 2016).

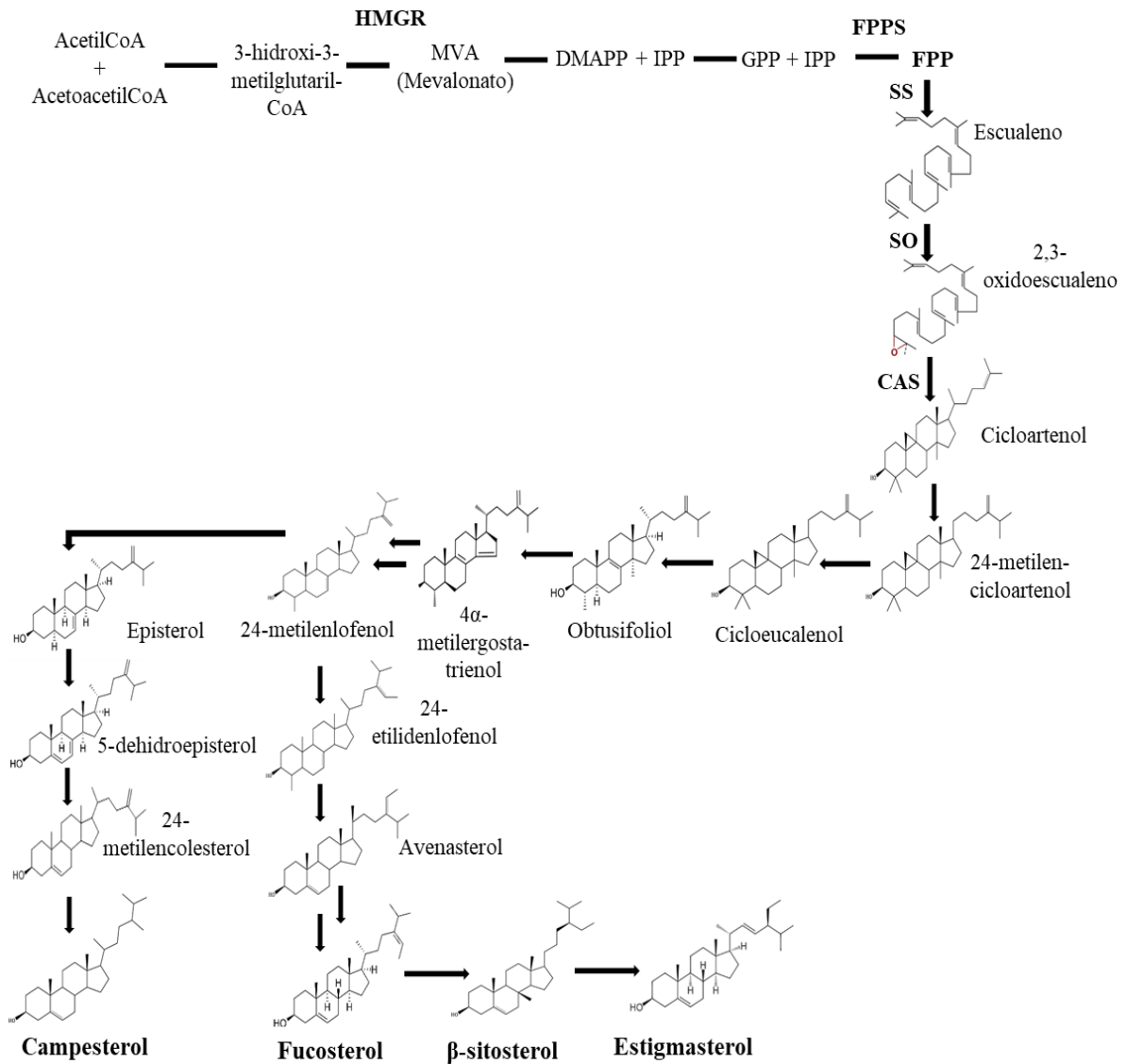


Figura 7: Vía metabólica de los fitoesteros en plantas.

FUENTE: Miras-Moreno *et al.* (2016)

2.8. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los antioxidantes son capaces de realizar una serie de funciones que actúan como captadores de radicales libres, descomponedores de peróxido, desactivadores de oxígeno singlete y triplete, inhibidores de enzimas y sinergistas (Wang, 2006). Los diferentes componentes antioxidantes que se encuentran en las frutas brindan protección contra los radicales libres dañinos y han sido útiles para prevenir diversas enfermedades humanas (Ames *et al.*, 1993). La actividad antioxidante denota la capacidad de un compuesto bioactivo para mantener la

estructura y función celular eliminando eficazmente los radicales libres, inhibiendo las reacciones de peroxidación de lípidos y previniendo otros daños oxidativos (Bravo, 1998 citado por Zou *et al.*, 2016). La capacidad antioxidante total de los extractos de plantas está influenciada por su composición química y contenido de antioxidantes. Los diferentes componentes de los extractos de plantas contribuyen de manera desigual a su capacidad antioxidante total (Zou *et al.*, 2016).

Los mecanismos de acción antioxidante incluyen servir como: barreras físicas para prevenir la generación de EROS o el acceso de EROS a sitios biológicos importantes; trampas / sumideros químicos que "absorben" energía y electrones, apagando EROS (carotenoides, antocianidinas); sistemas catalíticos que neutralizan o desvían EROS (enzimas antioxidantes SOD (superóxido dismutasa), catalasa y glutatión peroxidasa; unión / inactivación de iones metálicos para prevenir la generación de EROS (ferritina, ceruloplasmina, catequinas) y antioxidantes rompecadenas que eliminan y destruyen EROS (ejm. ácido ascórbico, tocoferoles, ácido úrico, glutatión, flavonoides) (Benzie, 2003 y Karadag *et al.*, 2009). La clasificación del sistema antioxidante corresponde a dos grupos: enzimático y no enzimático.

Dentro del grupo de sistema de defensa no enzimático se encuentran los fitoquímicos, responsables de la actividad antioxidante que pueden atribuirse en gran medida a compuestos fenólicos como antocianinas, y a otros compuestos flavonoides, carotenoides, entre otros; estos se pueden dividir en dos fracciones, lipofílica e hidrofílica. Los antioxidantes lipofílicos incluyen principalmente carotenoides y tocoferoles, entre otros (Wang, 2006).

Los carotenoides son antioxidantes lipofílicos, cuyo mecanismo antioxidante se basa en el atrapamiento de oxígeno singulete o de las moléculas que lo forman, siendo estas no tan eficientes para el atrapamiento de radicales libres. Estos metabolitos tienen la habilidad de interactuar y atrapar radicales como el peroxilo y otros que pueden ser generados en las células (Rodríguez-Amaya, 2010 y Jomova & Valko 2013). Con respecto a la actividad antioxidante de los tocoferoles resulta de su reacción química directa con componentes reactivos como radicales libres de lípidos, especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (Della Penna, 2005). La palta posee una alta capacidad antioxidante lipofílica comparado con la mandarina, los arándanos, frambuesas y las moras (Wang, 2006).

III. METODOLOGÍA

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La siguiente investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto de Biotecnología (IBT) - Área Biotecnología Industrial & Bioprocesos de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2. MATERIA PRIMA

Se utilizaron 100 paltas (*Persea americana*) de la variedad Hass, realizándose un muestreo al azar a partir de 10 árboles de palto del campo de cultivo del Programa de Investigación y Proyección Social de Frutales de la Universidad Nacional Agraria La Molina. La cosecha se realizó en el mes de junio del 2019.

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1. MATERIALES

- Material de vidrio: Matraces Erlenmeyer, matraces Kitasato, embudos de Buchner, probetas graduadas, tubos de ensayo, placas Petri, vasos precipitados, entre otros.
- Material de plástico: Tubos de centrifuga de 15 mL y 50 mL, tubos de microcentrífuga de 5mL y 2 mL, microtubos de 1 mL y punta de pipetas.
- Otros materiales: Tela organza, bolsas ziploc, cuchillos, tabla, mortero, espátulas, magnetos, filtros, papel filtro Whatman y otros.
- Termómetros y Micropipetas de 20-200 μ L, 100-1000 μ L y 5000 μ L

3.3.2. EQUIPOS

- Agitador magnético (CAT, modelo M6, Alemania)
- Analizador de gas CO₂ y O₂ (Witt, modelo OXYBABY, Alemania)
- Balanza analítica (OHAUS, modelo AR2140, EE. UU)
- Balanza de precisión (OHAUA, modelo SC4010, China)
- Baño maría con agitación (GFL, modelo 1083, Alemania)
- Campana extractora (C4, MID-Monitor, Colombia)
- Centrífuga de mesa (Hettich, modelo rotofix 32 A, Alemania)
- Centrífuga refrigerada (Hettich, Mikro 220R, Alemania)
- Congeladora (Electrolux, modelo H300, Brasil)
- Cromatógrafo de fase líquida de Alta Performance (HPLC) (Waters Associates. Modelo 2695) con detector de arreglo de diodos (DAD) (modelo 2996) y detector de fluorescencia (modelo 2475) (Waters, EE. UU.)
- Cromatógrafo de gases (GC) (Thermo scientific, modelo Trace 1310, Milan-Italia) con detector de masas (MS/MS) (Thermo scientific, modelo TSQ 8000 Evo, USA)
- Equipo de Soxhlet
- Espectrofotómetro (Thermo Spectronnic, modelo Genesys 10 UV-Vis)
- Espectrómetro de masa (GC MS/MS) (ThermoScientific, modelo TRACE 1310, Italia)
- Estufa al vacío (VWR, modelo 1400E-2, EE. UU)
- Molino básico de análisis (IKA, modelo A11 basic, Alemania)
- Penetrómetro (Fruit Pressure Tester, Modelo FT327, Italia)
- Rotavapor de laboratorio (Heidolph, LABOROTA 4000eco, Alemania)
- Selladora de bolsas (Machintek®, modelo KF-300H, EE. UU.)
- Sistema de cámara refrigerada
- Ultrasonido-Homogenizador (Branson, sonifier SFX550/Traditional Converter)
- Vórtex (CAT, modelo VM2, Alemania).

3.3.3. REACTIVOS

- ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico))
- Acetona (p.a. J.T. Baker, EEUU)

- BHT (Sigma-Aldrich, EEUU)
- Carbonato de sodio (Merck, Alemania)
- Diclorometano (Merck, Alemania)
- Estándar 5 α -colestanol C8003 (Sigma, Israel)
- Estándar de campesterol (Sigma, USA)
- Estándar de estigmasterol 52424 (Sigma, Suiza)
- Estándar de α -tocoferol 258024 (Sigma, Alemania)
- Estándar de β -sitosterol 51270 (Sigma, USA)
- Estándar de β -tocoferol (Supelco, USA)
- Estándar de γ -tocoferol (Supelco, USA)
- Estándar de δ -tocoferol (Supelco, USA)
- Etanol (J.T. Baker, EEUU)
- Éter de petróleo (J.T. Baker, USA)
- Hexanos (p.a. J.T. Baker, EEUU)
- Hidróxido de sodio (Merck, Alemania)
- n-Heptano (p.a. J.T. Baker, EEUU)
- n-Hexano (grado HPLC J.T. Baker, EEUU)
- Sulfato de sodio anhidro (J.T. Baker)
- Trolox (Sigma-Aldrich, USA)

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. DETERMINACIÓN DE TASA DE RESPIRACIÓN

Se determinó la tasa de respiración a 23 °C según Castellanos *et al.* (2016), con ligeras modificaciones. Cada palta se colocó y selló herméticamente en recipientes de vidrio de 1.5 L. Las concentraciones de CO₂ (en porcentajes) se midieron a temperatura ambiente al inicio y después de una hora en el espacio de cabeza, con un analizador de gases. Los valores de tasa de respiración fueron obtenidos con la resolución de la siguiente fórmula.

$$TR_{CO_2} \left(\frac{mgCO_2}{Kg * h} \right) = \frac{(CO_{2Frasco} - CO_{2Ambiente})(V_{Frasco} - V_{Palta}) * \rho_{CO_2}}{W_{Palta} * t}$$

Dónde: TR CO₂ es la tasa de respiración, (CO₂Frasco – CO₂Ambiente) es el porcentaje de CO₂ determinado al inicio y después de una hora, (V_{Frasco} – V_{Palta}) es el volumen en mL del espacio de cabeza, W es el peso en Kg de la palta, t es el tiempo de medición en horas y ρ_{CO₂} (1.81mg/mL) es la densidad del anhídrido carbónico a 23°C y 1 atm.

3.4.2. DETERMINACIÓN DE PÉRDIDA DE PESO

La pérdida de peso se determinó periódicamente, de ahí que las paltas fueron pesadas antes y después de cada periodo de almacenamiento en frío a 0, 10, 20 y 30 días, así como cuando alcanzaron su respectiva madurez de consumo en anaquel. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de pérdida de peso en relación con el peso inicial.

3.4.3. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA SECA

La humedad se determinó según el Método 920.151 (AOAC, 1995), por pérdida de peso en estufa a presión de vacío. Se realizó el pesado de la pulpa de palta en placas Petri, aproximadamente 7 g por placa, luego las muestras fueron llevados a la estufa a una temperatura de 70 °C y 25 mm Hg de vacío hasta obtener peso constante. Los resultados fueron expresados en porcentaje y el contenido de materia seca se obtuvo por diferencia con la humedad del 100 por ciento.

3.4.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ACEITE Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

El contenido de aceite se determinó mediante el método de Soxhlet, con éter de petróleo (AOAC,1995). Se pesó 2 g de pulpa deshidratada de palta (ítem 3.4.3), se trituró en un mortero y se colocó en cartuchos elaborados con papel filtro lento. A continuación, el cartucho con la muestra fue llevado a un extractor Soxhlet, donde se mantuvo durante 6 horas de calentamiento a reflujo, utilizando 150 mL de éter de petróleo como solvente de extracción. El contenido de aceite se expresó como porcentaje en base húmeda (b. h.).

Respecto a la determinación del perfil de ácidos grasos de la palta, se utilizó el método reportado por Meurens *et al.* (2005) con ligeras modificaciones. Para empezar, en un tubo

de vidrio se homogenizó 250 mg de aceite extraído con el método de Soxhlet con 5 mL de KOH 0.1 M y se llevó a baño maría a 70 °C por un tiempo de 60 min, con agitación a los 5, 20 y 40 min. Luego, la mezcla se enfrió y se procedió con la metilación de los ácidos grasos, adicionando 2 mL de una solución de HCL 1.2 N en MeOH, se agitó y se volvió a llevar a baño maría a 70 °C durante 20 min, con agitación a los 10 min, seguidamente la mezcla fue enfriada a 4 °C y los ácidos grasos metilados fueron extraídos por partición líquido-líquido con 10 mL de hexano y 5 mL de agua MilliQ, se agitó y se mantuvo en reposo por una noche a 4 °C. Para terminar, a 75 µL de la fase hexano se adicionó 500 µL de estándar interno C11:0 (0.4mg/mL) y se enrasó en una fiola de 5 mL con hexano. La solución fue conservada a -20 °C hasta su análisis en el sistema de GC-FID.

Respecto al análisis cromatográfico, proceso que se llevó a cabo en una columna Agilent Zebron ZB-FAM (0.15 µm, 20 m x 0.18 mm de DI). La temperatura fue programada: inicialmente a 80 °C por 1.5 min y esta fue aumentando secuencialmente hasta 260 °C manteniendo un periodo isotérmico por 2 min. Por otro lado, las temperaturas que se fijaron fueron de 250 y 260 °C tanto para el inyector como el detector, respectivamente. El volumen de inyección fue de 1 µL y se utilizó Helio de alta pureza como gas portador. Los ésteres metílicos de ácidos grasos fueron identificados mediante comparación de sus tiempos de retención con estándares conocidos previamente inyectados y cuantificados mediante curvas estándar (Anexo 1b). Los resultados se expresaron como porcentaje de participación respecto al total de ácidos grasos presentes en el aceite de palta.

3.4.5. DETERMINACIÓN DE FIRMEZA

La firmeza de la palta se midió utilizando un penetrómetro analógico para fruta. El procedimiento consistió en hacer un corte de la cáscara en dos puntos opuestos de la parte ecuatorial del fruto. Posteriormente, se usó el penetrómetro con un puntal de 11 mm de diámetro y se midió el índice de maduración de las paltas cuando estas alcanzaron la madurez de consumo en anaquel, cuya lectura fue en Kgf. Para la transformación de unidades kilogramo-fuerza (Kgf) a las unidades Newton (N), se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Newton (N)} = \text{Kilogramos fuerza (Kgf)} * 9.807$$

3.4.6. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA

La capacidad antioxidante lipofílica se determinó siguiendo el ensayo de TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) mencionado por Arnao *et al.* (2001), utilizando el diclorometano como solvente de extracción. Se pesó aproximadamente 2 g de pulpa de palta, se mezcló y agitó con 15 mL de diclorometano por 30 min en oscuridad y se centrifugó a 4000 rpm durante 5 min a 4 °C, luego se separó el sobrenadante del precipitado y se obtuvo el extracto lipofílico que enseguida fue almacenado en congelación a -20 °C hasta llegado los análisis respectivos. La capacidad antioxidante lipofílica fue determinada, haciendo reaccionar 150 µL de extracto lipofílico con 2850 µL del reactivo ABTS, llevándose a agitación durante 3 horas en oscuridad y finalmente se midió la absorbancia a 734 nm. Los resultados fueron calculados mediante la curva estándar de trolox (Anexo 1a) y la capacidad antioxidante lipofílica fueron expresados como µmol de trolox equivalente por gramo de palta en base seca (µmol TE/g muestra, b.s).

3.4.7. DETERMINACIÓN DE CAROTENOIDES TOTALES

El contenido de carotenoides fue determinado de acuerdo con el método descrito por Talcott & Howard (1999) con algunas modificaciones. Para la extracción se utilizó hexano y BHT como agente antioxidante. En primer lugar, se homogenizó 2 g de palta congelada con 20 mL de una solución de acetona: etanol (1:1, v/v) (a un litro de esta solución se le añadió 200 mg de BHT), seguidamente la mezcla se filtró usando papel Whatman número 4 de paso rápido y la torta se lavó con el solvente hasta su total decoloración. El filtrado se recuperó en tubos de 50 mL y luego se adicionó 10 mL de hexano, se agitó vigorosamente y se dejó reposar la solución por 30 min. Después de transcurrido ese tiempo se añadió 5 mL de agua destilada, se volvió a agitar y se dejó en reposo durante 5 min (separación de fases). Finalmente, se recuperó 5 mL del extracto de hexano (fase superior) y se leyó la absorbancia a 450 nm. Se estableció una curva estándar usando β-caroteno (Anexo 1a). Los resultados fueron expresados en mg de β-caroteno/100g (b.s).

3.4.8. DETERMINACIÓN DE TOCOFEROLES

La composición de tocoferoles se determinó siguiendo la metodología de Amaral *et al.* (2005) con ligeras modificaciones. Previamente se realizó la extracción lipofílica; para ello se homogenizó 2 g de palta fresca pulverizada con nitrógeno líquido con 1 mL de solución de BHT (10 mg en 1 mL de n-hexano) durante 1 min haciendo uso de un vórtex, posteriormente, se añadieron los siguientes reactivos: 4 mL de etanol (agitación 1 min), 8 mL de n-hexano (agitación 1 min) y 4 mL de solución saturada de NaCl (agitación 1 min). Luego la mezcla se centrifugó a 6000 rpm por 5 min a 4°C, se recuperó la capa superior transparente y fue llevado a sequedad bajo nitrógeno gaseoso obteniéndose un extracto lipofílico (aceite). Después, se pesó 50 mg de aceite y fue diluido con 1.5 mL de n-hexano, y esta se secó con sulfato de sodio anhidro (0.5 g), filtrado y transferido a un vial oscuro para el análisis posterior.

La identificación y cuantificación se realizó por HPLC empleando un detector de fluorescencia y una columna de YMC-Pack Silica (3 μ m, 250 mm, 4.6 mm de DI). La fase móvil estuvo compuesta por n-hexano/2-propano/ácido acético (1000/6/5, v/v/v) a un flujo de 1.4 mL/min bajo condiciones isocráticas. Las programaciones del detector de fluorescencia fueron de 290 nm y 330 nm para la longitud de onda de excitación y de emisión, respectivamente. Los tocoferoles fueron identificados y cuantificados por comparación del tiempo de retención con estándares (alfa, beta, gamma y delta tocoferol) (Anexo 2b). Los resultados se expresaron en μ g de tocoferol por g (b.s).

3.4.9. DETERMINACIÓN DE FITOESTEROLES

La composición de fitoesteroles se determinó siguiendo la metodología de Duchateau *et al.* (2002) y da Da Costa *et al.* (2010). En resumen, se saponificaron 100 mg de aceite extraído por el método de Soxhlet con un 1 mL de solución etanólica de KOH a 60 °C por 90 min con agitación, luego se añadió 500 μ L de estándar interno (0.2 mg de β colestanol/mL de n-heptano). A continuación, la fracción insaponificable fue extraída con 1 mL de agua destilada y 5 mL de n-heptano, se recuperó la fracción de heptano y se transfirió a un tubo de 15 mL. Este paso se repitió dos veces con 5 mL y 4 mL de heptano, recuperando la fracción orgánica en el mismo tubo de 15 mL. Los extractos de heptano recuperados se

transfirieron en columnas que contenía sulfato de sodio anhidro y fueron concentrados en el rotavapor, después se realizó dos lavados del balón con heptano y se obtuvo un concentrado de 1 mL que luego fueron filtrados y transferidos a los viales para ser analizados.

La composición de fitoesterol fue determinada por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (GC-FID). Para ello, se utilizó una columna Supelco SACTM-5 (0.2 μm , 30 m, 0.25 mm DI). Los parámetros de programación fueron: temperatura de corrida a 285 °C por 40 min y las temperaturas del inyector y detector fueron de 300°C. El gas empleado como transportador fue Helio, el volumen de inyección de 1 μL . Los esteroides se identificaron y cuantificaron comparando sus tiempos de retención y áreas de picos con los estándares (campesterol, β -sitosterol y estigmasterol (Anexo 2a). Los resultados se expresaron en mg por 100 g (b.s).

3.4.10. MEDIDA DE LAS SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

Para la estimación de las concentraciones de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se utilizó el ensayo del malonaldehído (MDA), determinado de acuerdo al método de Bailly y Kranner (2011) con algunas modificaciones. Brevemente, se homogenizó 0.4 g de pulpa de palta en 6 mL de una solución de agua que contenía ácido tricloroacético al 20 por ciento (p/v) y ácido tiobarbitúrico al 0.5 por ciento (p/v) usando un vórtex durante 20 s, luego se expuso a ultrasonido por 30 segundos. A continuación, el homogenizado se hirvió durante 30 minutos a 95 °C en un baño de agua que luego fueron enfriados inmediatamente en un baño de hielo. Seguidamente se realizó un centrifugado a 6000 rpm durante 15 min a 4 °C. Después de este proceso, se recuperó el sobrenadante y se procedió a medir el volumen para luego ser filtrados. Finalmente, las absorbancias fueron medidas a 532 nm y 600 nm en un espectrofotómetro UV-vis y el contenido de TBARS expresado en equivalentes de malonaldehído (MDA) se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{kg MDA}}{\text{kg de muestra}} = \frac{\text{Abs. Neta} * \text{PM} \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) * V(\text{L}) * \text{FD}}{W(\text{g}) * E \left(\frac{\text{L}}{\text{mol} * \text{cm}} \right) * D(\text{cm})} * 10^6$$

Dónde: Abs Neta = diferencia de la absorbancia a 532 y 600 nm, PM(g/mol) = peso molecular del malonaldehido (MDA), V(L)= volumen final en L después del filtrado, W(g) = peso en g de la pulpa de palta, E = coeficiente de extinción de $155000 \frac{L}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$, D(cm) = diámetro de la cubeta en cm y FD = factor de dilución de 1.

3.4.11. DETERMINACIÓN DE DESÓRDENES FISIOLÓGICOS INTERNOS EN LA PALTA: PARDEAMIENTO DE PULPA Y PARDEAMIENTO DE HACES VASCULARES

La determinación de los desórdenes fisiológicos internos en la palta que corresponden al pardeamiento vascular y pardeamiento de pulpa fueron analizados de acuerdo con la guía fotográfica de los atributos de calidad interna presentado por Agro fórum (2018), en la cual se indica la escala arbitraria de daño, de rango 1 a 5, donde el numero 1 corresponde a frutos en buen estado y los números 2, 3, 4 y 5 indican la intensidad de gravedad del daño (Figura 8).



Figura 8: Escala cuantitativa (E1, E2, E3, E4, E5) de los desórdenes fisiológicos (pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular) en la palta cv. Hass

FUENTE: Agro Fórum (2018)

Los frutos fueron evaluados inmediatamente después del almacenamiento en frío (10 paltas para cada tratamiento) y cuando las paltas maduraron en anaquel (20 paltas para cada tratamiento). Para el respectivo análisis, las paltas fueron cortadas longitudinalmente, se colocaron en un fondo blanco y el pardeamiento fue detectado mediante fotografías obtenidas con un celular Samsung Galaxy A10. Las fotografías se tomaron sin flash, sin zoom y la resolución fueron de 889 x 1317 píxeles, de contraste y nitidez. Finalmente, se determinó el número de paltas con defecto relacionado al tipo de desorden fisiológico y la severidad del mismo, respecto al total de paltas sometidas por cada periodo de almacenamiento y a su madurez de consumo respectivo.

3.4.12. DETERMINACIÓN DE LA EXTENSIÓN DEL PARDEAMIENTO DE PULPA EN LA PALTA

La extensión o área de las manchas oscuras, a nivel de la pulpa respecto al área total, fue determinada por medio del software ImageJ. En primer lugar, las imágenes se obtuvieron según se especifica en el ítem 3.4.11 y se corrigieron para la iluminación de fondo no uniforme. Posteriormente se ajustó la calibración de las imágenes mediante la opción de escala establecida y se procedió a delimitar el perímetro de la fruta cortada, así como también el daño evidenciado. Finalmente, mediante el programa se calculó el área total del fruto y área con manchas oscuras o pardeamiento y los resultados fueron expresados en porcentaje de área afectada.

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Las paltas cv. Hass fueron cosechadas en grado de madurez fisiológica, correspondientes a frutos ovales piriformes y con piel rugosa. Los frutos fueron trasladados inmediatamente en canastillas plásticas de 18 kg hasta el laboratorio de Biotecnología Industrial & Bioprocesos del Instituto de Biotecnología (IBT). Posteriormente, se realizó una limpieza con escobilla, para eliminar los restos de polvo y se seleccionó 100 paltas completamente al azar, las cuales fueron codificadas del 1 al 100. Para el día cero (paltas recién cosechadas) un total de 10 paltas fueron seleccionadas para determinar las características iniciales del fruto.

La siguiente investigación se realizó en dos etapas. En la primera etapa, se evaluó el almacenamiento de las paltas en refrigeración (~ 7 °C, humedad relativa de 85 por ciento). Para ello, se tomaron 90 paltas que fueron divididas en tres grupos (cada uno conformado por 30 paltas) y sometidas a refrigeración por diez, veinte y treinta días; previamente las muestras se colocaron en maples y se introdujeron en jabas de plástico que fueron envueltas con bolsas de plástico con agujeros. Respecto a la segunda etapa, esta se realizó en paltas sometidas a condiciones de almacenamiento en anaquel (~ 20 °C, humedad relativa de 75-80 por ciento), las paltas colocadas en anaquel fueron las que provinieron del almacenamiento en refrigeración; la madurez de consumo se determinó por la firmeza (rango de valores entre 4 – 8 N). Cumplida cada etapa: el almacenamiento en refrigeración y anaquel hasta alcanzar la madurez de consumo, se realizó un acondicionamiento a la materia prima, con el fin de realizar los análisis correspondientes. El acondicionamiento consistió en:

- **Pesado.** Se realizó a las 30 paltas después de la refrigeración de cada tratamiento y a las paltas restantes que maduraron en anaquel, con la finalidad de determinar el porcentaje de pérdida de peso y como parte del cálculo de la tasa de respiración.
- **Selección.** Se seleccionaron al azar 10 paltas de las 30 que salieron de refrigeración en un determinado día (10, 20 y 30 días), seguidamente se determinó los análisis correspondientes. Después, las 20 paltas restante se llevaron al almacenamiento en anaquel, hasta alcanzar su madurez de consumo (firmeza de 4 a 8 N) y de igual manera se realizó los análisis respectivos.
- **Pelado/Cortado.** Las paltas luego de la refrigeración y las maduras en anaquel, se cortaron longitudinalmente y se extrajo la pulpa en pequeños trozos con el fin de facilitar la siguiente operación.
- **Congelación con nitrógeno líquido.** Las muestras fueron sumergidas inmediatamente en nitrógeno líquido durante 5 minutos aproximadamente, con el fin de no alterar los componentes presentes en la fruta y también facilitó la siguiente operación.
- **Molienda.** La pulpa congelada fue pulverizada mediante el uso de un molino de cuchillas. Esta operación se realizó de manera rápida.
- **Embolsado.** Las muestras de pulpa de palta en polvo fueron colocadas en bolsas de polietileno de alta densidad con cierre hermético, las cuales fueron rotulados con la codificación de cada tratamiento correspondiente.

- **Almacenamiento.** Las muestras se almacenaron a temperaturas de congelación (-80°C), hasta el momento del análisis respectivo.

En esta investigación se simuló las exportaciones de palta cv. Hass bajo refrigeración a mercados de destino de 10, 20 y 30 días, mediante transporte por vía marítima.

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la Figura 9 se presenta el diseño experimental, que consta de dos etapas principalmente, teniendo como factor, el tiempo de almacenamiento, tanto en refrigeración como en anaquel. En primera instancia se evaluaron 10 paltas (día cero), previo almacenamiento para determinar las características iniciales. Posteriormente se procedió a realizar la primera etapa, en la cual se aplicaron tres tratamientos en función al tiempo de almacenamiento por un periodo de hasta 30 días. Para ello se almacenaron 90 paltas en condiciones de refrigeración (7°C, humedad relativa de 85 por ciento), así el primer, segundo y tercer tratamiento constó de extraer 30 paltas cada uno a los 10, 20 y 30 días, respectivamente. De las 30 paltas extraídas por cada tratamiento se seleccionaron al azar 10 paltas para determinar los análisis correspondientes. En cuanto a la segunda etapa, se procedió a trabajar con las paltas restantes (20 unidades) por cada tratamiento y fueron llevadas al almacenamiento en anaquel (~20 °C, humedad relativa de 75-80 por ciento) hasta alcanzar la madurez de consumo. Los análisis que se llevaron a cabo se muestran en la Figura 9, entre ellos: la tasa de respiración, materia seca, contenido de aceite, porcentaje de pérdida de peso, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), capacidad antioxidante lipofílica, carotenoides, tocoferoles totales, fitoesteroles, presencia de pardeamiento de pulpa y vascular y extensión del pardeamiento de pulpa. Un total de diez muestras experimentales (10 frutos) fueron evaluadas por tratamiento.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las muestras fueron evaluadas mediante un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde la variable independiente fue el tiempo de almacenamiento en refrigeración (0, 10, 20 y 30 días) y su correspondiente almacenamiento en anaquel después del almacenamiento en frío a los 10, 20 y 30 días. Las variables respuestas evaluados fueron: La tasa de respiración,

porcentaje de pérdida de peso, materia seca, contenido de aceite, capacidad antioxidante lipofílica, carotenoides, tocoferoles totales, fitoesteroles, sustancias reactivas al TBARS, firmeza, presencia de pardeamiento de pulpa y vascular, y extensión de pardeamiento de pulpa.

Los análisis se realizaron por quintuplicado (cada unidad experimental representa una palta) para permitir una adecuada evaluación estadística. Los resultados obtenidos de los diferentes análisis fueron sometidos a las pruebas de normalidad de errores (prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianza (prueba de Levene's). Una vez realizado los supuestos y verificado su cumplimiento, se procedió a realizar un análisis de varianza (ANVA), luego fueron comparados mediante la prueba de Tuckey ($P \leq 0.05$). Este análisis estadístico se realizó mediante el programa Statgraphics Centurión XVIII versión 18.1.06. (Statgraphics Technologies Inc. Warrentos, VA, Estados Unidos). El coeficiente de correlación de Pearson (r) se calculó entre las variables respuestas (carotenoides, tocoferoles, fitoesteroles, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y porcentaje de área pardeada de pulpa, previamente se realizó el cumplimiento de los supuestos de: normalidad de errores (prueba de Kolmogorov-Smirnov), independencia de residuos (prueba de Durbin-Watson), diagnóstico de no colinealidad y homogeneidad de varianzas (gráfica de dispersión).

Muestra	Tiempo de refrigeración	Paltas previo almacenamiento	Almacenamiento en refrigeración (7 °C y 85 % HR) por 10, 20 y 30 días	Almacenamiento en anaquel (20 °C y 75 a 80 % HR) por n días hasta alcanzar la madurez de consumo
100 paltas cv. Hass	0 días	10 paltas →		
	10 días		30 paltas	10 paltas
	20 días		30 paltas	20 paltas
	30 días		30 paltas	20 paltas
				20 paltas
Análisis		Características iniciales: <ul style="list-style-type: none"> - Tasa de respiración y peso inicial - Materia seca, contenido de aceite y perfil de ácidos grasos - Sistema de defensa antioxidante (carotenoides, tocoferoles y fitoesteroles) - Capacidad antioxidante lipofílica - Sustancias reactivas al TBARS 	Caracterización después de la refrigeración: <ul style="list-style-type: none"> - Tasa de respiración y pérdida de peso - Materia seca y contenido de aceite - Sistema de defensa antioxidante (carotenoides, tocoferoles y fitoesteroles) - Capacidad Antioxidante lipofílica - Sustancias reactivas al TBARS - Presencia de pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular - Extensión del pardeamiento de pulpa 	Caracterización a la madurez de consumo en anaquel: <ul style="list-style-type: none"> - Pérdida de peso - Firmeza - Materia seca y contenido de aceite - Sistema de defensa antioxidante (carotenoides, tocoferoles y fitoesteroles) - Capacidad Antioxidante lipofílica - Sustancias reactivas al TBARS - Presencia de pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular - Extensión del pardeamiento de pulpa

Figura 9: Diseño experimental para la evaluación de las características fisicoquímicas, fisiológicas, sistema antioxidante lipofílico y desórdenes fisiológicos en palta cv. Hass sometidas a almacenamiento en refrigeración y posterior maduración en anaquel

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERÍSTICAS INICIALES DE LA PALTA CV. HASS

A continuación, se presentan los valores experimentales de tasa de respiración, peso, materia seca, contenido de aceite y perfil de ácidos grasos, de las paltas previo almacenamiento en refrigeración.

Tabla 5: Características iniciales de la palta cv. Hass

Característica	Contenido
Tasa de respiración (mg CO ₂ Kg ⁻¹ .h ⁻¹)	181.29
Peso (g)	201.45±15.66
Materia seca (%)	25.67±1.29
Contenido de aceite (%)	14.49±1.19
Perfil lipídico de ácidos grasos (%)	
Ácido palmítico (C16:0)	21.96±1.70
Ácido palmitoleico (C16:1)	12.06±1.21
Ácido esteárico (C18:0)	0.860±0.02
Ácido oleico (C18:1)	41.55±1.72
Ácido iso-oleico (C18:1)	6.86± 0.51
Ácido linoleico (C18:2)	15.83±0.45
Ácido linolénico (C18:3)	0.880± 0.09

De acuerdo con la Tabla 5, se encontró una tasa de respiración de 181.29 mg CO₂ Kg⁻¹.h⁻¹, resultados similares fueron encontrados por Pérez *et al.* (2004), con una tasa de respiración de 176.17 ± 15.98 mg CO₂ Kg⁻¹.h⁻¹ en paltas cv. Hass cosechadas y almacenadas por dos días a 20 °C.

Montero y Cerdas (2012) sostienen que la tasa de respiración se ve influenciada principalmente por la temperatura, la composición atmosférica y el daño mecánico; además de otros factores como son: la etapa de madurez, el estrés hídrico, la luz, los reguladores de crecimiento, el crecimiento patológico y el estrés químico (Wills & Golding, 2016). Por lo que se refiere al peso inicial de las paltas, en el Anexo 3 se muestra que los frutos tienen pesos que fluctúan desde 165 a 244 g con un peso promedio de $201.45 \text{ g} \pm 15.66$ (Tabla 5), siendo un valor aceptable para las exportaciones, de acuerdo con la NTP 011.018 (2014) que permite clasificar a las paltas cv. Hass con calibres de 18, 20 y 22; es decir pesos que van desde 165 a 243 g.

El contenido de aceite y materia seca son índices de madurez fisiológica usados como indicadores de calidad y parámetros de decisión en la recolección de los frutos. En relación al contenido de aceite, el resultado de 14.49 ± 1.19 por ciento es similar que lo reportado por las investigaciones de Cerdas - Araya *et al.* (2014) y Terán (2020) con valores de 14.7 y 15.25 ± 1.55 por ciento, respectivamente; siendo esta última evaluada en palta peruana y cosechada en temporada intermedia. Es conveniente recalcar que el mínimo contenido de aceite para comercialización es del 8%, después de maduración esta puede aumentar hasta el 20% (Ozdemir & Topuz, 2004 y Dodd *et al.*, 2010). Por otra parte, el contenido de materia seca de 25.67 ± 1.29 por ciento coincide con lo obtenido por Terán (2020) y por lo exigido por la NTP 011.018 (2014); esta última afirma que los factores importantes para lograr buena calidad de fruta es cosechar la palta con una buena madurez fisiológica, es decir con un mínimo de 21.5 por ciento. Además, cada país ha definido los estándares mínimos legales de materia seca para cosechar la palta cv. Hass (21.0 por ciento para Australia, 21.6-22.8 por ciento para EE. UU y 23.0 por ciento para México, Sudamérica y Sudáfrica) (Hofman *et al.*, 2013; Orhevba & Jinadu, 201; Kassim *et al.*, 2013 y Carvalho *et al.*, 2014). Por último, indicar que el valor de materia seca encontrado nos indica que se está trabajando con una palta de temporada intermedia (24-28 por ciento de materia seca).

Asimismo, es conveniente acotar que el contenido de aceite es otro índice de cosecha muy usado y dado que esta variable se correlaciona con la materia seca; esta última se usa generalmente debido a su simplicidad. Por ello, el indicador más empleado internacionalmente en esta especie es el contenido de materia seca de la pulpa del fruto (Cerdas-Araya *et al.*, 2014; Hernández *et al.*, 2016 y Escobar *et al.*, 2019). Cabe mencionar

que la materia seca y el contenido de aceite podrían ser afectados por el estado de desarrollo del fruto, así como las condiciones agroecológicas de crecimiento y época de recolección (Landahl *et al.*, 2009; Kassim *et al.*, 2013; Wedding *et al.*, 2013 y Donetti & Terry, 2014).

En general, las determinaciones fisicoquímicas de materia seca y el contenido de aceite indicaron que las paltas evaluadas en este estudio fueron cosechadas con un grado de madurez fisiológica adecuada y así lograr atributos de calidad en la madurez de consumo. Por otro lado; no menos importante, las características fisiológicas iniciales como la tasa de respiración y el peso contribuyeron para comprender el comportamiento fisiológico de las paltas durante el almacenamiento en refrigeración y su posterior maduración en anaquel, lo que será posteriormente presentado.

En la Figura 10 se observa el perfil lipídico de los ácidos grasos del aceite de palta cv. Hass, analizadas en frutos posterior a la cosecha y antes de someterlos a diferentes períodos de refrigeración.

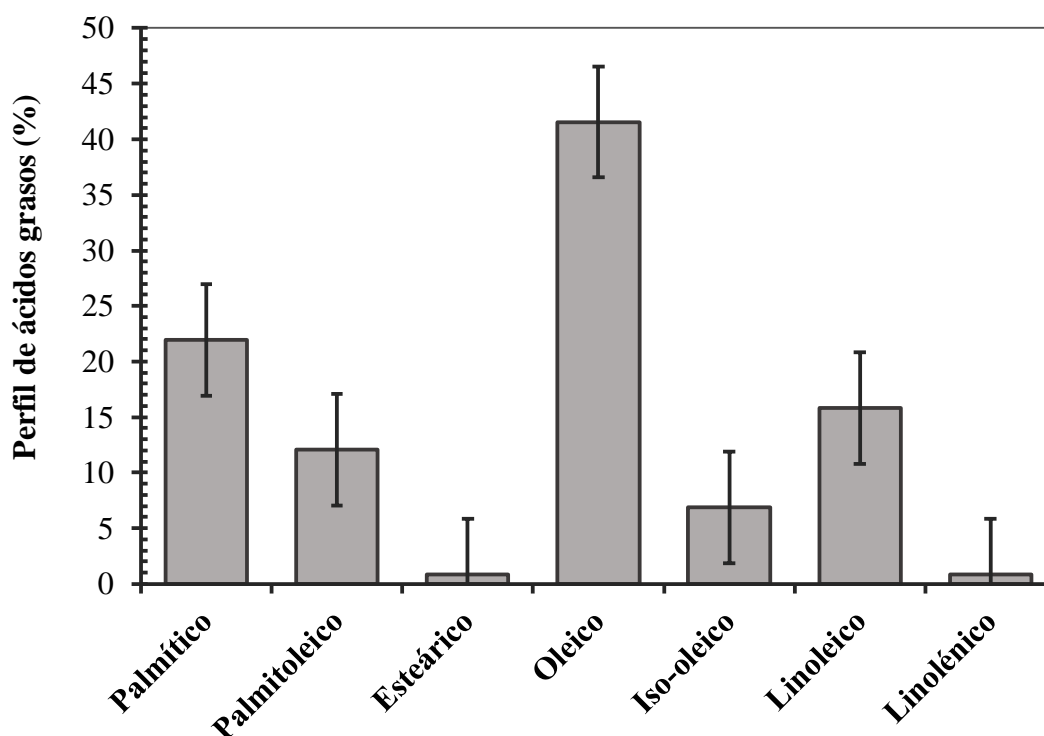


Figura 10: Perfil de ácidos grasos (%) de la palta cv. Hass después de la cosecha.

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar (n = 5).

Los ácidos grasos más representativos en orden descendiente correspondieron al ácido oleico, ácido palmítico, ácido linoleico, ácido palmitoleico, ácido iso-oleico, ácido α -linolénico y ácido esteárico con porcentajes de participación de 41.55, 21.96, 15.83, 12.06, 6.86, 0.88 y 0.86 por ciento, respectivamente (Tabla 5). Cabe destacar que el ácido iso-oleico es un isómero del ácido oleico, lo cual en conjunto suman un valor de 48.41 por ciento. Los resultados son cercanos con lo reportado por Campos *et al.* (2020) para la palta cv. Hass peruana, previo al almacenamiento en refrigeración con porcentajes de participación de ácido oleico (38.75 - 42.65 por ciento), ácido palmítico (28.35-26.41 por ciento), ácido linoleico (17.80-18.54 por ciento), ácido palmitoleico (12.46-13.45 por ciento) y ácido α -linolénico (0.78-0.96 por ciento). Asimismo, Ozdemir & Topuz (2004) y Guzmán-Maldonado *et al.* (2017) encontraron resultados parecidos a los mencionados anteriormente en paltas turcas y mexicanas, respectivamente. Sin embargo, los resultados de este estudio difieren en paltas cv. Hass chilenas y españolas, en las cuales presentaron un alto contenido de ácido oleico entre 57 - 61 por ciento y 54 - 60 por ciento, respectivamente (Donetti & Terry, 2014) y un bajo contenido de ácido palmítico (13-15 por ciento) y palmitoleico (2.7 - 4.3 por ciento) en paltas chilenas (Pedreschi *et al.*, 2016 y Ferreyra *et al.*, 2016).

Ferreyra *et al.* (2016), demostraron que la concentración de los principales ácidos grasos de la pulpa de palta Hass está influenciada por factores climáticos y nutrición de la planta y hacen referencia que la temperatura media anual máxima es la variable más importante que afecta las concentraciones de ácidos oleico, palmítico y palmitoleico; es decir en climas más cálidos la pulpa de palta tendrá menores cantidades de ácidos grasos de 18 carbonos y mayores cantidades de ácidos grasos de 16 carbonos. Por esta razón, en las paltas de este estudio se encontraron mayores cantidades de ácido palmítico (C16:0) y palmitoleico (C16:1); y menores cantidades de ácido oleico (C18:1) comparados con paltas chilenas y españolas. De la misma manera, Campos *et al.* (2020) afirman que, en climas más cálidos, como la costa de Lima en Perú, el mayor contenido de ácidos son el palmítico y palmitoleico. Otros factores, no menos importante que influyen en el perfil lipídico son en general: las condiciones climáticas, la composición del suelo, el número de días entre la floración y la cosecha, el contenido de materia seca e incluso hasta parte de la fruta medida (Ozdemir & Topuz, 2004; Donetti & Terry, 2014 y Ferreyra *et al.*, 2016).

4.2. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y FISICOQUÍMICAS DE LA PALTA CV. HASS SOMETIDA AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y SU CORRESPONDIENTE MADURACIÓN EN ANAQUEL (~20°C)

4.2.1. TASA DE RESPIRACIÓN

La Figura 11 describe el comportamiento de la tasa de respiración expresada en $\text{mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para los frutos de palta cv. Hass almacenados a 7 °C y 85 por ciento de HR.

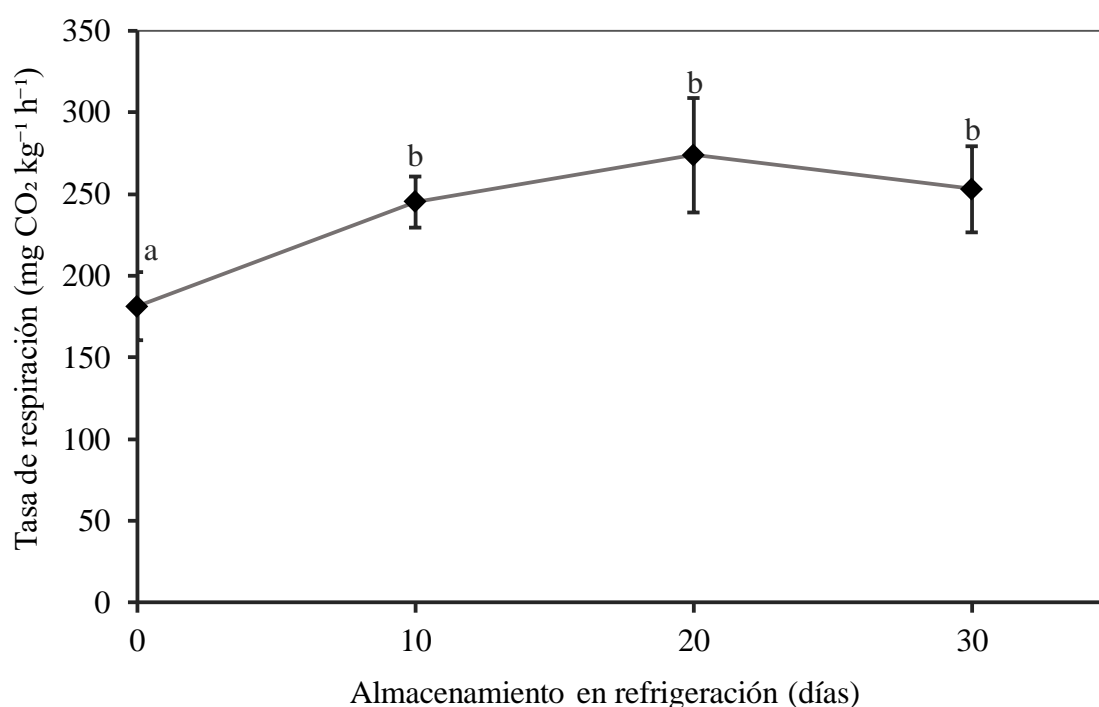


Figura 11: Tasa de respiración ($\text{mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de palta cv. Hass determinada al momento de la cosecha (día 0) y a 10, 20 y 30 días en refrigeración (7 °C).

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar ($n = 10$) y las letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Las tasas respiratorias de la palta aumentaron significativamente (Anexo 4) con la progresión del almacenamiento en frío (7°C y 85 por ciento de HR) y fueron valores más altos en el día 20, alcanzando su pico climatérico ($274 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), luego se presentó

un ligero descenso hasta el día 30 ($253 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); mostrando patrones respiratorios característicos de las frutas climatéricas. Villa-Rodríguez *et al.* (2011) ha obtenido en palta cv. Hass, tasas respiratorias que oscilan entre 80 y $300 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ durante 14 días de almacenamiento a $15 \text{ }^\circ\text{C}$, alcanzando un máximo climatérico en el día 6, valores que podrían asemejarse a lo reportado en este estudio; siempre y cuando las condiciones de almacenamiento de los frutos sean las mismas.

En general, los aumentos de la respiración se ven afectados por la temperatura de almacenamiento, los tratamientos previos y posteriores a la cosecha aplicados a la fruta. Asimismo, Marrero (2019) indica que el aumento de temperatura en $10 \text{ }^\circ\text{C}$ en el intervalo fisiológico (aproximadamente entre 0 y $40 \text{ }^\circ\text{C}$), ocasiona que la tasa de respiración de las frutas se duplique, incrementando las reacciones metabólicas y reduciendo el tiempo de vida comercial. Por lo tanto, la temperatura antes y durante la fase de maduración es crítica (Pérez *et al.*, 2004; Maftoonazad & Ramaswamy, 2008; Villa-Rodríguez *et al.*, 2011). De acuerdo con Maftoonazad & Ramaswamy (2008) y Sierra *et al.* (2019), la tasa de producción de CO_2 en el pico climatérico para paltas de la misma variedad fue de $186 \text{ mg Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ alcanzadas después de 16 días a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ y $143 \text{ mg Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ en el día 35 a $9 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Según estas investigaciones se confirma lo mencionado anteriormente, que la tasa de respiración aumenta a medida que el producto madura a una temperatura más alta. Sin embargo, estas tasas de respiración son diferentes a la encontrada en este estudio. Esta diferencia se atribuye al estado de maduración de la fruta que se relaciona con la materia seca y contenido de aceite y al proceso de maduración que se caracteriza por un aumento en la tasa de respiración y generación de etileno en palta (Undurraga *et al.*, 2003).

Asimismo, Hernández *et al.* (2016) señala que las paltas cv. Hass chilena que procede de una cosecha temprana (21-24 por ciento de materia seca) demoran más tiempo en llegar a la etapa climatérica y a la maduración comercial en comparación con la fruta de temporada media (25-30 por ciento de materia seca) y tardía (> 30 por ciento de materia seca) y Kader (2002) sostiene que la palta al ser una fruta climatérica típica en el que hay un período pre-climatérico antes de que ocurra la maduración, este periodo disminuye a medida que se deja la fruta más larga en el árbol, lo que lleva a una reducción en el tiempo de maduración. Por ello, las temperaturas de almacenamiento recomendadas para la palta cv. Hass oscilan de 5.5 a $8 \text{ }^\circ\text{C}$ por 4 semanas dependiendo de su estado de madurez (Bill *et al.*, 2014).

4.2.2. PÉRDIDA DE PESO

En la Figura 12, se observa la pérdida de peso expresada en porcentaje (%) de palta luego de los 10, 20 y 30 días de almacenamiento en refrigeración (7°C y 85 por ciento de HR) y a sus respectivas madurez de consumo bajo condiciones de anaquel (~20°C).

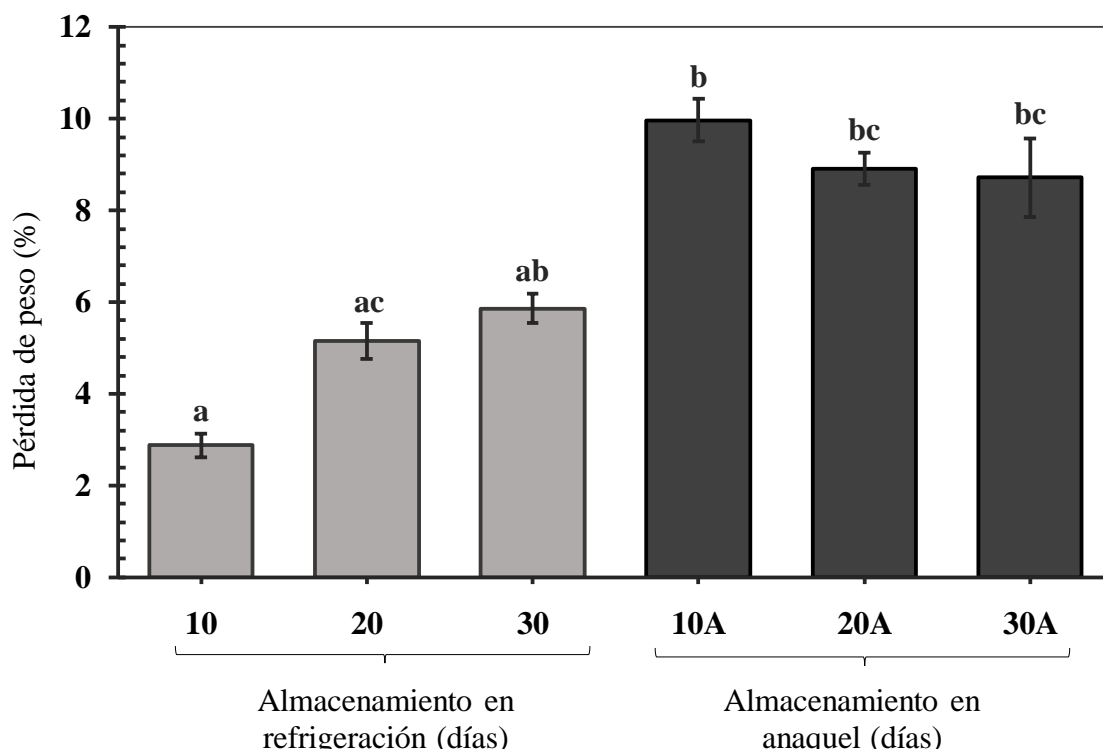


Figura 12: Pérdida de peso (%) de palta cv. Hass sometida al almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a su correspondiente maduración en anaquel (~20 °C) hasta alcanzar la madurez de consumo.

Letras minúsculas indican diferencia significativa durante el periodo de almacenamiento ($P < 0.05$). 10A, 20A y 30A corresponden a la fruta lista para consumir (madurez comestible) sometida a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

Durante el almacenamiento a 7 °C, las pérdidas de peso en las paltas a la salida de refrigeración por 10, 20 y 30 días fueron de 2.88, 5.15 y 5.86 por ciento, respectivamente ($P < 0.05$). Los resultados obtenidos se encuentran dentro del valor umbral de pérdida de masa en refrigeración que es de aproximadamente 6 por ciento (Bower *et al.*, 2003; Bower y Jackson, 2003 citado por Blakey, 2011). De modo similar, Blakey *et al.* (2014) y Sierra *et al.* (2019) han encontrado pérdidas de peso en palta cv. Hass de 7.59 por ciento luego de 28

días de almacenamiento a 5.5 °C y 90 por ciento de HR y de 4.04 por ciento luego de 35 días a 9 °C y 80 por ciento de HR, respectivamente. Los resultados de este estudio difieren con resultados de la literatura debido a que la intensidad de transpiración es afectada por las características propias de la fruta o por las condiciones de almacenamiento (Díaz-Pérez, 2019). Así que, una baja humedad relativa y alta temperatura durante el almacenamiento inducirá una mayor pérdida de peso, por lo cual la temperatura influye directamente en todos los procesos metabólicos que está relacionado con la degradación de las estructuras que componen las membranas celulares planas, que conducen a una menor capacidad de retención de agua facilitando la evaporación (Sierra *et al.*, 2019).

Con respecto a los frutos almacenados en refrigeración y posterior anaquel hasta alcanzar la madurez de consumo, las pérdidas de peso fueron 9.97 por ciento a los 10 días en refrigeración con 8 días en anaquel; 8.91 por ciento a los 20 días en refrigeración y 6 días en anaquel y 8.72 por ciento a los 30 días en refrigeración y 4 días en anaquel. Resultados similares fueron encontrados por García *et al.* (2004), con pérdidas de peso de 10 por ciento a los 15 días en refrigeración (6 ± 0.5 °C) con 6 días en anaquel, 8 por ciento a los 20 días de refrigeración con 6 días de anaquel y 9.5 por ciento luego de 30 días en refrigeración con 4 días en anaquel; sin diferencias significativas entre los tratamientos mencionados. De todo esto se desprende, que la pérdida de peso se ve influenciada por las condiciones de almacenamiento, el estado fisiológico de la fruta y el tiempo transcurrido hasta alcanzar la madurez de consumo.

En general, el porcentaje de pérdida de peso durante el almacenamiento en refrigeración y anaquel fueron significativos ($P < 0.05$) (Anexo 5). Como se observa en la Figura 12, los mayores porcentajes de pérdida de peso se produjeron en el almacenamiento en anaquel que poseían una mayor temperatura y menor humedad. En los estudios realizados por Cutting & Woltsholme (1992) manifestaron que el almacenamiento en frío reduce la cantidad total de agua pérdida durante la maduración, pero aumenta la velocidad a la que el agua se pierde posteriormente. Por lo tanto, después del almacenamiento en frío se puede aumentar la tasa de metabolismo en las frutas en comparación con las frutas de madurez similar que no se almacenaron. Por último, la mayor pérdida de peso también está influenciado por el daño mecánico en la cutícula y las lenticelas aumentado la desecación y las lesiones por frío externo (Everett *et al.*, 2008 citado por Blakey, 2011).

4.2.3. MATERIA SECA Y CONTENIDO DE ACEITE

La Figura 13 muestra el contenido de aceite y materia seca de la pulpa de la palta, expresada en porcentaje (%), a los 0, 10, 20 y 30 días en refrigeración (7°C y 85 por ciento de HR) y a sus respectivas madurez de consumo alcanzadas en anaquel (~20°C).

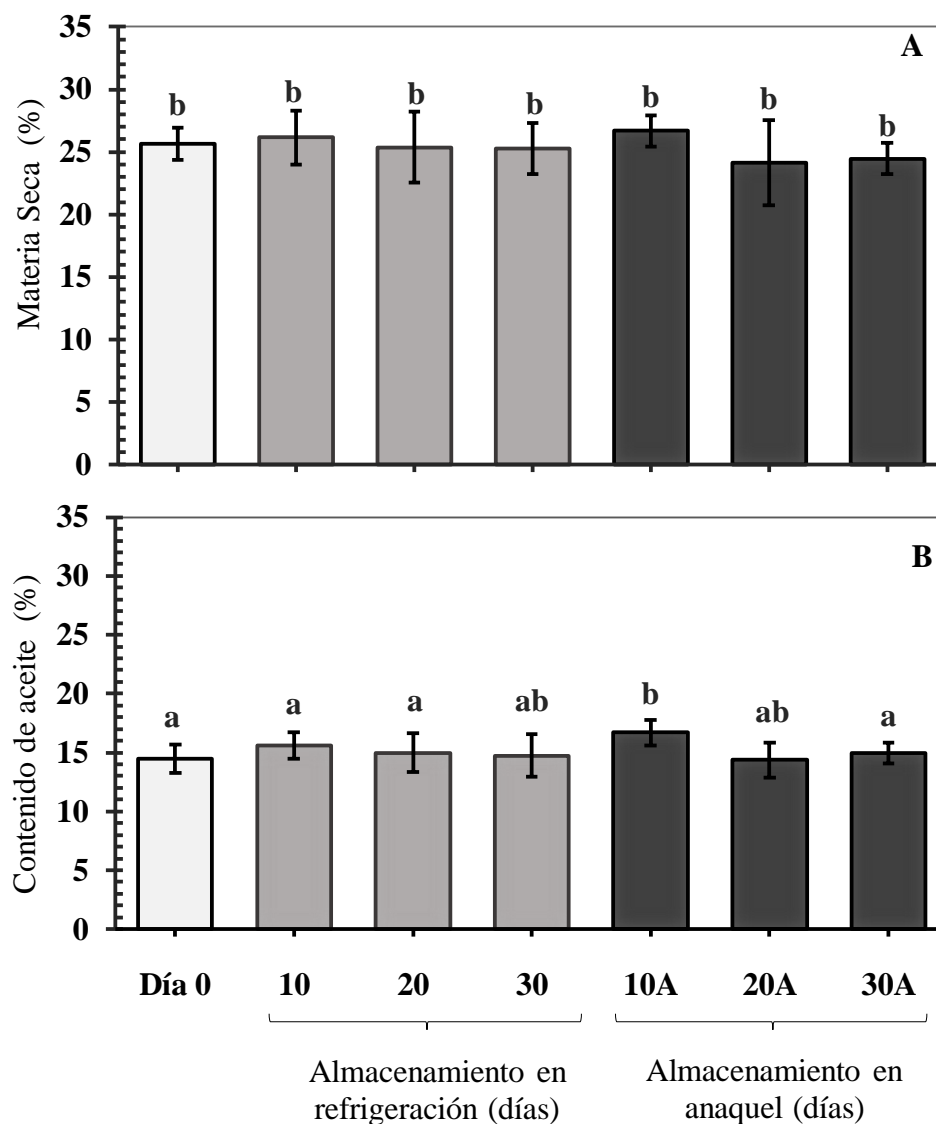


Figura 13: Porcentaje de materia seca (A) y contenido de aceite (B) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar ($n = 5$). Las letras minúsculas diferentes sobre cada barra indica diferencias significativas ($P < 0.05$). 10A, 20A y 30A corresponden a la fruta lista para consumir (madurez comestible) sometida a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

La materia seca y el contenido de aceite de la palta cv. Hass no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) durante el almacenamiento en refrigeración y su posterior almacenamiento en anaquel (Anexo 6 y 7). En relación a la materia seca, Pedreschi *et al.* (2014) puso en manifiesto en palta cv. Hass, que no existe una correlación significativa entre el contenido de materia seca respecto al tiempo necesario para alcanzar la madurez de consumo de las paltas Hass. Por lo tanto, esta variable no es un índice confiable de los cambios fisiológicos asociados con la maduración postcosecha de la fruta. Esto también es apoyado por Hofman *et al.* (2000) y Terán (2020). Por otro lado, Villa - Rodríguez *et al.* (2011) y Ozdemir & Topuz (2004) reportaron poca variabilidad del contenido de materia seca en paltas cv. Hass almacenadas a 15° C durante 14 días y 20°C durante 8 días, consecutivamente. En consecuencia, la materia seca por sí sola no es la variable que determina el comportamiento en la maduración postcosecha de la palta, pero sí es un indicador del momento de la cosecha que garantizará la calidad de la fruta durante la maduración y esto se comprueba con diversos estudios que han afirmado, además de que la materia seca se incrementa durante el desarrollo del fruto en el árbol y se ve influenciado por factores agroclimáticos y manejo agronómico (Osuna-García *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2014; Bill *et al.*, 2014).

De manera similar, el contenido de aceite en los frutos, se sintetizan durante el crecimiento, desarrollo y maduración del fruto en árbol y la fracción de aceite varía debido a las zonas de producción, cultivar y tiempo de cosecha. Dependiendo de estos factores, el contenido de aceite varía de un mínimo de 8 a 30 por ciento y no cambia durante el almacenamiento en postcosecha (Luza *et al.*, 1990 y Landahl *et al.*, 2009). Sin embargo, durante el proceso de ablandamiento, una disminución en el grado de esterificación de la pectina de la palta afloja las células entre sí y en esa etapa las células pueden romperse más fácilmente, dando como resultado la liberación de lípidos (Kaiser *et al.*, 1992 citado por Requejo-Tapia, 1999). Esto podría explicar los cambios menores que se han evidenciado en algunas investigaciones durante la maduración después de la cosecha (Ozdemir & Topuz, 2004 y Lu *et al.*, 2009). Por su parte, Blakey *et al.* (2009) comentan que los frutos de palta son muy variables, e incluso aquellos clasificados con un tamaño y apariencia similares no se comportan de la misma manera después de la cosecha. Por esta razón, no se podría saber con exactitud el comportamiento de la materia seca y contenido de aceite en la postcosecha. En cuanto a la relación entre el contenido de aceite y materia seca, se ha reportado una correlación directa

y positiva entre estas variables. En ese sentido el coeficiente de correlación calculado entre el contenido de materia seca y el contenido de aceite para la palta cv. Hass fue de 0.87 (Anexo 13). Este resultado concuerda con lo reportado por muchos investigadores, demostrándose el alto grado de asociación/relación entre ambas variables (Pedreschi *et al.*, 2014; Carvallo *et al.*, 2014 y Guzmán-Maldonado *et al.*, 2017;).

4.3. DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ DE CONSUMO DE PALTA CV. HASS ALMACENADA EN ANAQUEL

La Figura 14 muestra el histograma de frecuencia, respecto al tiempo que fueron necesarios para alcanzar la madurez de consumo de la palta, después del almacenamiento en refrigeración (7°C) a los 10, 20 y 30 días, seguido de su respectiva maduración en anaquel (~ 20 °C). Para determinar el tiempo que tardaron las paltas en madurar fue imprescindible realizar el análisis de firmeza (valores entre 4 – 8 N) que se considera un indicador que define el momento óptimo de consumo (Olivares *et al.*, 2020; White *et al.*, 2009).

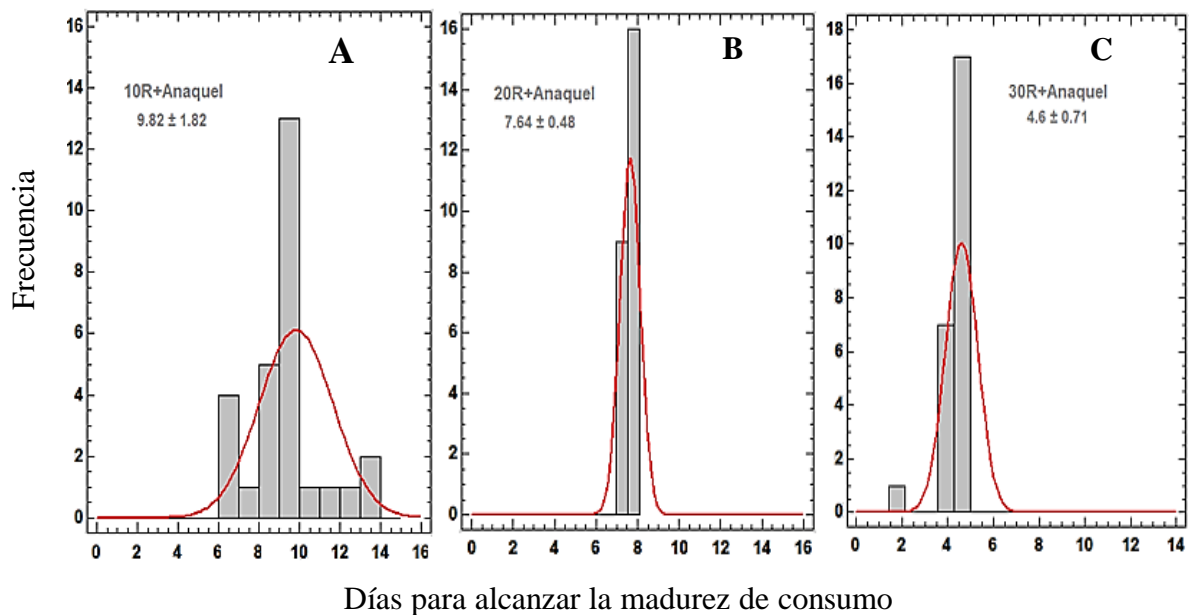


Figura 14: Histograma del número de días para alcanzar la madurez de consumo de la palta cv. Hass almacenada en anaquel (~20 °C), después del almacenamiento en refrigeración por 10, 20 y 30 días, respectivamente.

Los frutos almacenados por 10, 20 y 30 días a 7° C requirieron aproximadamente 9, 7 y 4 días para alcanzar la madurez de consumo (Figura 14), presentando valores de firmeza de 3.43 a 6.86 N. Así, conforme las paltas permanecieron mayor tiempo en refrigeración, los tiempos en alcanzar la madurez de consumo fueron menores. Arpaia *et al.* (2015), reportaron que los frutos de palta almacenados a 5 °C durante 7 días presentaron características de consumo a los 9.5 días después de haber estado en anaquel a temperatura de 20 °C con firmeza menor de 6.7 N. En un estudio posterior Arpaia *et al.* (2018) encontraron que el tiempo de maduración de las paltas cv. Hass son afectadas por la temperatura en anaquel a las que se exponen durante la maduración final, además ratifican que las frutas de las primeras cosechas requieren más tiempo para madurar que la fruta cosechada más adelante en el año. Se sabe que el ablandamiento es el rasgo más característico del proceso de maduración de frutos de palta Hass. Por lo tanto, la firmeza es un referente para determinar el tiempo de vida anaquel; y esta es afectada principalmente por la temperatura y el tiempo de almacenamiento en frío (Ochoa *et al.*, 2009 y Ozuna-García *et al.*, 2017). Al respecto, la pérdida de la firmeza, de masa y de calidad interna fue más notoria en los frutos que fueron almacenados por 30 días, ya que el periodo prolongado en refrigeración afecta la fisiología del fruto, acelerando la actividad enzimática y la degradación de las protopectinas (Herrera & Salazar, 2017).

De otro lado, es sabido que la maduración de la palta se acelera desde el inicio del climaterio (Arpaia *et al.*, 2015). Además, la presencia de etileno se relaciona con el ablandamiento de la fruta, ya que regula la producción de celulasa. Al respecto Blakey *et al.* (2014) encontraron que la fruta almacenada a 5.5°C tenía una tasa significativamente mayor de producción de etileno y una mayor actividad de celulasa, con una pérdida significativa en la firmeza de la fruta inmediatamente después de la extracción del almacenamiento en frío y, en consecuencia, el tiempo de maduración de consumo en el ambiente fue mucho menor.

Por otra parte, es necesario incidir que, a partir del pico climatérico, los procesos metabólicos son más acelerados y por consiguiente aumentan los cambios relacionados con la maduración (Alique *et al.*, 1994; Arpaia *et al.*, 2015 y García-Rojas *et al.*, 2016). Además, al incrementar la temperatura (en condiciones de anaquel), después de la cadena de frío (refrigeración), se inicia el proceso de ablandamiento de la fruta con la degradación de los compuestos estructurales de la pared celular disminuyendo la firmeza, peso y color de la piel

(Defilippi *et al.*, 2018). Entonces se podría indicar, que las paltas que han sido almacenadas en refrigeración por más de 20 días y luego maduras en anaquel, presentaron tiempo de maduración y características de calidad reducida (firmeza, desordenes fisiológicos y otros), esto debido a que las paltas alcanzaron sus picos climatéricos a los 20 días y por la transición de cambio de temperatura de 7 °C a 20 °C. Finalmente, la heterogeneidad en la maduración (variabilidad en el número de días para alcanzar la madurez de consumo) de paltas cv. Hass (Figura 14) es el resultado de la compleja fisiología de la fruta, y los factores previos y posteriores a la cosecha (Hernández *et al.*, 2016).

4.4. SISTEMA DE DEFENSA NO ENZIMÁTICO LIPOFÍLICO DE LA PALTA CV. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACIÓN EN ANAQUEL

4.4.1. EVOLUCION DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES

El contenido total de carotenoides de la pulpa de palta cv. Hass recién cosechadas fue de 2.91 mg β caroteno/100g (b.s). Este resultado fue cercano al encontrado en la pulpa de paltas Hass cultivadas en Nueva Zelanda (2.08 mg /100g bs) (Ashton *et al.*, 2006) y en paltas Hass de Portugal (2.79 mg/100g bs) (Ferreira da Vinha *et al.*, 2013). Las ligeras diferencias entre los valores encontrados en la literatura y la presente investigación pudieron estar influenciados por factores como: la variedad genética, las condiciones edafo-climáticas de las regiones de donde provienen, el estado de madurez fisiológica y hasta incluso la parte de la pulpa medida (Ahmed *et al.*, 2010 y Rosalie *et al.*, 2018).

En general, el contenido total de carotenoides durante el almacenamiento en refrigeración no presentó cambios significativos; lo mismo que fue encontrado en anaquel (Anexo 8). Así, como se aprecia en la Figura 15, las condiciones de almacenamiento en frío (7 °C) no tuvieron efecto significativo sobre los valores de este parámetro. Al respecto Gómez *et al.* (2009) afirma que las bajas temperaturas durante el almacenamiento desaceleran o bloquean la acumulación de carotenoides en los diferentes órganos y tejidos.

De manera similar, Rosalie *et al.* (2018) en un estudio realizado en mangos, determinaron que los compuestos de carotenoides en condiciones de almacenamiento en frío podrían

permanecer constantes o incrementarse dependiendo a la etapa de cosecha. En ese orden de ideas, el comportamiento de la fruta durante el almacenamiento en frío y luego la maduración va a depender del momento de la cosecha, de la capacidad de la fruta para controlar el estrés por frío y temperatura durante el almacenamiento (Ornelas-Paz *et al.*, 2007 y Talcott *et al.*, 2005).

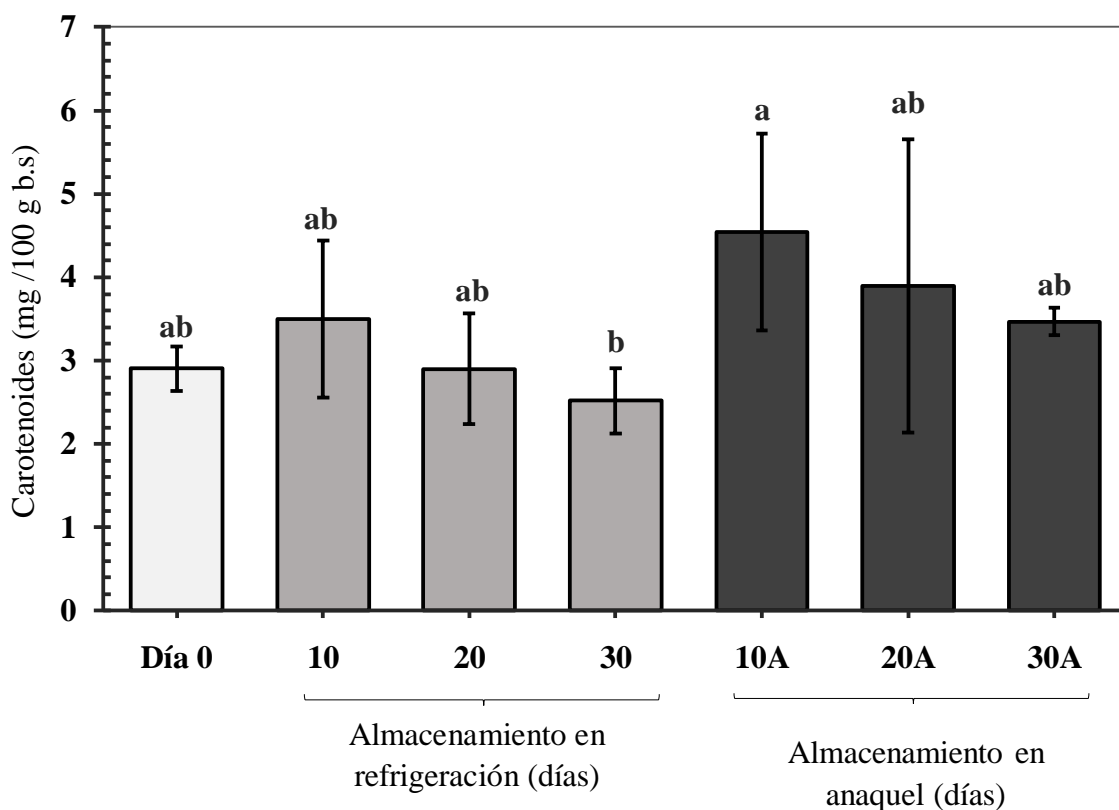


Figura 15: Contenido de carotenoides (mg β caroteno/100 g, b.s.) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar (n = 5). Las letras minúsculas diferentes sobre cada barra indica diferencias significativas (P < 0.05). 10A, 20A y 30A corresponden a la fruta lista para consumir (madurez comestible) sometida a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

Debe señalarse, que, si bien el contenido de carotenoides en este estudio no evidenció diferencias significativas durante la maduración en anaquel, si se pudo observar un ligero incremento durante la maduración después del almacenamiento en frío (Figura 15). Los estudios en relación al cambio de este compuesto cuando se retiran del almacenamiento en

frío en las paltas son escasos. Sin embargo, en otras frutas, así como en verduras se han informado grandes variaciones en la estabilidad de los carotenoides durante el almacenamiento, siendo las pérdidas o cambios menores y se desarrollan lentamente en el estado de madurez fisiológica respecto al de madurez de consumo (Solovchenko *et al.*, 2019).

Por otro lado, se ha encontrado evidencia que los carotenoides aumentan sustancialmente en el durazno durante maduración a temperatura ambiente (Puerta-Gómez, 2011). El desarrollo de carotenoides ocurre cuando el cloroplasto se transforma en cromoplasto durante la maduración, lo que resulta en una nueva síntesis de varios carotenoides que no están presentes en la fruta verde (Fox *et al.*, 2005). Algo semejante ocurre en paltas cv. Hass, en la cual el comportamiento de los carotenoides durante el proceso de maduración varía de acuerdo al tipo de carotenoide, así Villa-Rodríguez *et al.* (2019) señalaron que la luteína (carotenoide predominante) mostró un incremento ligero durante esta etapa, caso contrario ocurrió con el β caroteno (carotenoide minoritario). Lo citado, guarda concordancia a lo encontrado en este estudio, si se tomara como referencia que el carotenoide predominante en la palta Hass es la luteína, ello hace necesario realizar el perfil de la composición de los carotenoides en el fruto.

Cabe mencionar que la acumulación de carotenoides también podría estar estrechamente relacionada con el estado de oxidación de la fruta, según lo señalado por Fanciullino *et al.* (2013), quienes argumentaron que la producción de EROS relacionada con el estrés y su regulación controlan de cerca la síntesis y la acumulación de carotenoides en los frutos y en las hojas.

4.4.2. EVOLUCIÓN DE LOS TOCOFEROLES

La Figura 16 muestra los resultados de composición de tocoferoles de la pulpa de palta cv. Hass al momento de la cosecha (día 0) a los 10, 20 y 30 días en refrigeración (7°C) y a sus respectivas madurez de consumo alcanzadas en anaquel. Los principales tocoferoles identificados por cromatografía HPLC, fueron el α -tocoferol, β -tocoferol y γ -tocoferol.

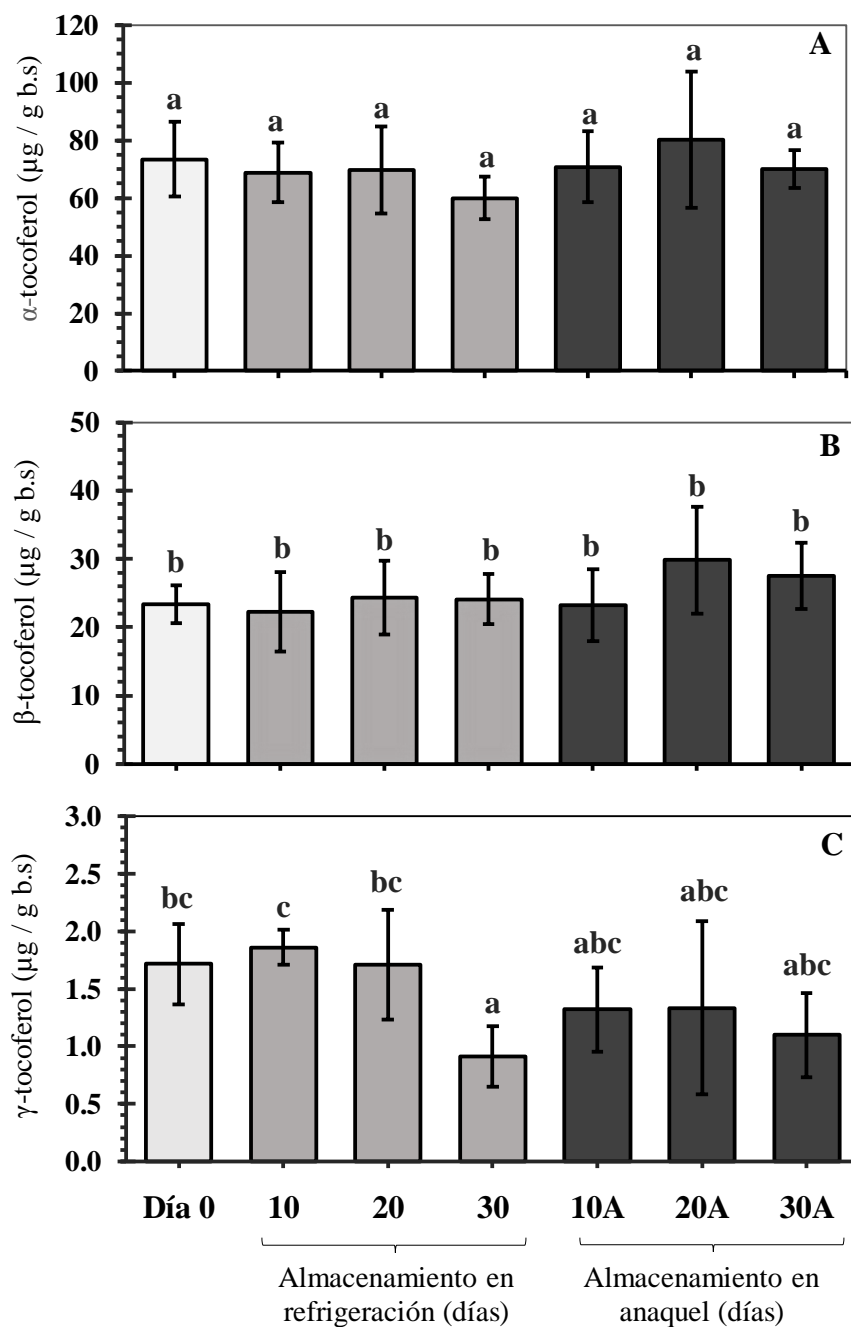


Figura 16: Composición de tocoferoles (µg / g b.s.) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar (n = 5). Las letras minúsculas diferentes sobre cada barra por tipo de tocoferol indica diferencias significativas (P < 0.05). 10A, 20A y 30A corresponden a la fruta lista para consumir (madurez comestible) sometida a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

En relación a la composición y contenido de tocoferoles en paltas verdes, previo almacenamiento (día 0) se identificaron al α -tocoferol, con una alta participación, con un valor de $73.4 \pm 12.93 \mu\text{g/g}$ (b.s), el siguiente, en orden de abundancia fue el β -tocoferol, el cual estuvo presente en concentraciones de $23.32 \pm 2.76 \mu\text{g/g}$ (b.s), seguido del γ -tocoferol con un $1.72 \pm 0.35 \mu\text{g/g}$ (b.s). Lu *et al.* (2009) informaron valores de α -tocoferol en palta Hass de California de 80.2 a 108.21 $\mu\text{g/g}$ (b.s) y Pedreschi *et al.* (2014) reportaron valores de α -tocoferol ($173.9 \pm 13.1 \mu\text{g/g}$, b.s), β -tocoferol ($38.4 \pm 3.6 \mu\text{g/g}$, b.s), γ -tocoferol ($2.08 \pm 0.56 \mu\text{g/g}$, b.s), y presencia de pequeñas cantidades de δ -tocoferol ($1.06 \pm 0.15 \mu\text{g/g}$, b.s), en paltas Hass chilenas a madurez comercial. Se ha reportado que los niveles de tocoferol en el fruto podrían variar dependiendo del grado de madurez (Campos *et al.*, 2020), además Lushchak & Semchuk (2012) sostienen que la concentración de los tocoferoles es afectada por las condiciones agronómicas (diferentes tipos de estreses como la alta intensidad lumínica, la sequía, la salinidad o las bajas temperaturas), las condiciones posteriores a la cosecha y la maduración de la fruta.

Durante el almacenamiento en frío y su posterior madurez en anaquel los isómeros α y β -tocoferol no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) (Anexo 9), mientras que el γ -tocoferol, presente en menor cantidad, manifestó muy ligeros cambios durante el almacenamiento en frío y en anaquel. Villa-Rodríguez *et al.* (2019) informaron un aumento significativo de α -tocoferol y γ -tocoferol, comportamiento que difiere a los resultados encontrados en este estudio. Del mismo modo, en las frutas climatéricas como el mango y el tomate, el contenido de α -tocoferol aumento durante la maduración (Quadrona *et al.*, 2013). Singt *et al.* (2011) encontraron una correlación entre la producción de etileno y el contenido de tocoferol en mangos, todo lo cual sugiere que este evento podría depender del etileno. Por otro lado, Campos *et al.* (2020) afirman que los cambios en el contenido de tocoferoles están asociados al sistema de defensa antioxidante y la presencia de compuestos fenólicos, por medio de la regeneración de polifenoles parcialmente oxidados, bajo condiciones de estrés oxidativo.

Lushchak & Semchuk (2012) sugiere que el nivel de tocoferol aumenta, cuando su síntesis excede el consumo, o permanece sin cambios, pero con una rotación mucho mayor; o disminuye, cuando el consumo excede la síntesis. Además, el aumento observado del nivel de tocoferol en respuesta al estrés contribuye a la protección mediante la reducción de los

niveles de EROS y la inhibición de la peroxidación lipídica, evitando así el daño oxidativo (Munne´- Bosch, 2005).

4.5. EVOLUCIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA

La Figura 17 muestra el comportamiento de la capacidad antioxidante lipofílica determinada por el método ABTS de la palta cv. Hass al día inicial (día 0), y a los 10, 20 y 30 días en refrigeración, así como a sus respectivas madurez de consumo.

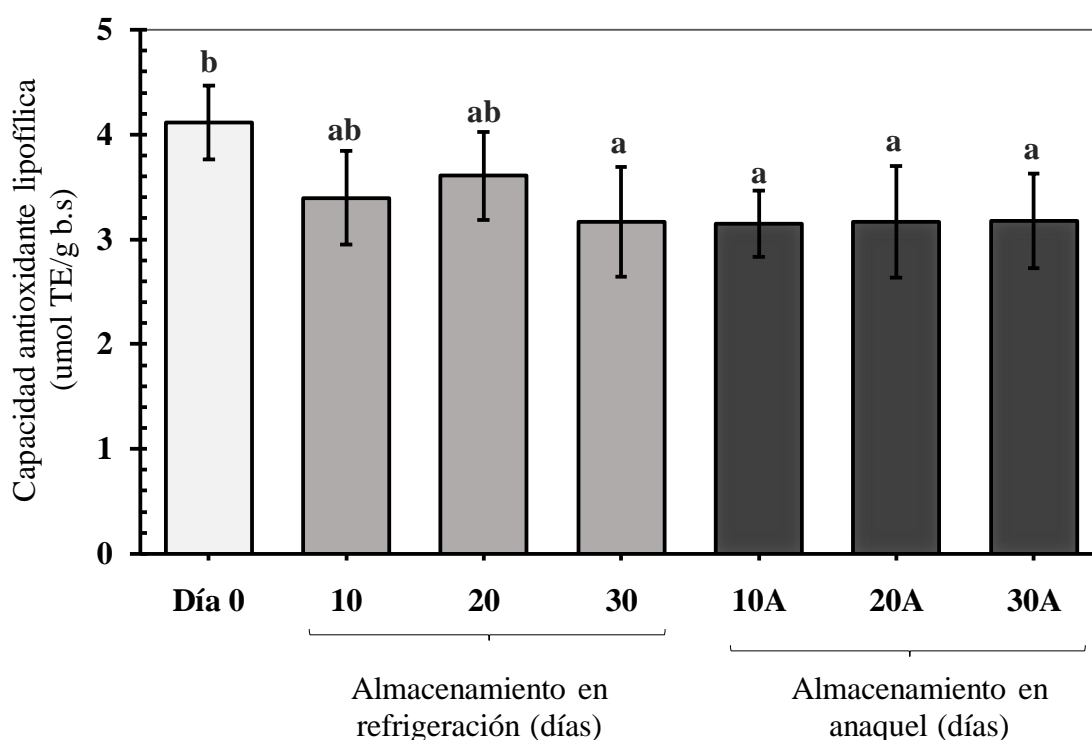


Figura 17: Capacidad Antioxidante lipofílica de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar (n = 5). Las letras minúsculas diferentes sobre cada barra indica diferencias significativas (P < 0.5). 10A, 20A y 30A corresponden a la fruta lista para consumir (madurez comestible) sometida a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

La capacidad antioxidante lipofílica de la pulpa de palta verde (día 0) disminuyó significativamente ($P < 0.05$) (Anexo 10) en los frutos conservados a 7°C a los 30 días, pasando de 4.12 ± 0.35 a $3.17 \pm 0.52 \mu\text{mol TE/g bs}$. Sin embargo, durante el almacenamiento en frío (10, 20 y 30 días) y su respectivo almacenamiento en anaquel, la capacidad antioxidante lipofílica se mantuvo constante con valores que oscilaron entre 3.15 y 3.61 $\mu\text{mol TE/g bs}$. Los valores de esta característica fueron mayores que lo reportado por Terán (2020), quienes encontraron valores de 2.71 a 2.93 de $\mu\text{mol TE/g bs}$ en paltas que fueron conservados a 7°C durante 30 días, mientras que, en paltas maduras la capacidad antioxidante lipofílica fue de 3.16 $\mu\text{mol TE/g bs}$. Por consiguiente, el almacenamiento a 7°C podría bloquear los sistemas de defensa y disminuir por tanto la capacidad antioxidante (Romojaro, 2016), además la capacidad para proteger el tejido depende de la concentración y tipos de antioxidantes, así como de la actividad de enzimas (Galli *et al.*, 2009), la capacidad de eliminación de radicales libres que pueden verse comprometidas con el almacenamiento (Prabath-Pathirana *et al.*, 2013) y el uso de otras tecnologías como 1-MCP que confiere una mayor resistencia al estrés de oxidación durante el almacenamiento a baja temperatura, la cual fue demostrado en albaricoque y palta fuerte (Egea *et al.*, 2007 y Prabath Pathirana *et al.*, 2013).

En general, la capacidad antioxidante lipofílica mostró una tendencia a reducirse durante el almacenamiento en refrigeración y anaquel (Figura 17), coincidiendo con los resultados de los compuestos antioxidantes lipofílicos (carotenoides y tocoferoles). Los valores y tendencia mostrada en la capacidad antioxidante lipofílica pudieron verse influenciadas con factores que afectan la acumulación y estabilidad de antioxidantes en las frutas y vegetales, como: factores genéticos, condiciones ambientales en que se desarrollan los cultivos, estado de cosecha, el portainjerto utilizado y factores postcosecha (Vicente *et al.*, y 2007; Li *et al.*, 2012).

4.6. EVOLUCIÓN DE LOS FITOESTEROLES

En la Figura 18 se presenta el perfil de los fitoesteroles de la pulpa de palta cv. Hass al día inicial de cosecha (día 0) y a los 10, 20 y 30 días en refrigeración y a sus respectivas madurez de consumo en condiciones de anaquel.

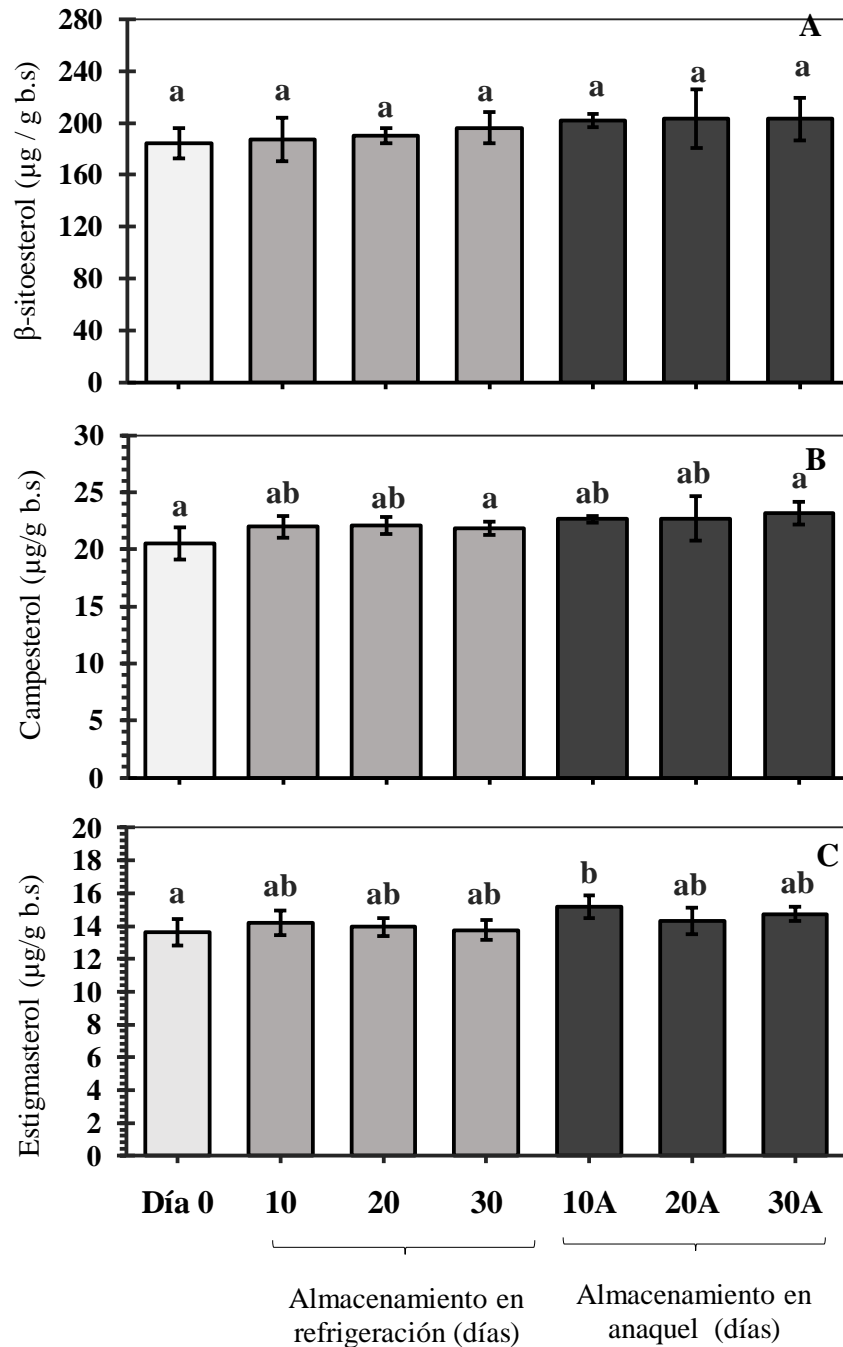


Figura 18: Composición de fitoesteroles ($\mu\text{g/g b.s.}$) de la pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración ($7\text{ }^{\circ}\text{C}$) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel ($\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar ($n = 5$). Las letras minúsculas diferentes sobre cada barra indica diferencias significativas ($P < 0.05$). 10A, 20A y 30A corresponden a la fruta lista para consumir (madurez comestible) sometida a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

En palta verde, previo al almacenamiento (día 0), se identificaron al β -sitoesterol como el principal fitoesterol, seguido por el campesterol y luego el estigmasterol, presentando valores de 184.1, 20.48 y 1.61 mg/100 g (b.s), respectivamente. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Terán (2020) para paltas verdes cv. Hass, con rango de concentraciones de 141.98 a 166, 15.24 a 19.68 y 6.01 a 6.16 mg/100 g bs para β -sitoesterol, campesterol y estigmasterol, respectivamente. Villa-Rodríguez *et al.* (2019) encontraron valores bajos en paltas verdes, con concentraciones de 21.0, 1.1 y 0.2 mg/100 g (b.s) para el β -sitoesterol, campesterol y estigmasterol, respectivamente. Al respecto Ssonko & Xia (2012) sostienen que el contenido y la composición de fitoesteroles en las frutas pueden verse influenciados por la genética de las frutas, la etapa de madurez, las prácticas agronómicas, la ubicación geográfica y las condiciones de almacenamiento después de la cosecha.

El isómero de β -sitoesterol en la pulpa de palta Hass no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) durante el almacenamiento en frío y en su posterior maduración (Anexo 11). De manera similar respecto a la variación de campesterol y estigmasterol, no se observaron diferencias significativas mientras mayor fue el tiempo de almacenamiento en frío y en posterior maduración en anaquel. En un estudio realizado en manzanas, se reportó un cambio mínimo en la concentración relativa de fitoesteroles durante la maduración postcosecha y el almacenamiento en frío (Rudell *et al.*, 2011). Entonces se podría decir que la variación significativa de los fitoesteroles en la palta no está relacionada con la maduración en postcosecha, sino con la maduración en árbol, así como se han informado en las manzanas (Lurie y Ben-Arie, 1993). Sin embargo, Villa-Rodríguez *et al.* (2019) encontraron un comportamiento con una tendencia de aumentar significativamente en la concentración de β -sitoesterol, estigmasterol y campesterol durante la maduración de la palta Hass a 15 °C por 14 días. Asimismo, este patrón se ha observado en el tomate (2° C por 11-21 días), la cual describe un aumento en el contenido total de fitoesteroles (principalmente, el β -sitoesterol y estigmasterol) durante la maduración, senescencia y estrés de la fruta (Whitaker, 1994). En general, las diferencias que se dan en el comportamiento de los fitoesteroles durante la maduración está influenciado por la duración del almacenamiento, el estrés oxidativo, la acción del etileno, la temperatura de almacenamiento y varía ampliamente entre las diferentes especies, tejidos y frutas (Whitaker & Gapper, 2008 y Rudell *et al.*, 2011)

Cabe mencionar que los fitoesteroles se presentan como esteroides libres (sitosterol, estigmasterol y campesterol) y derivados conjugados (esterilglicósidos, esterilglicósidos acilados y ésteres de ácido graso de fitoesteroides), cumpliendo un papel importante en los cambios de la membrana plasmática que acompaña la maduración (Moreau *et al.*, 2002 y Rudell *et al.*, 2011). Según estudios anteriores se destacan la importancia de la conjugación de fitoesteroides (esterificación y glucosidación) en la señalización y respuesta a los factores estresantes como factores ambientales y químicos de las plantas, incluido el estrés por temperatura fría (Boronat *et al.*, 2016 y Rudell *et al.*, 2011). Por los resultados encontrados, se podría decir que los fitoesteroides aislados de la palta no contribuyeron directamente con el mantenimiento de la funcionalidad y las propiedades de las membranas celulares, pero sí de manera indirecta mediante la función que desempeñan los esteroides conjugados ante un evento de estrés; además, se ha comprobado el comportamiento de los esteroides conjugados en tomate, pimiento, melón y manzana durante la maduración (Withaker, 2011); sin embargo, estudios en relación a los esteroides conjugados durante la maduración en palta son escasos y aún queda mucho por indagar.

4.7. EVOLUCIÓN DE LAS SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) DE LA PALTA CV. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACION EN ANAQUEL

El estrés oxidativo se considera una de las primeras respuestas de los tejidos sensibles al daño por frío, que tiene lugar durante su conservación a bajas temperaturas. Está asociado con la estimulación de la actividad lipoxigenasa, involucrada en reacciones de peroxidación de lípidos y la generación de especies reactivas de oxígeno (Hariyadi & Parkin, 1991). Por lo tanto, la peroxidación lipídica puede indicarse midiendo la concentración de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés), teniendo como principal sustancia reactiva, el malonaldehído (MDA), siendo este un producto final secundario de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (Papasterguiades *et al.*, 2012).

La Figura 19, muestra la evolución de la concentración de TBARS (mg MDA/ Kg bs) en la pulpa de palta Hass, al momento de ser cosechada y a los diferentes tratamientos al que ha sido sujeta en este estudio. De la Figura 19, se observa que no hubo cambios significativos

en el contenido de TBARS durante el almacenamiento en refrigeración, sin embargo, cuando las paltas alcanzaron su madurez de consumo en anaquel, se observaron aumentos significativos ($P < 0.05$) en especial en las paltas almacenadas por 30 días en refrigeración (Anexo 12). El aumento en las concentraciones de TBARS en la pulpa de la palta en anaquel sería un indicativo del daño peroxidativo de lípidos causado en el tejido de la fruta indicando mayores niveles de estrés oxidativo, que podrían haberse desarrollado como resultado de una mayor concentración de las EROS o una menor capacidad del sistema de protección del sistema antioxidante (Sevillano *et al.*, 2009).

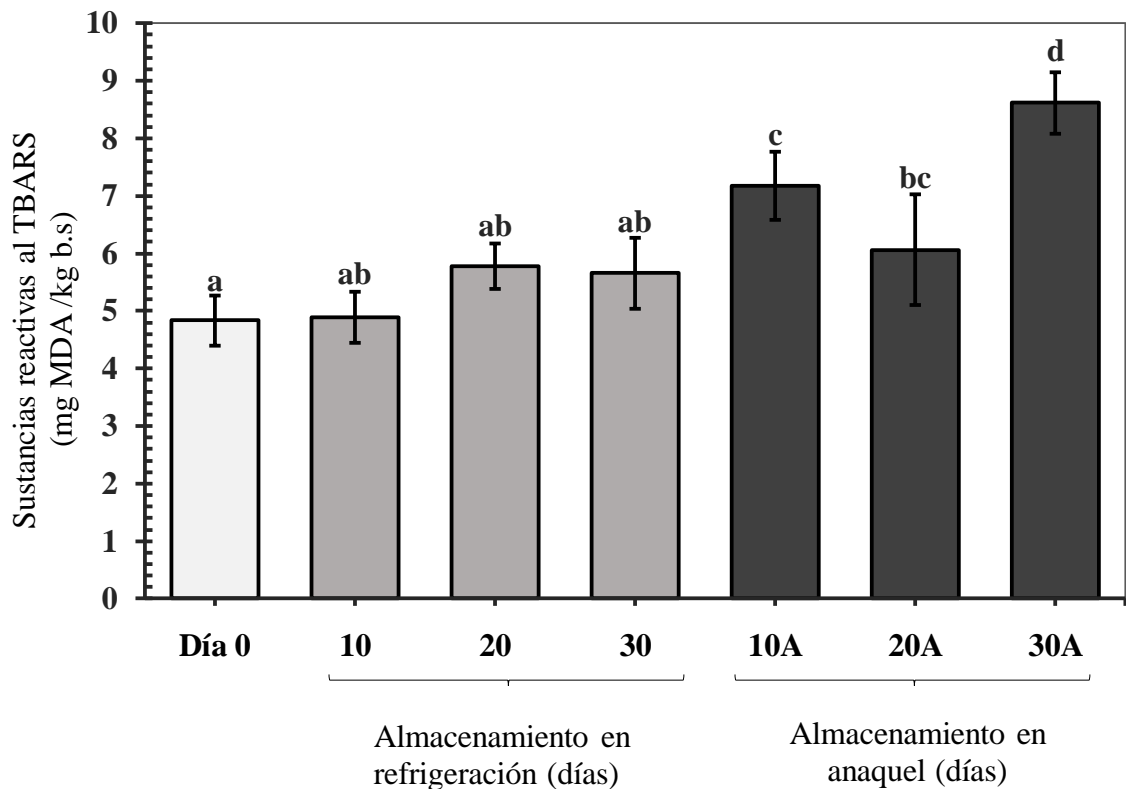


Figura 19: Sustancias reactivas al TBARS (mg MDA/Kg bs) en pulpa de la palta cv. Hass sometida a almacenamiento en refrigeración (7 °C) y a sus correspondientes madurez de consumo en anaquel (~20 °C).

Los resultados se expresan como medias \pm desviación estándar ($n = 5$). Las letras minúsculas diferentes sobre cada barra indica diferencias significativas ($P < 0.05$). 10A, 20A y 30A corresponden a la fruta lista para consumir (madurez comestible) sometida a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

Bill *et al.* (2014) mencionaron que la temperatura óptima de almacenamiento en palta varía entre 4 y 10 °C y tienden a sufrir daño por frío cuando son almacenada por debajo de 4 °C, por lo que el estrés por enfriamiento altera la fluidez de la membrana por el estrés oxidativo, que induce la peroxidación y la descomposición de los lípidos en la membrana (Sevillano *et al.*, 2009). En nuestro caso, las paltas estuvieron almacenadas a 7° C, lo cual cumple con lo recomendado por Sevillano *et al.* (2009), pero de igual forma se presentó un daño oxidativo, lo cual pudo también haber sido provocado por las características de la palta como la temporada de cosecha y el tiempo prolongado de almacenamiento. Tratamientos combinados con atmosfera modificada, shock térmico, entre otros, aumentan la resistencia de la palta al almacenamiento a temperaturas óptimas evitando el daño por frío y manteniendo la calidad de la fruta (Sivankalyani *et al.*, 2015). Por consiguiente, los desórdenes fisiológicos (pardeamiento de pulpa y vascular) fueron más evidentes (como se expondrá más adelante) durante la transición del almacenamiento en frío a temperatura ambiente, así como el aumento de las concentraciones de TBARS, alcanzando valores máximos de 8.62 mg MDA/Kg (b.s) en las paltas que maduraron después del almacenamiento en frío por 30 días. Al respecto Sevillano *et al.* (2009) Martinez-Tellez *et al.* (2002) y Carvajal *et al.* (2011) mencionan que el aumento de la peroxidación lipídica también ha sido asociado tanto a la maduración y senescencia como a los procesos del desarrollo de los daños por frío.

4.8. DESORDENES FISIOLÓGICOS EN LA PULPA DE LA PALTA CV. HASS ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACIÓN EN ANAQUEL

Los desórdenes fisiológicos son factores claves para la calidad de la palta y corresponden a una alteración en el tejido del fruto debido a factores externos, especialmente a la temperatura y composición atmosférica. Bill *et al.* (2014) reportó que estas alteraciones son síntomas asociados al daño por frío que reducen irreversiblemente la calidad externa e interna del fruto. Los principales desórdenes fisiológicos evaluados en este estudio fueron el pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular. Los frutos fueron evaluados inmediatamente después de sacarlos del almacenamiento en frío (7 °C) por 10, 20 y 30 días y también después de sus respectivas madurez de consumo en anaquel (~20 °C). En la Tabla 6 se muestran los resultados del análisis cualitativo expresados en porcentaje de palta cv. Hass con presencia de desórdenes fisiológicos como pardeamiento de pulpa y pardeamiento

vascular, adicionalmente en la Tabla 8 se presentan los resultados del análisis cuantitativo, donde se determinó la extensión del área pardeada en relación con el área total de la palta, ello expresado en porcentaje.

Con respecto al pardeamiento de pulpa en los frutos de palta, la presencia de este tipo de trastorno prácticamente inexistentes en la fruta evaluada a la salida de frío a los 10 y 20 días de almacenamiento. Sin embargo, a los 30 días se observó que el 20 por ciento de paltas presentaron incidencia de pardeamiento pero en un menor grado (grado 2) (Tabla 6 y Tabla 7). Al respecto Bill *et al.* (2014) menciona que la mancha a nivel de pulpa es un trastorno de baja temperatura (menor de 5 °C), y puede desarrollarse después de largos periodos de almacenamiento (dos a cuatro semanas). Asimismo, Osuna-García *et al.* (2017) encontró que el daño por frío interno fue prácticamente inapreciable cuando los frutos fueron almacenados a 6 y 8 °C y solo se manifestó ligeramente para frutos mantenidos a 4 °C por cuatro semanas de almacenamiento. Por otro lado, la incidencia del pardeamiento de pulpa fue consistentemente más alta en paltas que maduraron en anaquel después de 20 y 30 días de almacenamiento a 7 °C, alcanzando daños más severos de grado 3 y 4, respectivamente (Tabla 6 y Tabla 7). Resultados similares fue hallado por Burdón *et al.* (2017), quienes reportaron mayor incidencia de daño de pulpa cuando el tiempo de almacenamiento a 5°C fue extendido de 4 a 6 semanas. De lo anterior se rescata que, el daño por frío no solo va depender de la temperatura sino también del tiempo que permanece a dicha temperatura y otros factores que se detallarán más adelante.

Es importante mencionar que este desorden es caracterizado por un cambio de color en el área de la pulpa, el cual toma una coloración gris en un daño leve y negro en casos severos (García, 2010). Asimismo, se ha afirmado que el pardeamiento de pulpa se encuentra a nivel de la membrana como resultado de la exposición prolongada a la temperatura de frío, de esta manera, provocando la descompartimentación y el contacto de enzima-sustrato (Polifenoloxidasas - fenoles), que promueven reacciones de oscurecimientos (McCollum & McDonald, 1991; Penter *et al.*, 2000 y Espinosa-Cruz *et al.*, 2014).

Tabla 6: Porcentaje de palta cv. Hass con incidencia de pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular durante el almacenamiento en refrigeración (7°C y 85 por ciento de HR) y a madurez de consumo en anaquel (~20 °C).

	Escala*	Almacenamiento en refrigeración(días)			Almacenamiento en anaquel (días)		
		10	20	30	10A	20A	30A
Buen estado (%)	1	100	100	80	80	50	30
	2	0	0	20	20	20	30
Pardeamiento de pulpa (%)	3	0	0	0	0	20	20
	4	0	0	0	0	0	10
	5	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	10	10
Pardeamiento vascular (%)	3	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0

Escala no paramétrica de daño para pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular de rango de incidencia de 1 a 5, donde uno corresponde a frutos sin daño. 10A, 20A y 30A corresponden a las frutas con madurez de consumo cuando fueron sometidas a anaquel después de los 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

Otro desorden estudiado fue el pardeamiento vascular, en donde no se observó daño en paltas que han sido almacenados en frío hasta por 30 días y en paltas que alcanzaron madurez de consumo después del almacenamiento en frío por 10 días (Tabla 6). Sin embargo, el pardeamiento vascular estuvo presente en los frutos que maduraron en condiciones de anaquel después de la salida de cámara de frío a los 20 y 30 días, con el 10 por ciento de paltas que sufrieron daño moderado (grado 2). Por su parte, Burdón *et al.* (2017) reportó que el pardeamiento vascular fue común en las frutas que han madurado después del almacenamiento en frío a 5 °C por 4 semanas con una incidencia de 23.9 por ciento y este valor se incrementó cuando el tiempo de almacenamiento que fue de 6 semanas. En otros estudios, Thorp *et al.* (2010) y Penter *et al.* (2000) indicaron que el pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular están relacionado con niveles bajos de calcio en el cultivo de palta y este daño es más común en frutas con una madurez superior al 26 por ciento de materia seca y es afectado además a periodos largos de almacenamiento. Del mismo modo, Undurraga *et al.* (2003) menciona que uno de los problemas que presentan los frutos cosechados tardíamente es una disminución en la concentración de calcio en los tejidos, lo cual afecta la estabilidad de las membranas de las células haciendo que estas sean más

sensibles a las bajas temperatura y como consecuencia produce un aumento en la incidencia de desórdenes fisiológicos. En este estudio a pesar de que se trabajó con una temperatura adecuada para palta Hass, igual se presentaron desórdenes fisiológicos, por ello es posible que otros factores pudieran haber apoyado en la aparición de este comportamiento, entre el déficit de calcio en el palto. Por lo tanto, podemos decir para ambos pardeamiento, que la incidencia y severidad de los daños son afectadas por el grado de madurez fisiológico, la procedencia, época de cosecha, tamaño del fruto, así como la nutrición del cultivo (minerales como el calcio), temperatura y tiempo de almacenamiento, siendo los más importantes (Pantástico *et al.*, 1999; Nieto *et al.*, 2007 y Thorp *et al.*, 2010).

En cuanto a la extensión del área pardeada durante el almacenamiento en frío por 10 y 20 días no se evidenciaron oscurecimiento de pulpa, mientras que las paltas evaluadas inmediatamente después del almacenamiento refrigeración por 30 días presentaron 2.13 por ciento de área pardeada y estos valores se incrementaron cuando las paltas maduraron en anaquel, alcanzando un valor máximo de 5.11 por ciento (Tabla 7 y Tabla 8). De la misma manera, Escobar *et al.* (2017), reportaron un claro aumento del área afectada a mayores tiempos de almacenamiento a 5 °C por 35 días en paltas Hass. Independientemente del daño por frío, si la fruta se almacena en frío durante más de 30 días, la calidad de la fruta madura tiende a disminuir (Dixon *et al.*, 2003 y 2004). Por lo tanto, la vida de almacenamiento y calidad disminuye con la madurez, por ello las paltas que maduraron en anaquel (~20 °C) después del almacenamiento en frío por 30 días evidenciaron mayor porcentaje de área pardeada.

Tabla 7: Paltas cv. Hass almacenadas durante 10, 20 y 30 días en refrigeración (7°C) y su correspondiente almacenamiento en anaquel (~20 °C) hasta alcanzar la madurez de consumo.

	Almacenamiento en refrigeración (días)						Almacenamiento en anaquel (días)					
	10		20		30		10A		20A		30A	
Buen estado												
Pardeamiento de pulpa												
Pardeamiento vascular												

Donde: 10A, 20A y 30A corresponden a las frutas con madurez de consumo sometidas a condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente.

Tabla 8: Extensión del pardeamiento de pulpa (%) en la pulpa de palta cv. Hass almacenada durante 10, 20 y 30 días en refrigeración (7°C) y correspondiente almacenamiento en anaquel (~20 °C) hasta alcanzar la madurez de consumo.

	Almacenamiento en refrigeración (días)			Almacenamiento en anaquel (días)		
	10	20	30	10A	20A	30A
Área pardeada (%)	0.0	0.0	2.13	0.76	4.13	5.11

Donde: 10A, 20A y 30A corresponden a las frutas con madurez de consumo sometidas a maduración en condiciones de anaquel después de 10, 20 y 30 días de almacenamiento en frío, respectivamente. Las áreas de las paltas pardeadas fueron analizadas mediante el programa de Image J.

En relación a los frutos que maduraron en anaquel después de 10 y 20 días en refrigeración, la extensión del área pardeada fue de 0.76 y 4.13 por ciento, respectivamente. Arpia *et al.* (2015) informaron que los defectos de calidad fueron menores en paltas maduras después de un almacenamiento a 5 °C por 7 y 14 días, mientras que los defectos fueron mayores a los 21 días, además hace referencia que la extensión del tiempo de maduración aumenta el tiempo disponible para aumentar los defectos de calidad y se observó claramente en este estudio que las paltas que maduraron en anaquel luego de 20 y 30 días de refrigeración (20A y 30A) mostraron extensiones de áreas pardeadas similares y mayores a los que maduraron a luego de 10 días de refrigeración (10A). Por otra parte, es conveniente señalar que el pardeamiento de pulpa no solo es debida a desordenes fisiológicos, sino también pueden expresarse por daños mecánico y por patógenos, incluso la inducción de este trastorno ocurre durante el almacenamiento por ventilación deficiente, bajas temperatura y edad del fruto (Ramírez-Gil *et al.*, 2021).

Burdón *et al.* (2017) y Terán (2020) encontraron que la incidencia de fruta sana disminuye cuando el tiempo de almacenamiento en frío se prolonga, por tanto, afectando el tiempo de vida y calidad del producto. Por esta razón, es importante controlar el almacenamiento de la fruta a partir de diferentes edades o cosechas de palta, deben ser almacenados bajo refrigeración por tiempos adecuados para que a nivel celular no ocurra ruptura de membranas, lo cual promovería la presencia de daños en la pulpa (Escobar *et al.*, 2017).

4.9. CORRELACIÓN ENTRE LOS VARIABLES RESPUESTAS EVALUADAS EN LAS PALTAS CV. HASS ALMACENADAS EN REFRIGERACIÓN Y A SU CORRESPONDIENTE MADURACION EN ANAQUEL

La Tabla 9 muestra los coeficientes de Pearson obtenidas entre las variables respuestas: CAOX, carotenoides totales, tocoferoles totales, fitoesteroles totales, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y porcentaje de área pardeada, determinados en la pulpa de palta cv. Hass, sometidas a refrigeración y anaquel.

Tabla 9: Coeficiente de correlación (r) entre las variables respuestas

Variables	Coeficiente Pearson (r)	Valor - P
Capacidad antioxidante lipofílica y contenido de carotenoides totales	0.165	0.342
Capacidad antioxidante lipofílica y tocoferoles totales	0.212	0.222
Capacidad antioxidante lipofílica y fitoesteroles totales	-0.295	0.086
Capacidad antioxidante lipofílica y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	-0.334*	0.050
Capacidad antioxidante lipofílica y porcentaje de área pardeada	-0.328	0.054
Carotenoides totales y tocoferoles totales	0.787**	0.000
Carotenoides totales y fitoesteroles totales	0.278	0.106
Carotenoides totales y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	0.214	0.218
Carotenoides totales y porcentaje de área pardeada	0.019	0.912
Tocoferoles totales y fitoesteroles totales	0.480**	0.004
Tocoferoles totales y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	0.142	0.417
Tocoferoles totales y porcentaje de área pardeada	-0.029	0.867
Fitoesteroles totales y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	0.323	0.059
Fitoesteroles totales y porcentaje de área pardeada	0.255	0.140
Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y porcentaje de área pardeada	0.599**	0.000

Donde: Los datos totales es N = 35. La correlación es significativa en el nivel 0.05 (*) y 0.01 (**).

Al relacionar la capacidad antioxidante lipofílica con los metabolitos de características lipofílicas estudiados en este trabajo: carotenoides, tocoferoles y fitoesteroles totales en las paltas cv. Hass, se encontró que no presentaron una buena correlación, ya que los coeficientes Pearson fueron muy bajos ($r = -0.295 - 0.165$). Wang *et al.* (2010) y Martínez (2020) también indicaron que los pigmentos (carotenoides) y tocoferoles no fueron los principales compuestos antioxidantes en la palta cv. Hass. De hecho, otros compuestos como los ácidos grasos insaturados pueden actuar como antioxidantes dependiendo del grado de insaturación, como plantea Villa-Rodríguez *et al.* (2011). Por otro lado, la capacidad antioxidante lipofílica presentó una correlación baja y negativa con el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) ($r = -0.334$) y con el porcentaje de área pardeada ($r = -0.328$).

Por otra parte, los contenidos de carotenoides y tocoferoles totales mostraron una correlación baja con los fitoesteroles ($r = 0.278$ y 0.480 , respectivamente), pero se determinó una alta correlación positiva entre las dos primeras variables, con un valor de 0.789 . Lo anterior se debería a que carotenoides y tocoferoles son compuestos lipofílicos que actúan en forma sinérgica para proporcionar mayor actividad antioxidante (Zhang *et al.*, 2014). También se observa una correlación débil de los compuestos lipofílicos trabajados en este estudio (carotenoides, tocoferoles y fitoesteroles) con las respuestas al estrés oxidativo (producción de TBARS y porcentaje de área pardeada), lo que confirma que los compuestos lipofílicos vistos en esta investigación no mostraron una importante participación ante el estrés generado en la palta cv. Hass, bajo las condiciones del estudio.

Otros estudios han reportado menor capacidad antioxidante en los extractos lipofílicos respecto a los extractos hidrofílicos de frutas tropicales como mango, papaya, piña y palta (Wang *et al.*, 2010; Gali *et al.*, 2009). Entonces se podría decir que la capacidad antioxidante lipofílica no contribuye sustancialmente a la capacidad antioxidante total y por ello la poca participación de los compuestos antioxidantes lipofílicos (carotenoides y tocoferoles), siendo más importante la contribución de los compuestos hidrofílicos entre los que se encuentran los fenólicos. Según Robles-Sánchez *et al.* (2007) la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos puede ser hasta 5 veces mayor a la de los carotenos en productos como la piña, plátano y mango.

Es necesario mencionar que la concentración de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) presentó una buena correlación positiva con el porcentaje de área pardeada en la pulpa de palta, obteniéndose un valor de coeficiente de Pearson de 0.599. Estos resultados fueron similares a lo hallado por Singh (2012) en ciruelas japonesas con una correlación positiva de 0.83 entre las concentraciones de MDA y la gravedad del daño por frío. Además, estudios previos informaron que las concentraciones de MDA aumentan en respuesta al estrés por frío en frutas como plátano, mango y papaya (Ding *et al.*, 2007; Promyou *et al.*, 2008 y Galli *et al.*, 2009). Al respecto se puede decir que las bajas temperaturas y el almacenamiento prolongado mostraron un efecto en la calidad de la palta, evidenciándose a través de la acumulación de marcadores del estrés oxidativo y síntomas del daño por frío y aún más considerando que este fruto es sensible a esta fisiopatía. De ahí que se observó daños fisiológicos severos (pardeamiento de pulpa y pardeamiento vascular) en las paltas que fueron almacenados en frío por 30 días y su respectiva maduración en anaquel.

V. CONCLUSIONES

1. Las características iniciales de la palta cv. Hass fueron determinadas por la tasa de respiración, peso, materia seca y contenido de aceite con valores de 181.29 mg CO₂ Kg⁻¹. h⁻¹, 201.45 g , 25.67 por ciento y 14.49 por ciento, respectivamente.
2. Durante el almacenamiento en refrigeración de las paltas cv Hass y posterior maduración en anaquel, no se encontraron diferencias significativas en los contenidos de materia seca y aceite; además de establecer una alta relación positiva entre ambas variables.
3. En general, la capacidad antioxidante lipofílica y los contenidos de carotenoides, tocoferoles y fitoesteroles, en las paltas no mostraron cambios significativos durante el almacenamiento en refrigeración y posterior almacenamiento en anaquel hasta alcanzar la madurez de consumo. Por otra parte, se encontró una baja correlación entre los compuestos citados con la capacidad antioxidante lipofílica.
4. Los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico encontrados evidenciaron el desarrollo de la peroxidación lipídica en las paltas sometidas a refrigeración, siendo más alta en los frutos que alcanzaron madurez de consumo después de la salida de frío a 7 °C a los 30 días. Además, se encontró una correlación positiva entre las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y la extensión del área de pardeamiento en la pulpa. De otro lado, la correlación entre el área pardeada y el contenido de carotenoides y tocoferoles fue baja.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de permeabilidad de la membrana celular en pulpa y su relación con la aparición de desórdenes fisiológicos y el estrés oxidativo. Además, considerar estudios del comportamiento del etileno de la palta Hass peruana cultivadas en las zonas de la costa y sierra y su efecto sobre la calidad del fruto.
- Realizar un análisis del impacto del almacenamiento en frío de las paltas recién cosechadas en la calidad de la fruta, en función a la temporada de cosecha, incluida las características sensoriales.
- En próximos estudios, considerar los factores agronómicos pre-cosecha como: condiciones de manejo de cultivo, nutrición de la planta y los diferentes estreses (hídrico, temperatura, otros), a los cuales pueden estar sometidos las plantas durante el desarrollo del fruto, con el fin de identificar el comportamiento del sistema de defensa lipofílico e hidrofílico de las paltas.

VII. BIBLIOGRAFIA

- AgroFórum. (12 de abril de 2018). Postcosecha de la palta Hass: Guía fotográfica de los atributos de calidad. AgroFórum.pe, tu agro herramienta virtual. Recuperado de <https://www.agroforum.pe/agro-noticias/postcosecha-de-palta-hass-guia-fotografica-de-atributos-de-calidad-13374/?langid=1>
- Ahmed, D.; Yousef, A.; Hassan, H. (2010). Relationship between electrical conductivity, softening and color of Fuerte avocado fruits during ripening. *Agriculture Biology Journal North America*, 1(5), 878-885. doi: <http://dx.doi.org/10.5251/abjna.2010.1.5.878.885>
- Alique, R.; Zamorano, J.; Calvo, M.; Merodio, C.; José, L. (1994). Tolerancia de la chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) Al almacenamiento en frío. *Revista de la Sociedad Estadounidense de Ciencias Hortícolas*, 119 (3), 524-528. doi: <https://doi.org/10.21273/JASHS.119.3.524>
- Álvarez, L.; Moreno, A.; Ochoa, F. (2012). Avocado. In M. Siddiq (Eds). *Tropical and subtropical fruits: Postharvest Physiology, processing and packaging* (pp. 437-454). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Amaral, J.; Alves, M.; Seabra, R.; Oliveira, B. (2005). Vitamin E composition of walnuts (*Juglans regia* L.): a 3-year comparative study of different cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(13), 5467-5472. doi: <https://doi.org/10.1021/jf050342u>
- Ames, B.; Shigenaga, M.; Hagen, T. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.17.7915>

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1995). Official methods of analysis. 16th Edition. Washington D.C. USA.
- Araujo, R.; Rodríguez-Jasso, R.; Ruiz, H.; Pintado, M.; Aguilar, C. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 51-60. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>.
- Arnao, M.; Cano, A.; Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food chemistry*, 73(2), 239-244. doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1)
- Arpaia, M.; Collin, S.; Sievert, J.; Obenland, D. (2015). Influence of cold storage prior to and after ripening on quality factors and sensory attributes of 'Hass' avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 149-157. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.016>.
- Arpaia, M.; Collin, S.; Sievert, 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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.02.015>
- Ashton, O.; Wong, M.; Mcghie, T.; Vather, R.; Wang, Y.; Requejo-Jackman, C.; ... Woolf, A (2006). Pigments in avocado tissue and oil. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 54, 10151-10158. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jf061809j>
- Bailly, C., & Kranner, I. (2011). Analyses of reactive oxygen species and antioxidants in relation to seed longevity and germination. In *Seed Dormancy* (pp. 343-367). Humana Press. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-231-1_20
- Benzie, I. (2003). Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 136(1), 113-126. doi: [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00368-9](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00368-9)
- Bernal, J.; Díaz, C.; Tamayo, A.; Cordoba, O.; Londoño, M. (2008). Tecnología para el cultivo del aguacate. Corporación colombiana de Investigación Agropecuaria, Antioquia (Colombia). Recuperado de https://books.google.com.pe/books/about/Tecnologia_Para_El_Cultivo_Del_Aguacate.html?id=t_Z7nMjbhCMC&redir_esc=y

- Bill, M.; Sivakumar, D.; Thompson, A.; Korsten, L. (2014). Avocado fruit quality management during the postharvest supply chain. *Food Reviews International*, 30(3), 169-202. doi: <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.907304>
- Blakey, R.; (2011). Management of avocado postharvest physiology (Doctoral dissertation). Recuperado de <http://ukzn-dspace.ukzn.ac.za/handle/10413/7893>.
- 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 Biology and Technology*, 53(1-2), 72-76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.004>
- Blakey, R.; Tesfay, S.; Bertling, I.; Bower, J. (2014). Ripening physiology and quality of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) after cold storage at 1°C. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89(6), 655-662. doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2014.11513134>
- Boronat, A.; Ferrer, A., & Altabella, T. (2016). Grupo de metabolismo de esteroides en plantas: implicaciones en desarrollo y respuestas a estrés. *SEFV*, 27. Revisado en <http://www.sefv.es/wp-content/uploads/2014/11/Bolet%C3%ADn-63-Julio-2016.pdf#page=27>
- Bouzo, C & Gariglio, N. (2016). Relationship between different physical properties of tomato fruits and water loss during postharvest. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 15(1), 13-25. Recuperado de <http://www.acta.media.pl/pl/full/7/2016/000070201600015000010001300025.pdf>
- Bower, J. & Cutting, J. (1988). Avocado fruit development and ripening physiology. *Horticultural reviews*, 10(1982), 229-271. Recuperado de http://www.avocadosource.com/Journals/HorticulturalReviews/HortRev_1988_PG_229-271.pdf
- Burdon, J.; Billing, D.; & Pidakala, P. (2017). Avoiding chilling damage in 'Hass' avocado fruit by controlled atmosphere storage at higher temperature. *HortScience*, 52(8), 1107-1110. doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI12070-17>

- Campos, D.; Terán-Hilares, F.; Chirinos, R.; Aguilar-Galvez, A.; García-Ríos, D.; Pacheco-Avalos, A.; Pedreschi, R. (2020). Bioactive compounds and antioxidant activity from harvest to edible ripeness of avocado cv. Hass (*Persea americana*) throughout the harvest seasons. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(5), 2208-2218. doi : <https://doi.org/10.1111/ijfs.14474>
- Carvajal, F.; Martínez, C.; Jamilena, M.; Garrido, D. (2011). Differential response of zucchini varieties to low storage temperature. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 90-96. doi : <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.016>
- Carvalho, C.; Velásquez, M.; Van Rooyen, Z. (2014). Determination of the minimum dry matter index for the optimum harvest of 'Hass' avocado fruits in Colombia. *Agronomía Colombiana*, 32(3), 399-406. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/agron.colomb.v32n3.46031>
- Castellanos, D.; Mendoza, R.; Gavara, R.; Herrera, A. (2016). Respiration and ethylene generation modeling of “Hass” avocado and feijoa fruits and application in modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 333-349. doi: <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1160921>
- Cerdas - Araya, M.; Montero - Calderón, M.; Somarribas - Jones, O. (2014). Verificación del contenido de materia seca como indicador de cosecha para aguacate (*Persea americana*) cultivar Hass en zona intermedia de producción de de los Santos Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 38(1), 207-214. Recuperado de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242014000100014
- Cerdas - Araya, M.; Montero-Calderón, M.; Díaz - Cordero, E. (2006). Manual de manejo pre y poscosecha de aguacate (*persea americana*) (No. 3778). Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José (Costa Rica) Centro de Investigaciones Agronómicas, San José Consejo Nacional de Producción, San José (Costa Rica)
- Choudhury, F.; Rivero, R.; Blumwald, E.; & Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, 90(5), 856-867. doi : <https://doi.org/10.1111/tbj.13299>
- Chun-Ta, W.; Roan, S.; Hsiung, T.; Chen, I.; Shyr, J.; Wakana, A. (2011). Effect of harvest maturity and heat pretreatment on the quality of low temperature storage avocados in Taiwan. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ*, 56(2), 255-262. Recupered from

<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.901.8375&rep=rep1&type=pdf>

- Cowan, K & Wolstenholme, N. (2016). Avocado. In B. Caballero, P.M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.). *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 294-300). Oxford: Academic Press. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00049-0>
- Cutting, J & Wolstenholme, B. (1992). Maturity and water loss effects on avocado (*Persea americana Mill.*) postharvest physiology in cool environments. *Journal of horticultural science*, 67(4), 569-575. doi: <https://doi.org/10.1080/00221589.1992.11516285>
- 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. doi: 10.1016/j.foodres.2010.04.025
- Da Silva, M.; Furlan, C.; Marques, A.; Bicas, J.; Pastore, G.; Maróstica, J. (2015). Phytosterols: Biological effects and mechanisms of hypocholesterolemic action. *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and applications*, 565-581. doi: <https://doi.org/10.1002/9781118733103.ch23>
- Defilippi, B. G.; Ejsmentewicz, T.; Covarrubias, M. P.; 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. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.05.018
- Defilippi, B.; Ferreyra, R.; Rivera, S. (2015). Optimización de la calidad de palta ‘Hass’: Herramientas para enfrentar nuevos desafíos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile. Recuperado de http://www.avocadosource.com/papers/Bulletins/DefilippiBruno2015_Chapter1.pdf
- Del Río, L. A., & López-Huertas, E. (2016). ROS generation in peroxisomes and its role in cell signaling. *Plant and Cell Physiology*, 57(7), 1364-1376. doi: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw076>
- Della Penna, D. (2005). A decade of progress in understanding vitamin E synthesis in plants. *Journal of plant physiology*, 162(7), 729-737. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.04.004>

- Díaz-Pérez J.C. (2019). Transpiration. In: E.M. Yahia & A.C. Lopez (Eds.) *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, Elsevier Internacional, United Kingdom, pp. 157-172.
- Díaz-Pérez, J. C., Muy-Rangel, M. D., & Mascorro, A. G. (2007). Fruit size and stage of ripeness affect postharvest water loss in bell pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(1), 68-73. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2672>
- Ding, Z.; Tian, S.; Zheng, X.; Zhou, Z.; Xu, Y. (2007). Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. *Physiologia Plantarum*, 130(1), 112-121. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00893.x>
- Dixon, J.; Pak, H.; Mandemaker, A.; Smith, D.; Elmsly, T.; Cutting, J.(2003). Fruit age management: the key to successful long distance export of New Zealand avocados. In *Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate)* (pp. 623-628). Recuperate from http://www.avocadosource.com/WAC5/Papers/wac5_p623.pdf
- Dixon, J.; Smith, D.; Elmsly, T. (2004). Fruit age, storage temperature and maturity effects on Hass avocado fruit quality and ripening. *New Zealand Avocado Growers Association Annual Research Report*, 4, 47-53. Recuperate from http://avocadosource.com/Journals/NZAGA/NZAGA_2004/NZAGA_2004_47.pdf
- Dodd, M.; Cronje, P.; Taylor, M.; Huysamer, M.; Kruger, F.; Lotz, E.; Merwe, K. (2010). A review of the post-harvest handling of fruits in South Africa over the past twenty-five years. *South African Journal of Plant and Soil*, 27(1), 97-116. doi: <https://doi.org/10.1080/02571862.2010.10639974>
- Donetti, M., & Terry, L. (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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.011>
- Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013). Hass avocado composition and potential health effects. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(7), 738-750. doi:10.1080/10408398.2011.556759.

- Duchateau, 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. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(3), 273-278. doi: <https://doi.org/10.1007/s11746-002-0473-y>
- Edge, R., & Truscott, T. (2010). Properties of carotenoid radicals and excited states and their potential role in biological systems (pp. 283-308). CRC Press: Boca Raton, FL, USA.
- Egea, M.; Sánchez-Bel, P.; Martínez-Madrid, M.; Flores, F.; Romojaro, F. (2007). The effect of beta ionization on the antioxidant potential of 'Búlida' apricot and its relationship with quality. *Postharvest biology and technology*, 46(1), 63-70. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.04.002>.
- Escobar, J.; Rodríguez, P.; Cortes, M.; Correa, G. (2017). Evaluación del color externo y daños en el mesocarpio de aguacate (*Persea americana* Mill. cv. Hass) bajo condiciones de almacenamiento en frío y maduración controlada. *Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate*, pp. 436-445. Recuperado de http://www.avocadosource.com/Journals/Memorias_VCLA/2017/Memorias_VCLA_2017_PG_436.pdf
- Escobar, J.; Rodríguez, P.; Cortes, M.; Correa, G. (2019). Influencia de la materia seca como Índice de madurez de cosecha y tiempo de almacenamiento en frío sobre la calidad del aguacate cv. Hass producido en la región del trópico alto. *Información tecnológica*, 30(3), 199-210. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000300199>
- Espinosa-Cruz, C.; Valle-Guadarrama, S.; Ybarra-Moncada, M.; Martínez-Damián, M. (2014). Comportamiento postcosecha de frutos de aguacate 'Hass' afectado por temperatura y atmósfera modificada con microperforado. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(3), 235-242. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802014000300009&script=sci_arttext
- Falk, J., & Munné-Bosch, S. (2010). Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond. *Journal of experimental botany*, 61(6), 1549-1566. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erq030>

- Fanciullino, A.; Bidel, L.; Urban, L. (2014). Carotenoid responses to environmental stimuli: integrating redox and carbon controls into a fruit model. *Plant, Cell & Environment*, 37(2), 273-289. doi: <https://doi.org/10.1111/pce.12153>
- FAOSTAT. (2018). Food and Agriculture Statistical Division [en línea]. Recuperate from www.fao.org/faostat/en/#data/TP
- Ferreira da Vinha, A.; Moreira, J.; Barreira, S. (2013). Physicochemical parameters, phytochemical composition and antioxidant activity of the algarvian avocado (*Persea americana Mill.*). *Journal of Agricultural Science*, 5(12), 100-109.
- Ferreira, R.; Sellés, G.; Saavedra, J.; Ortiz, J.; Zúñiga, C.; Troncoso, C.; ... 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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.10.006>
- Florissen, P.; Ekman, J.; Blumenthal, C.; McGlasson, W.; Conroy, J.; Holford, P. (1996). The effects of short heat-treatments on the induction of chilling injury in avocado fruit (*Persea americana Mill.*). *Postharvest Biology and Technology*, 8(2), 129-141. doi: [https://doi.org/10.1016/0925-5214\(96\)00063-4](https://doi.org/10.1016/0925-5214(96)00063-4)
- Fox, A.; Del Pozo-Insfran, D.; Lee, J.; Sargent, S.; Talcott, S. (2005). Ripening-induced chemical and antioxidant changes in bell peppers as affected by harvest maturity and postharvest ethylene exposure. *HortScience*, 40(3), 732-736. doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.3.732>
- Fritsche, S.; Wang, X.; Jung, C. (2017). Recent advances in our understanding of tocopherol biosynthesis in plants: an overview of key genes, functions, and breeding of vitamin E improved crops. *Antioxidants*, 6(4), 99. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox6040099>
- Galli, F.; Archbold, D.; Pomper, K. (2009). Pawpaw fruit chilling injury and antioxidant protection. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 134(4), 466-471. doi: <https://doi.org/10.21273/JASHS.134.4.466>
- García, J.; López, M.; Barraza, M.; Valdivia, V.; & Martínez, V. (2004). Mejoramiento de vida de anaquel y calidad de frutos de aguacate Hass con 1-Metilciclopropeno 1-MCP.

INIFAP, Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro, Campo Experimental Santiago Ixcuintla.

García, R. (2010). Estudio de la participación de genes claves de la biosíntesis de lípidos en el desarrollo de desórdenes fisiológicos en palta cv. Hass (Tesis de Maestría, Chile-Universidad Andrés Bello). Recuperada de <http://repositorio.unab.cl/xmlui/handle/ria/3109>

García-Rojas, M.; Morgan, A.; Gudenschwager, O.; Zamudio, S.; Campos-Vargas, R.; González-Aguero, M.; Defilippi, B. (2016). La biosíntesis de los volátiles derivados de los ácidos grasos en el aguacate 'Hass' está modulada por el etileno y las condiciones de almacenamiento durante la maduración. *Scientia Horticulturae*, 202, 91-98. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.02.024>

Gestión (06 de abril de 2021). Cuatro mil nuevas hectáreas de palta impulsarán el crecimiento de esta campaña. *Gestión*. Recuperada de <https://gestion.pe/economia/empresas/cuatro-mil-hectareas-jovenes-de-palta-potenciaran-crecimiento-de-esta-campana-prohass-noticia/>

Gómez, P.; Ferrer, M.; Fernández-Trujillo, J.; Calderón, A.; Artes, F.; Egea-Cortines, M.; & Weiss, J. (2009). Structural changes, chemical composition and antioxidant activity of cherry tomato fruits (cv. Micro-Tom) stored under optimal and chilling conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(9), 1543-1551. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3622>

Guzmán-Maldonado, S.; Osuna-García, J. A.; Herrera-González, J. (2017). Efecto de localidad y madurez sobre el perfil de ácidos grasos del fruto de aguacate 'Hass'. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(SPE19), 3885-3896. doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.657>

Hadjipieri, M.; Georgiadou, E.; Marin, A.; Diaz-Mula, H.; Goulas, V.; Fotopoulos, V., ... & Manganaris, G. (2017). Metabolic and transcriptional elucidation of the carotenoid biosynthesis pathway in peel and flesh tissue of loquat fruit during on-tree development. *BMC plant biology*, 17(1), 102. doi: <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1041-3>

- Hariyadi, P., & Parkin, K. L. (1991). Chilling-induced oxidative stress in cucumber fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 1(1), 33-45. doi: [https://doi.org/10.1016/0925-5214\(91\)90017-6](https://doi.org/10.1016/0925-5214(91)90017-6)
- Hass Avocado Board. (June, 2019). Country Profile: Peru. Recovered from <https://hassavocadoboard.com/country-profiles-market-reviews/>
- Hernández, I.; Fuentealba, C.; Olaeta, J.; Lurie, S.; Defilippi, B.; Campos-Vargas, R.; & Pedreschi, R. (2016). Factors associated with postharvest ripening heterogeneity of 'Hass' avocados (*Persea americana* Mill). *Fruits*, 71(5), 259-268. doi: <https://doi.org/10.1051/fruits/2016016>
- Herrera-González, J.; & Salazar-García, S. (2017). Impactos al fruto de aguacate 'Hass' en la línea de empaquetado y su efecto en la calidad poscosecha. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(SPE19), 4049-4061. doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.672>
- Hofman, P.; Bower, J.; Woolf, A. (2013). Harvesting, packing, postharvest technology, transport and processing. In: A.W. Whiley, B.A. Schaffer, B.N. Wolstenholme (Ed. 2) *The avocado: botany, production and uses*, CAB International, London, UK, pp. 489-540.
- Hofman, P.; 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(4), 694-695. doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.4.694>
- Hurtado-Fernández, E.; Fernández-Gutiérrez, A.; Carrasco-Pancorbo, A. (2018). Avocado fruit - *Persea americana*. In *Exotic fruits* (pp. 37-48). Academic Press. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0>
- Jomova, K & Valko, M. (2013). Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *European Journal of Medicinal Chemistry* 70:102- 110. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.054>
- Kader, A & Yahia, E. (2011). Postharvest biology of tropical and subtropical fruits. In *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (pp. 79-111). Woodhead Publishing. doi: <https://doi.org/10.1533/9780857093622.79>

- Kader, A. (2002). Postharvest technology of horticultural crops. 3rd ed. Univ. California Agriculture and Natural Resources. Publication 3311.
- Karadag, A.; Ozcelik, B.; Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods*, 2(1), 41-60. doi: <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Kassim, A.; Workneh, T.; Bezuidenhout, C. (2013). A review on postharvest handling of avocado fruit. *African Journal of Agricultural Research*, 8(21), 2385-2402. doi: <https://doi.org/10.5897/AJAR12.1248>
- Khoo, H.; Prasad, K.; Kong, K.; Jiang, Y.; Ismail, A., (2011) Carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. *Molecules* 16, 1710–1738. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules16021710>
- Kratsch, H.; & Wise, R. (2000). The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell & Environment*, 23(4), 337-350. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00560.x>
- Kritzinger, M., & Kruger, F. (1997). Preliminary results on the evaluation of hot water heatshock treatment of South African avocados. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 20, 15.
- Lagarda, M.; García-Llatas, G.; Farré, R. (2006). Analysis of phytosterols in foods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1486-1496. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.02.052>
- Landahl, S., Meyer, M. D., & Terry, L. A. (2009). Spatial and temporal analysis of textural and biochemical changes of imported avocado cv. Hass during fruit ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 7039-7047. doi: <https://doi.org/10.1021/jf803669x>
- Larcher, W. (2003). *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer Science & Business Media.
- Li, H.; Tsao, R.; y Deng, Z. (2012). Factors affecting the antioxidant potential and health benefits of plant foods. *Canadian journal of plant science*, 92(6), 1101-1111. doi: <https://doi.org/10.4141/cjps2011-239>

- Liu, X.; Robinson, P.; Madore, M.; Witney, G.; Arpaia, M. (1999). Hass' avocado carbohydrate fluctuations. II. Fruit growth and ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124(6), 676-681. doi: <https://doi.org/10.21273/JASHS.124.6.676>
- Lizana, L.; Salas, M.; Berger, H. (1992). The influence of harvest maturity, type of packing and temperatures on avocado quality. In *Proc. Of second avocado congress* (pp. 435-442). Recovered from http://www.avocadosource.com/WAC2/WAC2_p435.pdf
- Lozano-Grande, M.; Gorinstein, S.; Espitia-Rangel, E.; Dávila-Ortiz, G.; Martínez-Ayala, A. (2018). Plant sources, extraction methods, and uses of squalene. *International journal of agronomy*, 2018.
- Lu, Q.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Wang, D.; Lee, R.; Gao, K., ... & Heber, D. (2009). California Hass avocado: profiling of carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(21), 10, 408-10, 413. doi: <https://doi.org/10.1021/jf901839h>
- Lurie, S., & Crisosto, C. H. (2005). Chilling injury in peach and nectarine. *Postharvest biology and technology*, 37(3), 195-208. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.04.012>
- Lurie, S.; & Ben-Arie, R. (1983). Microsomal membrane changes during the ripening of apple fruit. *Plant physiology*, 73(3), 636-638. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.73.3.636>
- Lushchak, V & Semchuk, N. (2012). Tocopherol biosynthesis: chemistry, regulation and effects of environmental factors. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(5), 1607-1628. Recovered from <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11738-012-0988-9.pdf>
- Luza, J.; Lizana, L.; Masson, L. (1989, June). Comparative lipids evolution during cold storage of three avocado cultivars. In *Symposium on Tropical Fruit in International Trade 269* (pp. 153-160). doi: 10.17660/ActaHortic.1990.269.20
- Maftoonazad, N., & Ramaswamy, H. (2008). Effect of pectin-based coating on the kinetics of quality change associated with stored avocados. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(4), 621-643. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00203.x>

- Magwaza, L.; & Tesfay, S. (2015). A review of destructive and non-destructive methods for determining avocado fruit maturity. *Food and bioprocess technology*, 8(10), 1995-2011. doi: <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1568-y>
- Marrero, A. (2019). Bases fisiológicas de la poscosecha. En: Conesa, C.; Lopez, S.; Papasseit, P.; Namesny, A. (Ed. 2) *Tecnología poscosecha “cítricos y cultivos emergentes en la comunidad valenciana”*, ISBN International, Valencia, España, pp. 25-55
- Martínez, S. (2020). Evaluación de marcadores físico-químicos y metabolómicos con mayor incidencia en la maduración heterogénea de la palta (*Persea americana*) variedad Hass” (Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional Agraria La Molina). Recuperada de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/4427>
- Martínez-Téllez, M.; Ramos-Clamont, M.; Gardea, A.; Vargas-Arispuro, I. (2002). Efecto de las poliaminas infiltradas sobre la actividad de la poligalacturonasa y las respuestas a lesiones por frío en la calabaza de calabacín (*Cucurbita pepo* L.). *Comunicaciones de investigación bioquímica y biofísica*, 295 (1), 98-101.
- McCollum, TG & McDonald, RE (1991). Fugas de electrolitos, respiración y producción de etileno como índices de daño por frío en toronjas. *HortScience*, 26 (9), 1191-1192. doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.26.9.1191>
- Megías, Z.; Martínez, C.; Manzano, S.; García, A.; Reboloso-Fuentes, M.; Garrido, D.; Jamilena, M. (2015). Individual shrink wrapping of zucchini fruit improves postharvest chilling tolerance associated with a reduction in ethylene production and oxidative stress metabolites. *PloS one*, 10(7). doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133058>
- Meurens, M.; Baeten, V.; Yan, S.; Mignolet, E.; Larondelle, Y. (2005). Determination of the conjugated linoleic acids in cow's milk fat by Fourier transform Raman spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(15), 5831-5835. doi: <https://doi.org/10.1021/jf0480795>
- Meyer, M. D., & Terry, L. A. (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(4), 1203-1210. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.005>

- Ministerio de Agricultura y Riego. (2015). La Palta “Producto Estrella de Exportación” Tendencias de la producción y el comercio de palta en el mercado internacional y nacional. MINAGRI-DGPA. Perú
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2019). Situación del Mercado Internacional de la Palta. [en línea]. Recuperado de <http://bibliotecavirtual.minagri.gob.pe/index.php/analisis-economicos/estudios/2019/28-la-situacion-del-mercado-internacional-de-la-palta/file>
- Miras-Moreno, B.; Sabater-Jara, A.; Pedreno, M.; Almagro, L. (2016). Bioactivity of phytosterols and their production in plant in vitro cultures. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(38), 7049-7058. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02345>
- Mittler, R.; Vanderauwera, S.; Gollery, M.; Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9(10), 490-498. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>
- Montero-Calderón, M.; & Cerdas-Araya, M. (2012). Postharvest physiology and storage. In: M. Siddiq, J. Ahmed, M.G. Lobo y F. Ozadali (Eds). *Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest Physiology, Processing and Packaging*, Wiley-Blackwell, London, UK, pp. 17-33.
- Moreau, R.; Nyström, L.; Whitaker, B.; Winkler-Moser, J.; Baer, D.; Gebauer, S.; Hicks, K. (2018). Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses. *Progress in lipid research*, 70, 35-61. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.001>
- Moreau, R.; Whitaker, B.; Hicks, K. (2002). Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in lipid research*, 41(6), 457-500. doi: [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(02\)00006-1](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(02)00006-1)
- Munne-Bosch, S. (2005) The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *J Plant Physiol* 162:743–748. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.04.022>
- Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (2002). The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(1), 31-57. doi: <https://doi.org/10.1080/0735-260291044179>

- Ngamwonglumlert, L.; Devahastin, S.; Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(15), 3243-3259. doi: <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498>
- Nieto, A.; Acosta-Ramos, M.; Téliz-Ortiz, D. (2007). El manejo postcosecha del aguacate. In: *el aguacate y su manejo integrado*. Téliz, D. y Mora, A. (Ed.). Ed. Mundiprensa, México, D. F. 211-219 pp
- Nisar, N.; Li, L.; Lu, S.; Khin, N.; & Pogson, B. (2015). Carotenoid metabolism in plants. *Molecular plant*, 8(1), 68-82. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007>
- Norma Técnica Peruana. (2014). Palta. Requisito. (NTP 011.018). [en línea] Recuperada de <http://www.prohass.com.pe/norma-tecnica-de-la-palta>
- Obenland, D.; Collin, S.; Sievert, J.; Negm, F.; Arpaia, M. (2012). Influence of maturity and ripening on aroma volatiles and flavor in ‘Hass’ avocado. *Postharvest biology and technology*, 71, 41-50. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.03.006>
- Ochoa-Ascencio, S.; Hertog, M.; Nicolai, B. (2009). Modelling the transient effect of 1-MCP on ‘Hass’ avocado softening: A Mexican comparative study. *Postharvest Biology and Technology*, 51(1), 62-72. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.06.002>
- Olaeta, J & Undurraga, P. (1995). Estimación del índice de madurez en paltos. *Tecnologías de cosecha y poscosecha de frutas y hortalizas*. ASAE, Michigan, 421-426.
- Olivares, D.; Alvarez, E.; Véliz, D.; García-Rojas, M.; Díaz, C.; Defilippi, B. (2020). Effects of 1-Methylcyclopropene and Controlled Atmosphere on Ethylene Synthesis and Quality Attributes of Avocado cvs. Edranol and Fuerte. *Journal of Food Quality*, 2020. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/5075218>
- Orhevba, B & Jinadu, A. (2011). Determination of physico-chemical properties and nutritional contents of avocado pear (*Persea americana* M.). *Academic Research International*, 1(3), 372. Recuperado de [http://www.savap.org.pk/journals/ARInt./Vol.1\(3\)/2011\(1.3-38\).pdf](http://www.savap.org.pk/journals/ARInt./Vol.1(3)/2011(1.3-38).pdf)

- Ornelas-Paz, J.; Yahia, E.; Gardea-Bejar, A. (2007). Identification and Quantification of Xanthophyll Esters, Carotenes, and Tocopherols in the Fruit of Seven Mexican Mango Cultivars by Liquid Chromatography– Atmospheric Pressure Chemical Ionization– Time-of-Flight Mass Spectrometry [LC-(APCI+)-MS]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6628-6635. doi: <https://doi.org/10.1021/jf0706981>
- Osuna García, J.; Nolasco González, Y.; Herrera González, J.; Guzmán Maldonado, S.; & Álvarez Bravo, A. (2017). Influencia del clima y rugosidad sobre la tolerancia a refrigeración del aguacate ‘Hass’. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(SPE19), 3911-3921. doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.660>
- Ozdemir, F., & Topuz, A. (2004). Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry*, 86(1), 79-83. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.012>
- Pantástico, E.; Mattoo, A.; Murata, T.; Chochin, K.; Phan, C. (1979). Cambios químicos durante la maduración y senescencia. In: fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Ed. Continental. México. 129-151 pp.
- Papastergiadis, A.; Mubiru, E.; Van Langenhove, H.; De Meulenaer, B. (2012). Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(38), 9589-9594. doi: <https://doi.org/10.1021/jf302451c>
- Pedreschi, R.; Hollak, S.; Harkema, H.; Otma, E.; Robledo, P.; Westra, E., ... & Defilippi, B. G. (2016). Impact of postharvest ripening strategies on ‘Hass’ avocado fatty acid profiles. *South African Journal of Botany*, 103, 32-35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.09.012>
- Pedreschi, R.; Muñoz, P.; Robledo, P.; Becerra, C.; Defilippi, B.; Van Eekelen, H., ... & de Vos, R. (2014). Metabolomics analysis of postharvest ripening heterogeneity of ‘Hass’ avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 172-179. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.01.024>

- Pedreschi, R.; Uarrota, V.; Fuentealba, C.; Martinez-Carrasco, J.; Olmedo, P.; Defilippi, B. G.; Campos-Vargas, R. (2019). Primary metabolism in avocado fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, 795. doi:10.3389/fpls.2019.00795
- Penter, M.; Snijder, B.; Stassen, P.; Schäfer, E. (2000). The effect of growth inhibitors on fruit production in Hass avocado trees. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 23, 46-51. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/482e/842857cd87a5c33a7c7d9c6b567bd63a430b.pdf>
- Pérez, K.; Mercado, J.; Soto-Valdez, H. (2004). Note. Effect of Storage Temperature on the Shelf Life of Hass Avocado (*Persea Americana*). *Food Science and Technology International*, 10(2), 73–77. doi:10.1177/1082013204043763
- Piironen, V.; Lindsay, D.; Miettinen, T.; Toivo, J.; Lampi, A. (2000). Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 939-966. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<939::AID-JSFA644>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<939::AID-JSFA644>3.0.CO;2-C)
- Prabath Pathirana, U.; Sekozawa, Y.; Sugaya, S.; Gemma, H. (2013). Changes in lipid oxidation stability and antioxidant properties of avocado in response to 1-MCP and low oxygen treatment under low-temperature storage. *International Food Research Journal*, 20(3). Recovered from [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(03\)%202013/5%20IFRJ%2020%20\(03\)%202013%20Prabath%20\(491\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(03)%202013/5%20IFRJ%2020%20(03)%202013%20Prabath%20(491).pdf)
- PROHASS. (2020). Buena campaña 2020. Revista de la Asociación de Productores de Palta Hass del Perú. Recuperado de <http://prohass.com.pe/prohassinforma/ph002.pdf>
- Promyou, S.; Ketsa, S.; van Doorn, W. (2008). Hot water treatments delay cold-induced banana peel blackening. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 132-138. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.006>
- Puerta-Gomez, A.; & Cisneros-Zevallos, L. (2011). Postharvest studies beyond fresh market eating quality: Phytochemical antioxidant changes in peach and plum fruit during ripening and advanced senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 60(3), 220-224. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.01.005>

- Quadrana, L.; Almeida, J.; Otaiza, S.; Duffy, T.; Da Silva, J.; de Godoy, F.; ... Rossi, M. (2013). Transcriptional regulation of tocopherol biosynthesis in tomato. *Plant Molecular Biology*, 81(3), 309-325. Recovered from <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11103-012-0001-4.pdf>
- Ramírez-Gil, J.; Henao-Rojas, J.; Morales-Osorio, J. (2021). Postharvest diseases and disorders in avocado cv. Hass and their relationship to preharvest management practices. *Heliyon*, 7(1), e05905. doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05905>
- Ranade, S & Thiagarajan, P. (2015). A review on *Persea americana Mill.* (avocado)-its fruits and oil. *Int. J. PharmTech Res*, 8(6), 72-77.
- Requejo-Tapia, L.; Woolf, A.; Roughan, G.; Schroeder, R.; Young, H.; & White, A. (1999). Avocado postharvest research: 1998/99: seasonal changes in lipid content and fatty acid composition of 'Hass' avocados. Report to the Nz Avocado Industry Council. Recovered from http://www.avocadosource.com/international/new_zealand_papers/RequejoLC1999.pdf
- Robles-Sánchez, R.; Gorinstein, S.; Martín-Belloso, O.; Astiazarán-García, H.;González-Aguilar, G.; Cruz-Valenzuela, R. (2007). Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia*, 32(4), 227-232. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S037818442007000400005&script=sci_arttext
- Rodríguez-Amaya, D. (2010). Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids. *Journal of Food Composition and Analysis* 23(7):726-740. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.03.008>
- Romero, C. (2016). Tratamientos Poscosecha para el Control de los Daños por Frío en Frutos Climatéricos y No Climatéricos (Tesis de doctorado, Universidad de Murcia, España). Recuperado de <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/50055>
- Rosalie, R.; Léchaudel, M.; Dhuique-Mayer, C.; Dufossé, L.; Joas, J. (2018). Antioxidant and enzymatic responses to oxidative stress induced by cold temperature storage and ripening in mango (*Mangifera indica L. cv. 'Cogshall'*) in relation to carotenoid content. *Journal of plant physiology*, 224, 75-85. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.03.011>

- Rudell, D.; Buchanan, D.; Leisso, R.; Whitaker, B.; Mattheis, J.; Zhu, Y.; & Varanasi, V. (2011). Ripening, storage temperature, ethylene action, and oxidative stress alter apple peel phytosterol metabolism. *Phytochemistry*, 72(11-12), 1328-1340. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.018>
- Saini, R.; Nile, S.; Park, S. (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*, 76, 735-750. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>
- Sevillano, L.; Sanchez-Ballesta, M.; Romojaro, F.; Flores, F. (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(4), 555-573. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3468>
- Sierra, N.; Londoño, A.; Gómez, J.; Herrera, A.; & Castellanos, D. (2019). Evaluation and modeling of changes in shelf life, firmness and color of 'Hass' avocado depending on storage temperature. *Food Science and Technology International*, 25(5), 370-384. doi: <https://doi.org/10.1177/1082013219826825>
- Singh, R.; Ali, S.; Nath, P.; Sane, V. (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. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/err006>
- Singh, S.; & Singh, Z. (2012). Role of membrane lipid peroxidation, enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in the development of chilling injury in japanese plums. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 137(6), 473-481. doi: <https://doi.org/10.21273/JASHS.137.6.473>
- Sivankalyani, V.; Feygenberg, O.; Maorer, D.; Zaaroor, M.; Fallik, E.; Alkan, N. (2015). Combined treatments reduce chilling injury and maintain fruit quality in avocado fruit during cold quarantine. *PLoS one*, 10(10), e0140522. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140522>
- Solovchenko, A.; Yahia, E.; Chen, C. (2019). Pigments. In: E.M. Yahia & A.C. Lopez (Eds.) *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, Elsevier International, United Kingdom, pp. 157-172.

- Ssonko, U.; & Xia, W. (2012). Phytochemicals and Bioactive Compounds in Tropical and subtropical Fruits. In: M. Siddiq, Ahmed, J. Lobo, M.G. (Eds.) Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest Physiology, Processing and Packaging, WILEY-BLACKWELL, London, UK, pp. 53-71.
- Sun, T.; Yuan, H.; Cao, H.; Yazdani, M.; Tadmor, Y.; Li, L. (2018). Carotenoid metabolism in plants: the role of plastids. *Molecular plant*, 11(1), 58-74. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.09.010>
- Talcott, S. T., & Howard, L. R. (1999). Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2109-2115. doi: <https://doi.org/10.1021/jf981134n>
- Talcott, S.; Moore, J.; Lounds-Singleton, A.; Percival, S. S. (2005). Ripening associated phytochemical changes in mangos (*Mangifera indica*) following thermal quarantine and low-temperature storage. *Journal of food science*, 70(5), C337-C341. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09963.x>
- Terán, F. (2020). Características metabólicas durante la maduración de palta (*Persea americana*) cv. Hass procedente de tres cosechas sometidas a refrigeración (Tesis de Maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina) Recuperada de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/4335>
- Thorp, T.; Hutching, D.; Lowe, T.; Marsh, K. (2010). Survey of fruit mineral concentrations and postharvest quality of New Zealand-grown 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25(3), 251-260. doi:10.1080/01140671.1997.9514014.
- Toivonen, P. (2004). Postharvest storage procedures and oxidative stress. *HortScience*, 39(5), 938-942.
- Uddin, M.; Sarker, M.; Ferdosh, S.; Akanda, M.; Easmin, M.; Bt Shamsudin, S.; Yunus, K. (2015). Phytosterols and their extraction from various plant matrices using supercritical carbon dioxide: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(7), 1385-1394. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6833>

- Undurraga, P.; Olaeta, P.; Opazo, G.; (2003). Caracterización histológica y bioquímica de desórdenes fisiológicos en paltas (*Persea americana* Mill.) cv. Hass en almacenaje refrigerado, en dos estados de madurez. Actas V Congreso Mundial del Aguacate. 19-24 octubre 2003. Málaga España. Vol II pag 653-657.
- Valenzuela, J.; Manzano, S.; Palma, F.; Carvajal, F.; Garrido, D.; & Jamilena, M. (2017). Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: postharvest technological and biotechnological solutions. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1467. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms18071467>
- Valitova, J.; Sulkarnayeva, A.; Minibayeva, F. (2016). Plant sterols: diversity, biosynthesis, and physiological functions. *Biochemistry (Moscow)*, 81(8), 819-834. doi: <https://doi.org/10.1134/S0006297916080046>
- Van Rooyen, Z., & Bower, J. P. (2006). Effects of storage temperature, harvest date and fruit origin on post-harvest physiology and the severity of mesocarp discolouration in 'Pinkerton' avocado (*Persea americana* Mill.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(1), 89-98. doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2006.11512034>
- Vanlerberghe, G. (2013). Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants. *International journal of molecular sciences*, 14(4), 6805-6847. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms14046805>
- Vicente, A.; Saladié, M.; Rose, J.; & Labavitch, J. (2007). The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(8), 1435-1448. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2837>
- Villa-Rodríguez, J.; Molina-Corral.; Ayala-Zavala, J.; Olivas, G.; González-Aguilar, G. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. *Food Research International*, 44(5), 1231-1237. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.012>
- Villa-Rodriguez, J.; Yahia, E.; González-León, A.; Ifie, I.; Robles-Zepeda, R.; Domínguez-Avila, J.; González-Aguilar, G. (2019). 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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.020>

- Wang, C. (1994). Chilling injury of tropical horticultural commodities. *HortScience*, 29(9), 986-988.
- Wang, S. Y. (2006, August). Effect of pre-harvest conditions on antioxidant capacity in fruits. In IV International Conference on Managing Quality in Chains-The Integrated View on Fruits and Vegetables Quality 712 (pp. 299-306). doi: 10.17660/ActaHortic.2006.712.33
- Wang, W.; Bostic, T.; Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food chemistry*, 122(4), 1193-1198. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>
- Wedding, B.; Wright, C.; Grauf, S.; White, R.; Tilse, B.; Gadek, P. (2013). Effects of seasonal variability on FT-NIR prediction of dry matter content for whole Hass avocado fruit, *Postharvest Biology and Technology*, Vol. 75, pp. 9-16. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.04.016>
- Whitaker, B. (1994). Lipid changes in mature-green tomatoes during ripening, during chilling, and after rewarming subsequent to chilling. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(5), 994-999. doi: <https://doi.org/10.21273/JASHS.119.5.994>
- Whitaker, B. (2011, May). Membrane lipid metabolism and oxidative stress involved in postharvest ripening, senescence, and storage disorders of fruits. In IV International Conference Postharvest Unlimited 2011 945 (pp. 269-282). doi: 10.17660/ActaHortic.2012.945.36
- Whitaker, B. D., & Gapper, N. E. (2008). Ripening-specific stigmasterol increase in tomato fruit is associated with increased sterol C-22 desaturase (CYP710A11) gene expression. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(10), 3828-3835. doi: <https://doi.org/10.1021/jf7037983>
- White, A.; Woolf, A.; Hofman, P.; Arpaia, M. (2009). The international avocado quality manual. Auckland, Nueva Zelanda: Institute for Plant and Food Research. Recovered from https://ucanr.edu/sites/Postharvest_Technology_Center_/files/235493.pdf
- Wills, R.B.H., Golding, John B. (2016). *Postharvest-An Introduction to the Physiology and Handling of Fruit and Vegetables*, sixth ed. CAB International, Wallingford.

- Yahia, E & Woolf, A. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill), in: Yahia, E.M. (Ed.), Postharvest Biology & Technology of Tropical and Sub-Tropical Fruits, Volume 2. Woodhead Publishing, UK. pp 125–185.
- Zafar, T & Sidhu, S. (2011). Avocado: production, quality, and major processed products. Handbook of vegetables and vegetable processing, 525-543.
- Zafar, T.; Sidhu, J. (2018). Avocado production, processing, and nutrition. Handbook of Vegetables and Vegetable Processing, 509-534. doi:<https://doi.org/10.1002/9781119098935.ch22>
- Zhang, B.; Deng, Z.; Tang, Y.; Chen, P.; Liu, R.; Ramdath, D.; Tsao, R. (2014). Fatty acid, carotenoid and tocopherol compositions of 20 Canadian lentil cultivars and synergistic contribution to antioxidant activities. Food Chemistry, 161, 296-304.
- Zou, Z.; Xi, W.; Hu, Y.; Nie, C.; Zhou, Z. (2016). Antioxidant activity of Citrus fruits. Food chemistry, 196, 885-896. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.072>

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: ECUACIONES DE CURVAS ESTÁNDAR

a. Contenido de carotenoides totales y capacidad antioxidante lipofílica

Ecuaciones y sus respectivos coeficientes de correlación obtenidas de las curvas estándares para los compuestos de carotenoides y capacidad antioxidante lipofílica:

$$\text{Carotenoides totales: } Y = 156X + 0.0044 \quad R^2 = 0.9986$$

Dónde: X (mg de β caroteno /mL); Y (Absorbancia)

$$\text{Capacidad antioxidante lipofílica: } Y = 1.2258X + 0.0349 \quad R^2 = 0.9907$$

Dónde: X (μ mol TE/mL); Y (Absorbancia)

b. Ácidos grasos

Ecuaciones y sus respectivos coeficientes de correlación obtenidas de las curvas estándares para cada ácido graso:

$$\text{Ácido palmítico: } Y = 0.7233424X + 0.3958861 \quad R^2 = 0.98817$$

$$\text{Ácido palmitoleico: } Y = 1.028598X + 3.983208e-002 \quad R^2 = 0.98708$$

$$\text{Ácido oleico: } Y = 0.7405914X + 0.5188024 \quad R^2 = 0.98798$$

$$\text{Ácido linoleico: } Y = 0.9047924X + 8.383733e-002 \quad R^2 = 0.98635$$

$$\text{Ácido } \alpha\text{-linoleico: } Y = 1.061105X + 3.813080e-002 \quad R^2 = 0.98036$$

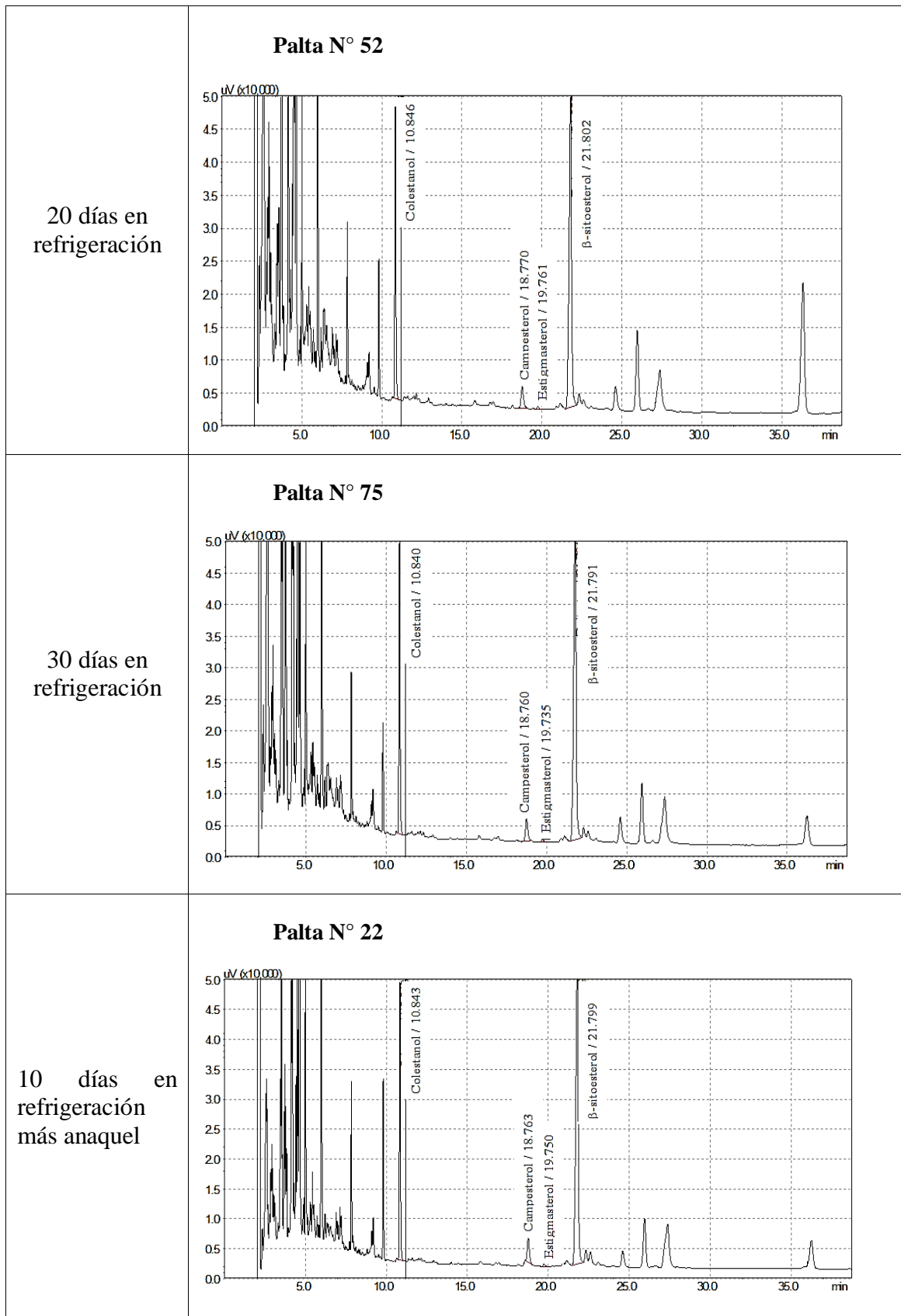
Dónde: X (mg de ácido graso/L); Y (Área)

ANEXO 2: CROMATOGRAMA DE LA COMPOSICIÓN DE FITOESTEROLES Y TOCOFEROLES DE PALTA VAR HASS SOMETIDAS A ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN ANAQUEL (~ 20 °C) HASTA ALCANZAR LA MADUREZ DE CONSUMO

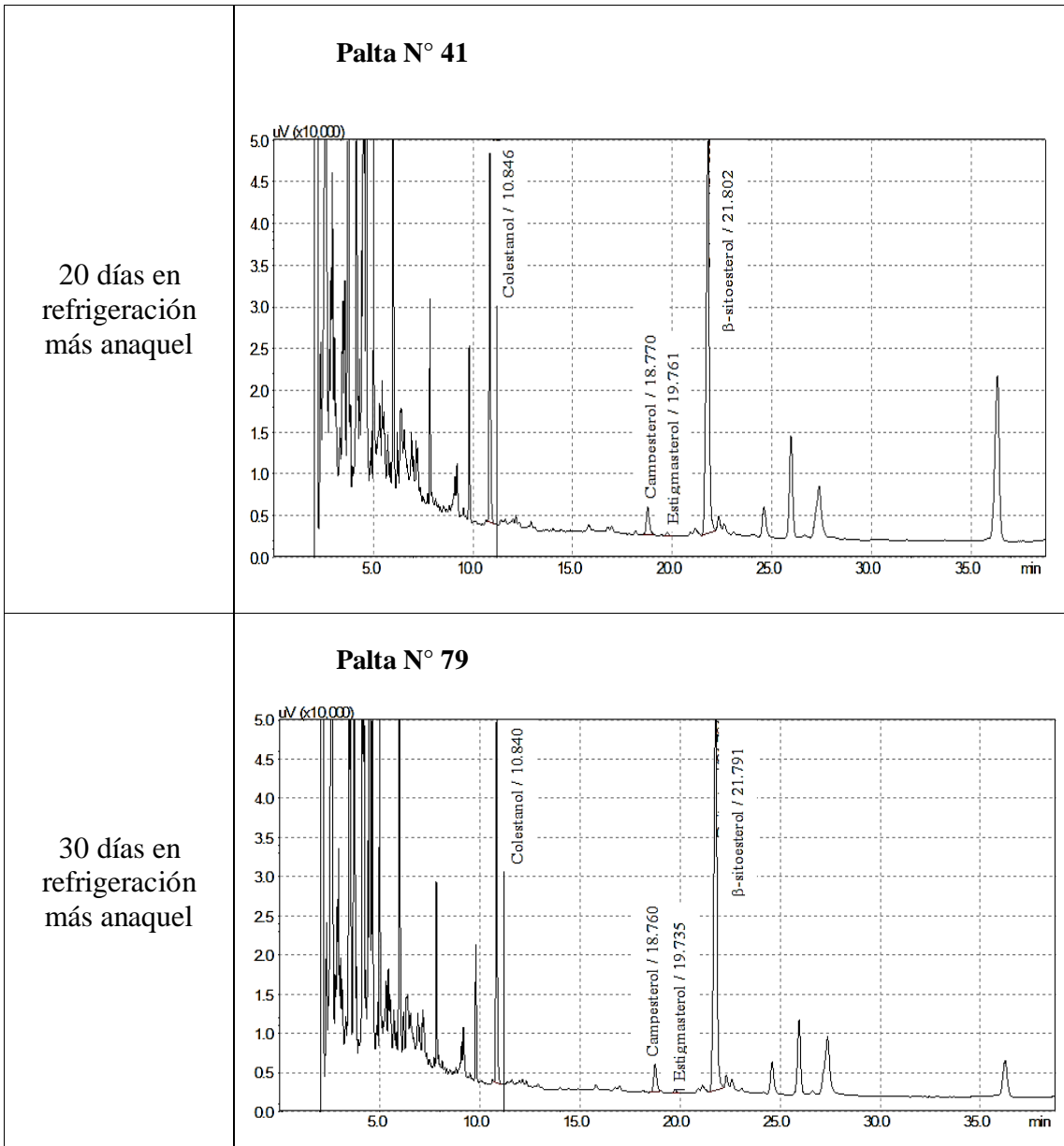
a. Perfil de la composición de los fitoesteroles

Días de almacenamiento	Cromatograma
0 día en refrigeración	<p style="text-align: center;">Palta N° 3</p>
10 días en refrigeración	<p style="text-align: center;">Palta N° 25</p>

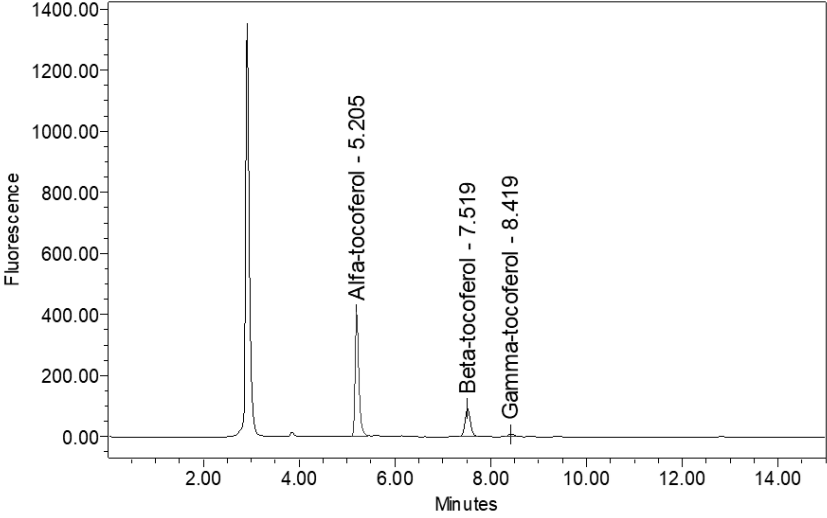
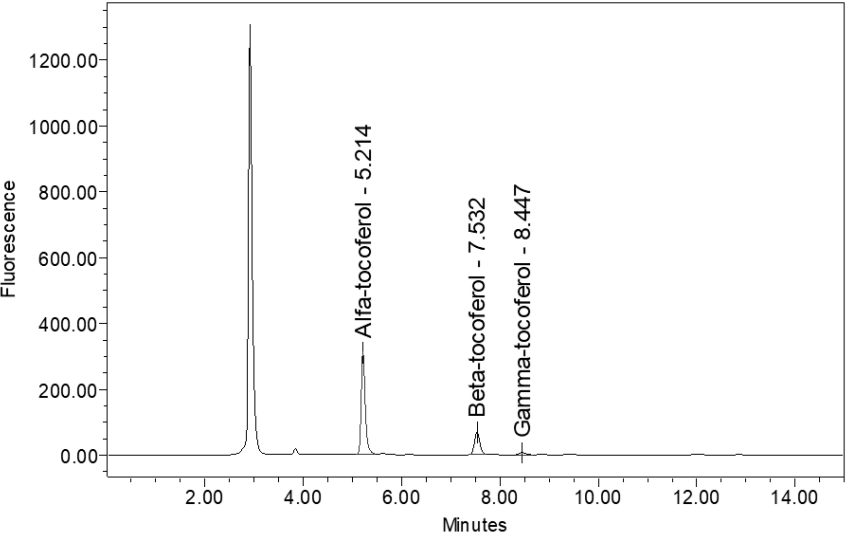
« continuación »



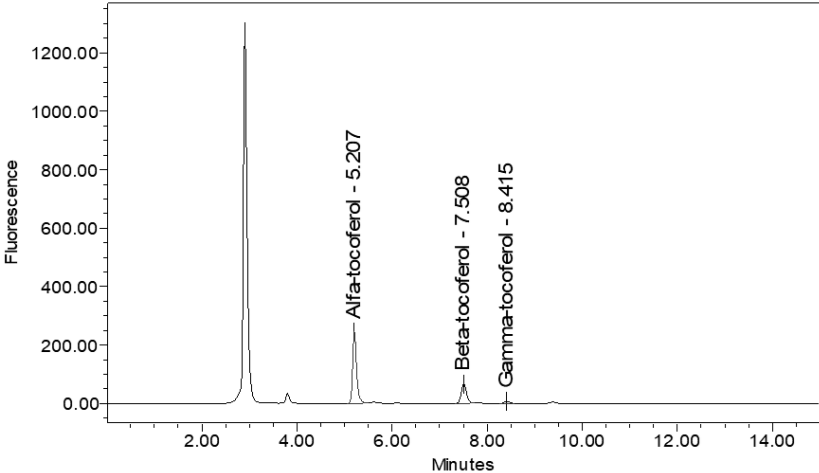
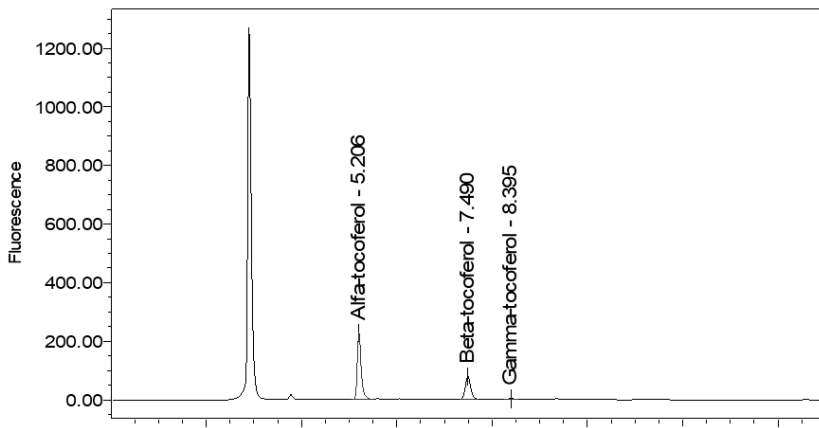
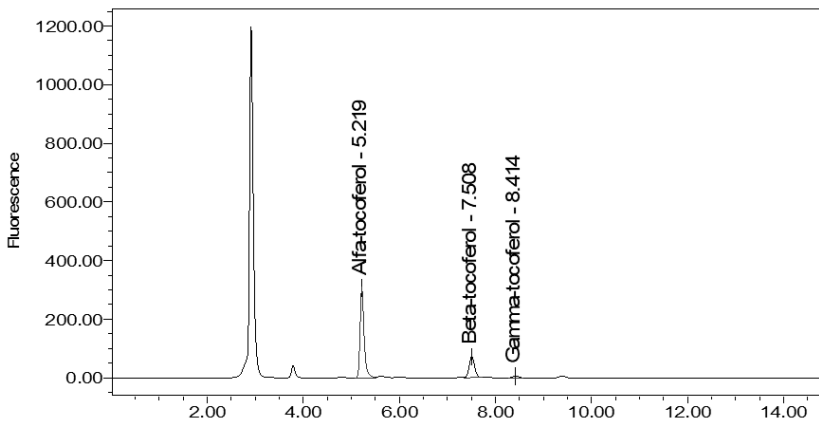
«continuación »



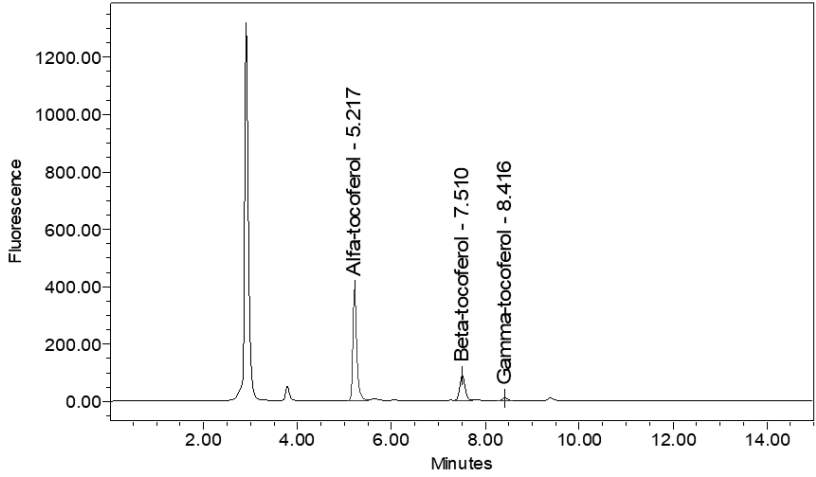
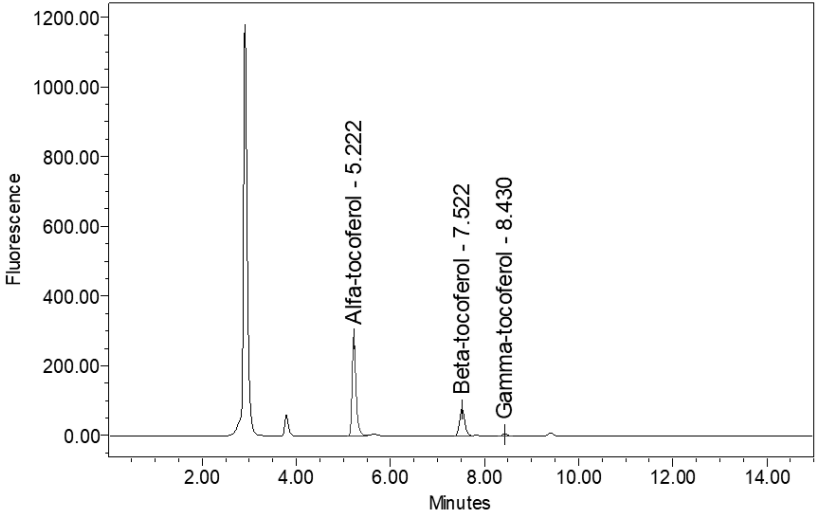
b. Perfil de la composición de tocoferoles

Días de almacenamiento	Cromatograma
0 día en refrigeración	<p data-bbox="596 439 719 472">Palta N°2</p>  <p data-bbox="512 499 1342 1014">Chromatogram showing Fluorescence (Y-axis, 0.00 to 1400.00) versus Minutes (X-axis, 0.00 to 14.00). The peaks are labeled: Alfa-tocoferol - 5.205, Beta-tocoferol - 7.519, and Gamma-tocoferol - 8.419.</p>
10 días en refrigeración	<p data-bbox="596 1126 740 1160">Palta N° 11</p>  <p data-bbox="512 1187 1361 1720">Chromatogram showing Fluorescence (Y-axis, 0.00 to 1200.00) versus Minutes (X-axis, 0.00 to 14.00). The peaks are labeled: Alfa-tocoferol - 5.214, Beta-tocoferol - 7.532, and Gamma-tocoferol - 8.447.</p>

«continuación»

<p>20 días en refrigeración</p>	<p>Palta N° 45</p>  <p>Fluorescence</p> <p>Minutes</p> <p>Alfa-tocoferol - 5.207</p> <p>Beta-tocoferol - 7.508</p> <p>Gamma-tocoferol - 8.415</p>
<p>30 días en refrigeración</p>	<p>Palta N° 75</p>  <p>Fluorescence</p> <p>Minutes</p> <p>Alfa-tocoferol - 5.206</p> <p>Beta-tocoferol - 7.490</p> <p>Gamma-tocoferol - 8.395</p>
<p>10 días en refrigeración más anaquel</p>	<p>Palta N° 20</p>  <p>Fluorescence</p> <p>Minutes</p> <p>Alfa-tocoferol - 5.219</p> <p>Beta-tocoferol - 7.508</p> <p>Gamma-tocoferol - 8.414</p>

«continuación»

<p>20 días en refrigeración más anaquel</p>	<p>Palta N° 41</p>  <p>The chromatogram for Palta N° 41 displays fluorescence intensity on the y-axis (0.00 to 1200.00) against time in minutes on the x-axis (0.00 to 14.00). Three distinct peaks are observed: a large peak at 5.217 minutes labeled 'Alfa-tocoferyl - 5.217', a smaller peak at 7.510 minutes labeled 'Beta-tocoferyl - 7.510', and a very small peak at 8.416 minutes labeled 'Gamma-tocoferyl - 8.416'. There is also a small, unlabeled peak at approximately 3.5 minutes.</p>
<p>30 días en refrigeración más anaquel</p>	<p>Palta N° 79</p>  <p>The chromatogram for Palta N° 79 displays fluorescence intensity on the y-axis (0.00 to 1200.00) against time in minutes on the x-axis (0.00 to 14.00). Three distinct peaks are observed: a large peak at 5.222 minutes labeled 'Alfa-tocoferyl - 5.222', a smaller peak at 7.522 minutes labeled 'Beta-tocoferyl - 7.522', and a very small peak at 8.430 minutes labeled 'Gamma-tocoferyl - 8.430'. There is also a small, unlabeled peak at approximately 3.5 minutes.</p>

ANEXO 3: PESO DE LAS 100 PALTAS VAR HASS QUE HAN SIDO EVALUADAS PREVIO ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN

Tabla 1: Peso (g) de las 100 paltas evaluadas previo almacenamiento en refrigeración

N° de palta	Peso (g)	N° de palta	Peso (g)	N° de palta	Peso (g)	N° de palta	Peso (g)
1	202	26	189	51	202	76	206
2	187	27	207	52	202	77	194
3	215	28	205	53	211	78	211
4	180	29	193	54	208	79	203
5	176	30	204	55	203	80	192
6	196	31	197	56	173	81	186
7	195	32	180	57	207	82	225
8	233	33	192	58	210	83	206
9	170	34	207	59	233	84	222
10	170	35	199	60	199	85	188
11	216	36	222	61	207	86	191
12	193	37	219	62	182	87	198
13	210	38	213	63	210	88	194
14	196	39	203	64	220	89	216
15	201	40	233	65	181	90	191
16	213	41	201	66	229	91	194
17	179	42	194	67	201	92	204
18	218	43	228	68	164	93	193
19	200	44	186	69	194	94	216
20	177	45	215	70	206	95	209
21	182	46	196	71	205	96	208
22	173	47	184	72	212	97	174
23	195	48	230	73	204	98	209
24	186	49	220	74	241	99	204
25	208	50	212	75	211	100	196

ANEXO 4: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - TASA DE RESPIRACIÓN DE LA PALTA VAR HASS ALMACENADA DURANTE 10, 20 Y 30 DÍAS EN REFRIGERACIÓN (7 °C)

Tabla 2: ANOVA para la tasa de respiración por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	47666.9	3	15889.0	24.52	0.0000
Intra grupos	23331.1	36	648.086		
Total (Corr.)	70998.0	39			

Tabla 3: Pruebas de Múltiple Rangos para la tasa de respiración por días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
DIA 0	10	181.289	X
10 R	10	245.087	X
30 R	10	252.99	X
20 R	10	273.72	X

ANEXO 5: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - PÉRDIDA DE PESO DE LA PALTA VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 4: ANOVA para pérdida de peso por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	185.335	5	37.067	159.49	0.0000
Intra grupos	5.57795	24	0.232414		
Total (Corr.)	190.913	29			

Tabla 5: Prueba de Kruskal-Wallis para pérdida de peso por días de almacenamiento

<i>Días de almacenamiento</i>	<i>Tamaño Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
10R	5	3.0
10A	5	27.4
20R	5	8.6
20A	5	21.0
30R	5	12.4
30A	5	20.6

Estadístico = 26.5381 Valor-P = 0.0000701577

Tabla 6: Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de pérdida de peso por días en almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Bonferroni

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
10 R	5	2.8756	X
20 R	5	5.153	X
30 R	5	5.8624	X
30 A	5	8.7152	X
20 A	5	8.9084	X
10 A	5	9.9684	X

ANEXO 6: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - CONTENIDO DE MATERIA SECA DE LA PALTA VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 7: ANOVA para el contenido de materia seca por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	24.2123	6	4.03539	0.85	0.5404
Intra grupos	132.387	28	4.7281		
Total (Corr.)	156.599	34			

ANEXO 7: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - CONTENIDO DE ACEITE DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 8: ANOVA para el contenido de fracción lipídica por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	19.3046	6	3.21744	1.75	0.1464
Intra grupos	51.492	28	1.839		
Total (Corr.)	70.7967	34			

ANEXO 8: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES DE LAS PALTAS HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 9: ANOVA para contenido de Carotenoides por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	14.1824	6	2.36374	2.73	0.0326
Intra grupos	24.2733	28	0.866903		
Total (Corr.)	38.4557	34			

Tabla 10: Prueba de Kruskal-Wallis para Carotenoides por días de almacenamiento

<i>Días de almacenamiento</i>	<i>Tamaño Muestra</i>	<i>Rango Promedio</i>
10R	5	20.4
10A	5	28.0
20R	5	13.0
20A	5	20.0
30R	5	7.2
30A	5	22.6
Día 0	5	14.8

Estadístico = 13.4667 Valor-P = 0.0361956

ANEXO 9: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE TOCOFEROLES (α , β y γ TOCOFEROL) DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 11: ANOVA para el contenido de α -tocoferoles por días de almacenamiento en refrigeración

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1251.71	6	208.619	2.07	0.0897
Intra grupos	2827.05	28	100.966		
Total (Corr.)	4078.77	34			

Tabla 12: ANOVA para el contenido de β -tocoferoles por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	150.982	6	25.1636	1.56	0.1949
Intra grupos	450.783	28	16.0994		
Total (Corr.)	601.765	34			

Tabla 13: ANOVA para el contenido de γ -tocoferoles por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4.43918	6	0.739864	4.68	0.0021
Intra grupos	4.42756	28	0.158127		
Total (Corr.)	8.86674	34			

Tabla 14: Pruebas de Múltiple Rangos para γ -tocoferol por días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
30R	5	0.9082	X
30R+Anaq	5	1.129	XX
20R+Anaq	5	1.2934	XXX

10R+Anaq	5	1.5166	XXX
Día 0	5	1.7156	XX
20R	5	1.7528	XX
10R	5	2.0014	X

ANEXO 10: ANÁLISIS ESTADÍSTICO - ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 15: ANOVA para la capacidad antioxidante lipofílica por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3.88823	6	0.648039	3.35	0.0130
Intra grupos	5.41946	28	0.193552		
Total (Corr.)	9.30769	34			

Tabla 16: Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad antioxidante lipofílica por días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
10A	5	3.148	X
20A	5	3.164	X
30R	5	3.1708	X
30A	5	3.1768	X
10R	5	3.3964	XX
20R	5	3.6092	XX
Día 0	5	4.1158	X

ANEXO 11: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE FITOESTEROLES (β -SITOSTEROL Y CAMPESTEROL) DE LAS PALTAS HASS SOMETIDAS A ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 17: ANOVA para el contenido de Campesterol por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.227967	6	0.0379946	3.10	0.0188
Intra grupos	0.34364	28	0.0122729		
Total (Corr.)	0.571607	34			

Tabla 18: ANOVA para el contenido de Estigmasterol por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.0927187	6	0.0154531	3.37	0.0126
Intra grupos	0.128469	28	0.00458817		
Total (Corr.)	0.221187	34			

Tabla 19: Pruebas de Múltiple Rangos para Estigmasterol por Días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Día 0	5	1.3614	X
30R	5	1.3744	X
20R	5	1.394	XX
10R	5	1.42	XX
20A	5	1.43168	XX
30A	5	1.47354	XX
10A	5	1.51748	X

Tabla 20: ANOVA para el contenido de β -sitoesterol por Días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	19.3071	6	3.21785	1.60	0.1838
Intra grupos	56.2628	28	2.00938		
Total (Corr.)	75.5699	34			

ANEXO 12: ANÁLISIS ESTADÍSTICO – CONTENIDO DE SUSTANCIAS REACTIVAS AL TBARS DE LAS PALTAS VAR HASS SOMETIDAS AL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN (7°C) Y POSTERIOR MADURACIÓN EN ANAQUEL (~ 20 °C)

Tabla 21: ANOVA para las sustancias reactivas al TBARS por días de almacenamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Valor-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	54.3452	6	9.05754	25.56	0.0000
Intra grupos	9.92296	28	0.354391		
Total (Corr.)	64.2682	34			

Tabla 22: Pruebas de Múltiple Rangos para las sustancias reactivas al TBARS por días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Día 0	5	4.8362	X
10R	5	4.891	XX
30R	5	5.66	XX
20R	5	5.776	XX
20A	5	6.0608	XX
10A	5	7.1816	X
30A	5	8.621	X

ANEXO 13: COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LAS VARIABLES RESPUESTAS

Tabla 23: Coeficiente de correlación de Pearson y coeficiente de determinación entre las variables respuesta.

Combinación	Coef. Correlación de Pearson
Materia seca vs contenido de aceite	0.88
Malonaldehido vs Carotenoides	0.21
Malonaldehido vs Cap Aox lipo	-0.33
Malonaldehido vs α -tocoferol	0.06
Malonaldehido vs β -tocoferol	0.33
Malonaldehido vs γ -tocoferol	-0.29
Malonaldehido vs Campesterol	0.34
Malonaldehido vs Estigmasterol	0.38
Malonaldehido vs β -sitoesterol	0.30
Malonaldehido vs % pardeamiento	0.60
Carotenoides vs Cap Aox lipo	0.17
Carotenoides vs α -tocoferol	0.78
Carotenoides vs β -tocoferol	0.48
Carotenoides vs γ -tocoferol	0.31
Carotenoides vs Campesterol	0.34
Carotenoides vs Estigmasterol	0.61
Carotenoides vs β - sitoesterol	0.24
Carotenoides vs % pardeamiento	0.02
Cap. Aox lipo vs α -tocoferol	0.29
Cap. Aox lipo vs β -tocoferol	-0.12
Cap. Aox lipo vs γ -tocoferol	0.53
Cap. Aox lipo vs campesterol	-0.40
Cap. Aox lipo vs estigmasterol	-0.15
Cap. Aox lipo vs β -sitoesterol	-0.28
Cap. Aox lipo vs % pardeamiento	-0.33
α -tocoferol vs β -tocoferol	0.48

α -tocoferol vs γ -tocoferol	0.47
α -tocoferol vs campesterol	0.29
α -tocoferol vs estigmasterol	0.49
α -tocoferol vs β -sitoesterol	0.34
α-tocoferol vs % pardeamiento	-0.16
β -tocoferol vs gama tocoferol	-0.22
β -tocoferol vs campesterol	0.45
β -tocoferol vs estigmasterol	0.49
β -tocoferol vs β -sitoesterol	0.67
β-tocoferol vs % pardeamiento	0.39
γ -tocoferol vs campesterol	-0.27
γ -tocoferol vs estigmasterol	-0.03
γ -tocoferol vs β -sitoestrol	-0.34
γ-tocoferol vs % pardeamiento	-0.49
Campesterol vs estigmasterol	0.67
campesterol vs β -sitoesterol	0.71
campesterol vs % pardeamiento	0.22
Estigmasterol vs β -sitoestrol	0.53
Estigmasterol vs % pardeamiento	0.22
β-sitoesterol vs % pardeamiento	0.25
