

*"Enseñar la explotación de la
tierra, no la del hombre"*

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA**

**ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
Y CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA
(*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN CONDICIONES DE
REFRIGERACIÓN**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

OSCAR CRUZ ÁLVAREZ



Instituto de Horticultura



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

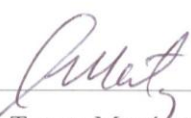
CHAPINGO, MÉXICO. DICIEMBRE DE 2012

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN

Tesis realizada por Oscar Cruz Álvarez bajo la dirección del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:


Dra. Ma. Teresa Martínez Damián

ASESOR:


Dra. María Teresa Beryl Colinas León

ASESOR:


Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

ASESOR:


Dra. Sweetia Paulina Ramírez Ramírez

LECTOR EXTERNO:


Dr. Esaú del Carmen Moreno Pérez

Chapingo, México. Diciembre de 2012.

AGRADECIMIENTOS

Al **Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo** por haberme brindado el apoyo hasta esta etapa de mi vida, porque sin alguno de ellos no hubiese tenido la oportunidad de estudiar y prepararme.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca que me otorgo para realizar mis estudios de Doctorado.

A la **Dra. Ma. Teresa Martínez Damián, Dra. María Teresa Colinas León, Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, Dra. Sweetia Paulina Ramírez Ramírez y Dr. Esaú del Carmen Moreno Pérez**, por su apoyo incondicional, valiosas aportaciones y sugerencias que permitieron mejorar de forma significativa el presente trabajo.

Al **Q.F.B. Cecilio Bautista Bañuelos** y a la **Sra. Norma Macrina Aguilar Díaz** por su asesoría y excelente apoyo en la realización del el trabajo de laboratorio.

Al **Sra. Luz María Gudelia Velasco Morales** por su amistad y apoyo recibido durante mi estancia en la Universidad Autónoma Chapingo.

DEDIDACTORIA

El presente trabajo es la culminación de un camino lleno de esfuerzos, a través del cual no todo fueron alegrías; sin embargo, el haber llegado a la meta, me hace sentir que podemos lograr lo que nos proponemos y que el apoyo y cariño incondicional de nuestra familia es la mejor medicina.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor del presente trabajo, Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia OSCAR CRUZ ÁLVAREZ, nació el 4 de Noviembre de 1984 en la comunidad de Lomas de San Francisco, Tepexi de Rodríguez, Pue. Realizó estudios de Educación Superior en la Universidad Autónoma Chapingo, donde cursó la carrera de Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia de 2002 a 2006. Realizó la Maestría y el Doctorado en Ciencias en Horticultura en el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo durante los períodos 2007-2008 y 2009-2012, respectivamente.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN

ENZYMATIC ACTIVITY, ANTIOXIDANT CAPACITY AND POSTHARVEST QUALITY CHANGES OF MINT (*Mentha x piperita* L.) STORAGE UNDER REFRIGERATION

Oscar Cruz Álvarez¹ y Ma. Teresa Martínez Damián²

RESUMEN GENERAL

El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento enzimático, antioxidante, bioquímico y fisiológico de la menta (*Mentha x piperita* L.) almacenada bajo condiciones de refrigeración (6 y 10 °C) y temperatura ambiente. Se encontró que la temperatura de 10 °C incremento la actividad enzimática de peroxidasa de 194.72 a 306.29 U·g⁻¹ de peso fresco (PF); así como la actividad antioxidante de 262.57 a 327.32 mm TEAC·g⁻¹ de PF. Por otra parte, la refrigeración incrementó los contenidos de fenoles totales y vitamina C, inverso a lo sucedido con la actividad de la superóxido dismutasa que disminuyó de 53.68 a 26.22 U·g⁻¹ de PF. La temperatura ambiente favoreció una mayor actividad de polifenol oxidasa (90.02 U·g⁻¹ de PF). También se determinó que el uso de refrigeración mantuvo a la tasa de respiración y producción de etileno con valores bajos que estuvieron entre 2.57 y 6.65 mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ y 0.04 y 0.27 µL C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹, respectivamente. De igual manera permitió disminuir en un 50 % la pérdida de peso y mantuvo a los pigmentos relacionados con el color como la clorofila total y carotenoides. Estos resultados permiten considerar a la refrigeración como una herramienta útil en la conservación de la actividad enzimática, antioxidante, así como de los procesos bioquímicos y fisiológicos de la menta que como resultado visible se traduce en un producto de mejor calidad para el consumidor final.

Palabras clave adicionales: aromática, temperatura, estrés oxidativo, vida de anaquel y almacenamiento.

¹Tesista

²Director

GENERAL ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate enzymatic, antioxidant, biochemical and physiological behaviour of the mint (*Mentha x piperita* L.) stored under refrigeration (6 y 10 °C) and room temperature. It was found that the enzymatic activity of peroxidase increased from 194.72 to 306.29 U·g⁻¹ of FW (fresh weight) at 10°C; such as the antioxidant activity that increased from 262.57 to 327.32 mm TEAC·g⁻¹ of WF. Besides, 6 °C and 10 °C incremented the contents of TP and VC, inverse to the effect on the activity of superoxide dismutase which decreased from 53.68 to 26.22 U·g⁻¹ of WF. The treatment room temperature contributes to an increased activity of the polyphenol oxidase (90.02 U·g⁻¹ of WF). It was also determined that the use of refrigeration maintained the respiration rate and ethylene production with low values which were under 2.57 and 6.65 mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ y 0.04 y 0.27 µL C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹, respectively. It also permitted a decrease of 50 % of weight loss. On the other hand, they also conserved pigments related to colors better like total chlorophyll and carotenoids. These results allow to consider the cooling as a useful tool in the preservation of enzymatic activity, antioxidant, as well as physiological and biochemical processes that shows us a visible result in a better quality product for the consumer.

Additional key words: aromatic, temperature, oxidative stress, shelf life and storage

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDIDACTORIA	ii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	iii
RESUMEN GENERAL	iv
GENERAL ABSTRACT	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
I. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MENTA (<i>Mentha x piperita</i> L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN	5
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCION	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
CONCLUSIONES	28
LITERATURA CITADA.....	28
II. CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (<i>Mentha x piperita</i> L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN	39

RESUMEN.....	40
ABSTRACT... ..	41
INTRODUCCIÓN	42
MATERIALES Y MÉTODOS	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
LITERATURA CITADA.....	60
CONCLUSIONES GENERALES.....	67
LITERATURA CITADA GENERAL	68
ANEXOS..... ..	71
I. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MENTA	
(<i>Mentha x piperita</i> L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN	72
II. CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (<i>Mentha x piperita</i> L.)	
ALMACENADA EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN	75

ÍNDICE DE CUADROS

I. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MENTA

(*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN Pág.

Cuadro 1. . Actividad enzimática de peroxidasa, polifenol oxidasa, superóxido dismutasa y catalasa en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	22
Cuadro 2. Capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y vitamina C en menta almacenada bajo refrigeración (6 y 10 °C) y en de ambiente.....	27

II. CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

Cuadro 1. Tasa de respiración, producción de etileno y pérdida de peso en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	52
Cuadro 2. Acidez titulable, contenido de clorofila total y carotenoides en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	56
Cuadro 3. Promedios de rangos de Kruskal-Wallis en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	59

ÍNDICE DE ANEXOS

I. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MENTA (<i>Mentha x piperita</i> L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN	Pág.
Cuadro 1A. . Cuadrados medios y significancia estadística de las variables polifenol oxidasa, peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	73
Cuadro 2A. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y vitamina C en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	74
II. CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (<i>Mentha x piperita</i> L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN	
Cuadro 1A. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables tasa de respiración, producción de etileno y pérdida de peso evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	76
Cuadro 2A. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables acidez titulable, clorofila total y carotenoides evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	77

Cuadro 3A. Estadístico To de la prueba de Kruskal-Wallis de las variables calidad visual, escala de color visual, amarillamiento, desarrollo de malos olores, nivel de abscisión de hojas y pudriciones evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.....	78
--	----

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las especies reactivas de oxígeno (ERO), son átomos o grupos de átomos inestables de alta energía que poseen uno o más electrones desapareados en sus orbitales exteriores, por lo que tienden a captar un electrón de moléculas estables con la finalidad de alcanzar su propia estabilidad electroquímica (Avello y Suwalski, 2006). Al respecto, existen numerosas investigaciones donde se sustenta que las ERO son responsables del daño oxidativo, ampliamente asociado con la generación de varios procesos tóxicos para la células, incluyendo el daño a proteínas y al material genético (Liu *et al.*, 2002). Estos daños tienen como consecuencia la aparición de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y algunos tipos de cáncer, en las que no siempre el sistema de defensa antioxidante endógeno es suficiente para la neutralización y eliminación de las ERO (Vranova *et al.*, 2002).

En la actualidad una de las áreas de mayor interés de la nutrición humana, es la prevención de los efectos perniciosos en la salud derivados del estrés oxidativo, por medio de compuestos antioxidantes provenientes del consumo de hierbas aromáticas (Campanella *et al.*, 2003). Al respecto, Gülcin *et al.*, (2007) y Rodríguez *et al.*, (2010) indican que muchas hierbas aromáticas son conocidas por presentar un alto contenido de antioxidantes fenólicos, como los ácidos fenólicos y flavonoides. Estos compuestos han mostrado tener posibles efectos benéficos en la salud, desde el punto de vista antioxidante, anticancerígeno, antihipertensivo, antimutagenico e inhibidor de la angiogénesis (Nickavar *et al.*, 2008). Por esta razón, el consumidor final debe valorar positivamente aquellos alimentos vegetales que no solo le proporcionen nutrientes indispensables para la vida (hidratos de carbono, proteínas, vitaminas, etc), sino que

además posean compuestos bioactivos con un posible efecto protector, como es el caso de los antioxidantes. En este mismo sentido, Liu *et al.*, (2002), señalan que se requiere de la evaluación del potencial antioxidante para determinar la eficiencia de los antioxidantes naturales, con relación a la protección contra el daño oxidativo sobre el organismo humano y sus funciones. Por su parte, Shukla y Matto (2009), mencionan que de igual manera es importante la caracterización de los diferentes tipos de productos agrícolas con respecto a su contenido de componentes antioxidantes específicos, con el propósito de incrementar su valor nutricional general.

Otro campo importante de estudio se encuentra relacionado con la búsqueda de antioxidantes naturales, esto como consecuencia de que los antioxidantes sintéticos sufren el inconveniente de ser volátiles y se descomponen fácilmente en condiciones de altas temperaturas. Adicionalmente, algunos de ellos han sido suspendidos por causar o promover efectos negativos a la salud (Djeridane *et al.*, 2006), por lo que algunas hierbas aromáticas han sido ampliamente estudiadas por su intensa actividad antioxidante (Nickavar *et al.*, 2008), entre las que se encuentran la albahaca, salvia, orégano y menta (Djeridane *et al.*, 2006), lo que ha redituado en el desarrollo de formulaciones de antioxidantes naturales (Miliauskas *et al.*, 2004).

Por otro lado, se debe tomar en cuenta que durante el proceso de conservación de la vida de anaquel en los productos hortícolas, es la existencia de factores precosecha que influyen en su composición y calidad, y la intensidad de su influencia puede variar si actúan de manera individual o mediante la interacción con otros factores (Smith *et al.*, 2003; Martínez *et al.* 2007). Por lo tanto, la vida de anaquel puede ser estimada desde antes de la cosecha, lo que hace necesario conocer la manera en que estos factores afectan el comportamiento de los productos ya en poscosecha. Chiesa (2010), señala que

entre los factores precosecha mas importantes, se encuentran el genotipo, el estado fisiológico a la cosecha, las condiciones agroecológicas y el momento de cosecha del producto, no obstante, otros autores como Kader *et al.*, (1998) y Smith *et al.*, (2003), también incluyen a la fertilización.

Durante el periodo de poscosecha, la temperatura se considera como la característica ambiental de mayor relevancia, debido a que los productos agrícolas comienzan a deteriorarse después de que son cosechados (Magure *et al.*, 2004), siendo este deterioro para la mayoría de éstos, una consecuencia directa de la temperatura (Smith *et al.*, 2003). La práctica más aconsejable es que inmediatamente después de la cosecha se inicie con el preenfriado, con el propósito de remover el calor de campo, ya que es esencial para disminuir la tasa de deterioro del producto y el método utilizado estará en función del tipo de producto y de la relación beneficio-costos (Aked, 2002).

Se ha determinado que el uso de refrigeración durante el almacenamiento poscosecha, reduce la tasa de cambios bioquímicos inducidos por la actividad enzimática, también ha demostrado ser eficiente en la disminución del proceso respiratorio, deshidratación e inhibición del desarrollo de hongos y bacterias, en el almacenamiento de productos frescos (Canet y Álvarez, 2006), por lo que se convierte en el método mas ampliamente utilizado durante el manejo poscosecha (Tonoiven, 2004).

El consumo de productos hortícolas con características fisiológicas contrastantes, hace que se presente un comportamiento diferenciado en la duración del tiempo de la vida de almacenamiento, esta variación se ha vinculado con la intensidad del proceso de respiración, producción de etileno, transpiración y con daños de tipo mecánico, donde todas estas variables muestran fuerte asociación y de forma paralela un efecto negativo

por parte de la temperatura (Magure *et al.*, 2004), por lo que si se desea incrementar la vida de anaquel de los productos hortícolas, se deben comprender las causas de su deterioro así como su relación con la disminución de la temperatura (Canet y Álvarez, 2006).

El presente estudio tuvo como objetivo conocer y evaluar el comportamiento enzimático, antioxidante, bioquímico y fisiológico durante poscosecha en menta (*Mentha x piperita* L.) almacenada en condiciones de refrigeración.

I. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MENTA
(*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

RESUMEN

Con la finalidad de estudiar el efecto de las bajas temperaturas sobre la actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha x piperita* L.), se cuantificó su comportamiento en almacenamiento a 6 y 10 °C con respecto a un testigo (temperatura ambiente), para esto, se condujo un experimento en laboratorio durante el ciclo primavera-verano de 2011 en la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México. Se evaluó la actividad enzimática de peroxidasa (POD), polifenol oxidasa (PFO), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), de igual forma se determinó la capacidad antioxidante (CA), contenido de fenoles totales (FT) y de vitamina C (VC). Entre los principales resultados, se encontró que la temperatura de 10 °C incrementó la actividad enzimática de POD de 194.72 a 306.29 U·g⁻¹ de PF (peso fresco); así como la actividad antioxidante de 262.57 a 327.32 mm TEAC·g⁻¹ de PF. Por otra parte, a 6 y 10 °C aumentaron los contenidos de FT y VC, inverso a lo sucedido con la actividad de SOD que disminuyó de 53.68 a 26.22 U·g⁻¹ de PF. El tratamiento a temperatura ambiente favoreció una mayor actividad de PFO (90.02 U·g⁻¹ de PF). El uso de refrigeración incremento la actividad enzimática de POD, el contenido de FT y VC. Por otro lado, la actividad de SOD disminuyó y la CA fue mayormente afectada por la temperatura de almacenamiento a 10 °C.

Palabras clave adicionales: peroxidasa, polifenol oxidasa, superóxido dismutasa, catalasa, ácido ascórbico.

ABSTRACT

With the finality of studding the effect of low temperatures over the enzymatic activity and antioxidant capacity in mint (*Mentha x piperita* L.), behavior was quantified during storage at 6 and 10°C with respect to a control treatment (room temperature), a laboratory experiment was conducted during a spring-summer cycle of 2011 at the University Autonomous of Chapingo, Texcoco, Mexico. The activity of the enzymes such as peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), similarly the antioxidant capacity (AC), total phenol content (TP) and vitamin C (VC) was determined. The main results it was found that the enzymatic activity of POD increased from 194.72 to 306.29 U·g⁻¹ of FW (fresh weight) at 10°C; such as the antioxidant activity that increased from 262,57 to 327,32 mm TEAC·g⁻¹ of WF. Besides, 6 °C and 10 °C incremented the contents of WF and VC, inverse to the effect on the activity of SOD which decreased from 53,68 to 26,22 U·g⁻¹ of WF. The treatment room temperature contributes to an increased activity of the PPO (90,02 U·g⁻¹ of WF). The use of refrigeration increased enzymatic activity of POD, TP contents and VC. Also it was found that the SOD activities decreased and the AC was greatly affected at a 10°C storage temperature.

Additional key words: peroxidase, polyphenol oxidase, superoxide dismutase, catalase, ascorbic acid

INTRODUCCION

Se ha observado que las funciones principales en el cuerpo humano se asocian a las reacciones de oxidación, que a su vez producen especies reactivas de oxígeno (ERO) como producto intermedio del metabolismo (Nickavar *et al.*, 2008), en las que se incluyen al anión radical superóxido, peróxido de hidrógeno y el ión hidroxilo (Rodríguez *et al.*, 2006 y Serteser *et al.*, 2009).

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) no solo están fuertemente asociadas con la peroxidación de lípidos y el consecuente deterioro de alimentos, sino que también están involucradas en el desarrollo de enfermedades cancerígenas (Rodríguez *et al.*, 2010), por lo que el consumo de alimentos con alto contenido de antioxidantes es importante en la prevención de estas (Vargas *et al.*, 2005; Erdemoglu *et al.*, 2006), debido a que son compuestos que pueden retrasar o inhibir la oxidación de lípidos y otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de ERO (Velioglu *et al.*, 1998).

Los sistemas de defensa antioxidantes en las plantas implican por un lado, un sistema no enzimático, donde se promueve la síntesis de numerosos metabolitos secundarios (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, vitaminas, y terpenoides) en la ruta de los fenilpropanoides (Yanishlieva *et al.*, 2006; Karousou *et al.*, 2007). Y por el otro, un sistema antioxidante enzimático que se encuentra localizado en varios compartimentos de la célula (Zheng y Wang, 2001), en las que se incluyen a enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) (EC. 1.15.1.1) que convierte al superóxido a H_2O_2 , peroxidasa (POD) (EC. 1.111.1.7) la cual convierte el H_2O_2 a agua, polifenol oxidasa (PFO) (EC: 1.14:18.1), la cual cataliza dos reacciones en las que se incluye oxígeno

molecular: a) la o-hidroxilación de monofenoles (actividad cresolasa) y b) la oxidación de o-difenol a o-quinonas (actividad catecolasa) y catalasa (CAT) (EC. 1.111.1.6) que elimina a el H₂O₂ (Dogan y Dogan, 2004; Oueslati *et al.*, 2010).

La búsqueda de antioxidantes naturales, especialmente en plantas ha aumentado considerablemente, debido a que los antioxidantes sintéticos sufren el inconveniente que son volátiles y se descomponen fácilmente a altas temperaturas (Dorman *et al.*, 2003 y Tao *et al.*, 2007). Adicionalmente, algunos de ellos han sido suspendidos por causar o promover efectos negativos en la salud (Djeridane *et al.*, 2006), por lo que algunas plantas aromáticas han sido ampliamente estudiadas por su intensa actividades antioxidante (Nickavar *et al.*, 2008), entre las que destacan: albahaca, salvia, orégano y menta (Djeridane *et al.*, 2006; Tepe *et al.*, 2006), lo que ha resultado en el desarrollo de formulaciones de antioxidantes naturales (Miliauskas *et al.*, 2004).

En el caso particular de la menta (*Mentha x Piperita* L.), ésta es un híbrido entre *Mentha aquatica* L. y *Mentha viridis* L., que pertenece a la familia Lamiaceae conformada por aproximadamente 220 géneros y 3300 especies (Mimica-Dukin y Bozin, 2008), y de acuerdo con lo descrito en la Farmacopea Europea IV (Anónimo, 2002) es usada para tratar diversos padecimientos gastrointestinales y gastritis, así como en la industria farmacéutica y agroalimentaria (Yanishlieva *et al.*, 2006). También se ha reportado como una fuente importante de compuestos polifenólicos y antioxidantes (Nickavar *et al.*, 2008; Tepe *et al.*, 2006; Neves *et al.*, 2009). Sin embargo, a pesar de la existencia de estos estudios, no se ha relacionado con su comportamiento en almacenamiento a bajas temperaturas, por lo que se plantea la presente investigación con el objetivo de estudiar el efecto de la refrigeración (6 y 10 °C) y temperatura ambiente, sobre la actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha x piperita* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizó como material vegetal a la menta (*Mentha x piperita* L.), variedad 'mint moroco' que fue proporcionada por la empresa Glezte SPR de RI, localizada en Axochiapan, Morelos, México; donde fue cosechada y preenfriada por 24 horas a 5 °C con el propósito de eliminar el calor de campo.

Ubicación del experimento

El trabajo experimental se llevó a cabo durante el ciclo primavera-verano de 2011, en los Laboratorios de Fisiología de Frutales y en el de Usos Múltiples del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

,

Tratamientos evaluados

El experimento consistió en almacenar menta a tres temperaturas (6, 10 y a ambiente (testigo)), para lo cual se pesaron manojos de 250 g y se colocaron en bolsas de polietileno de baja densidad, perforadas manualmente, simulando el proceso de comercialización a Estados Unidos y Canadá.

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar con 4 repeticiones. La unidad experimental consistió de una bolsa de polietileno perforada con 250 g de material vegetal (incluyendo tallos), de la cual se utilizaron 50 g de menta (solo hojas) para la elaboración de polvo de acetona a partir de la cual se evaluó la actividad enzimática de peroxidasa, polifenoloxidasas, catalasa y superóxido dismutasa, así como la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales; para el contenido de vitamina C se usaron 5 g (en fresco). Todas las evaluaciones se llevaron a cabo durante 15 días en periodos de 3 días.

Enzimas

Polvo de acetona

Se realizó de acuerdo con Alia *et al.*, (2002), para lo cual se tomaron 50 g de hojas, más 100 mL de acetona fría (-15 °C) grado reactivo, se licuó durante 1 minuto y se filtró al vacío, el proceso se repitió en cuatro ocasiones, se dejó secar a temperatura ambiente y se almacenó en un ultracongelador (-80 °C).

Se tomó el peso del polvo obtenido para determinar la relación peso fresco : peso seco (PF:PS). El filtrado se guardó en refrigeración (entre 2 y 5 °C) bajo condiciones de oscuridad total.

Peroxidasa (EC. 1.11.1.7.; POD)

Se pesaron 0.10 g de polvo de acetona los cuales se homogeneizaron en frío con 5 mL de Tris-HCl 0.1 mM (7.1) conteniendo 1 % de polivinilpirrolidona (PVP), se centrifugó a $12\,000 \times g$ x 30 min. a 4 °C. El ensayo se realizó de acuerdo a Flurkey y Jen (1978), con las siguientes modificaciones; la mezcla de ensayo tuvo un volumen total de 3 mL, para lo cual se mezclaron 2.6 mL de amortiguador Tris-HCl 100 Mm (pH 7.1), 0.25 mL de guayacol 0.1 M, 0.1 mL de peróxido de hidrógeno 0.25 % y 0.05 mL del sobrenadante. Se evaluó el cambio de absorbancia en 1,5 min a 470 nm. La actividad enzimática se reportó como $U \cdot g^{-1}$ de PF, donde U= Unidad de actividad enzimática y una unidad es igual a la formación de $1 \mu\text{mol}$ de tetraguaiacol $\cdot \text{min}^{-1}$. Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente.

Polifenol oxidasa (EC. 1.14.18.1.; PFO)

La extracción de PFO es similar a POD. La PFO se evaluó mediante el método propuesto por Lamikanra (1995) con modificaciones, la enzima se extrajo a partir de 0.2 g de polvo de acetona con 5 mL de Tris-HCl frío, 100 mM (pH 7.1), que se mezclaron con un homogeneizador de tejidos durante 30 s, posteriormente la mezcla se centrifugó por 20 min a $12\,000 \times g$ a 4 °C, el sobrenadante se utilizó para el ensayo, donde se evaluó el cambio de absorbancia a 420 nm. La mezcla de reacción consistió de 2 mL de catecol (60 mM) + 0.05 mL del sobrenadante (se determinó el cambio de absorbancia en 1 min). Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente. La actividad enzimática se reportó como $U \cdot g^{-1}$ de PF, donde U= Unidad de actividad enzimática y una unidad es igual a la

formación de 1 μmol de o-benzoquinona $\cdot\text{min}^{-1}$. Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente.

Superóxido dismutasa (EC. 1.15.1.1.; SOD)

A 0.1 g de polvo de acetona se le adicionaron 5 mL de amortiguador de fosfatos frío (pH 7.8) y se homogeneizaron durante 1 minuto, la mezcla se centrifugó a 12000 x g por 30 min a 4 °C. El sobrenadante se utilizó para el ensayo enzimático propuesto por Beyer y Fridovich (1987), donde se propone la siguiente mezcla de reacción; 27 mL de amortiguador de fosfatos 0.05 M (pH 7.8), conteniendo 0.1 mM de EDTA, 1.5 mL de L-metionina (30 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 1 mL de Nitro Blue Tetrazolium (1.41 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) y 0.75 mL de Triton X-100 al 1 %. A 3 mL de esta mezcla se adicionaron 0.03 mL de riboflavina (4.4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) y 0.4 mL de sobrenadante, todo esto bajo oscuridad total, posteriormente esta mezcla se iluminó durante 7 min con lámparas de luz fluorescente de 20 watts marca Grolux, posteriormente se determinó la absorbancia a 560 nm. La actividad enzimática se reportó como $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ de PF. Una unidad de SOD es igual a la cantidad de sobrenadante que fotoinhibe 50 % de la formación de Nitro Blue Tetrazolium Formazan (Giannopolitis y Ries, 1977).

El incremento en absorbancia debido a la formación de Nitro Blue Tetrazolium Formazan es la velocidad de reacción, la absorbancia en ausencia de SOD se usa para determinar el número de unidades/mL de SOD en la solución (Stauffer, 1989). Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente.

Catalasa (EC. 1.11.1.6.; CAT)

La catalasa se extrajo del polvo de acetona: 0.1 g se mezclaron con 5 mL de Tris-HCl frío, 0.1 mM (pH 8.5) conteniendo 1 % de polivinilpirrolidona con un homogeneizador de tejidos. La mezcla se centrifugó a 12 000 x g por 30 min a 4 °C. La actividad de la catalasa se evaluó mediante el método descrito por Luck, citado por Blackwell *et al.*, (1990) en el que 3 mL de 10 mM Tris-HCl (pH 8.5) y 0.1 mL de peróxido de hidrógeno 0.88 % en 100 Mm de Tris-HCl se colocaron en celdas cuarzo. La reacción se inició adicionando 0.1 mL de extracto crudo y se observó el cambio en absorbancia a 240 nm y la actividad enzimática se reportó como $U \cdot g^{-1}$ de PF, donde U=unidad de actividad enzimática y una unidad es igual a la descomposición de 1 $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$ de H_2O_2 . Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente.

Capacidad antioxidante

La determinación de la capacidad antioxidante, se realizó de acuerdo con el método ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) propuesto por Rice-Evans *et al.*, (1997) modificada por Ozgen *et al.*, (2006), para lo cual el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se formó tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ este diluyó con PBS (solución buffer de fosfato) (pH 7.4) hasta obtener un valor de absorbancia de 0.7 ± 0.1 a 734 nm (longitud de máxima absorción). Para el ensayo, se mezclaron 3 mL de la solución $\text{ABTS}^{\bullet+}$ y 20 μL de extracto de la muestra, dejándose reposar por 2 h, se realizó la lectura de absorbancia a

734 nm. Los resultados son expresados en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox).

Fenoles totales

La cuantificación de los fenoles totales se llevó a cabo mediante el método de Folin y Ciocalteu descrito por Waterman y Mole (1994), con las siguientes modificaciones: se tomaron 0.2 mL de solución del filtrado obtenido al realizar el polvo de acetona, al que se le adicionaron 7.8 mL de agua desionizada y 0.5 mL de reactivo de Folin y Ciocalteu, respectivamente, y se agitó, finalmente se agregaron 1.5 mL de solución de carbonato de sodio 20 % (tiempo cero) dejándose reposar por 2 h en la obscuridad, y se tomó la lectura a 760 nm en el espectrofotómetro. La cuantificación se realizó mediante una curva patrón de ácido tánico y los resultados se reportan como $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de PF.

Vitamina C

El cálculo del contenido de vitamina C se realizó de acuerdo al método de Tillman (AOAC, 1990) conocido como DFI-2, 6 diclorofenol-indofenol, el contenido de ácido ascórbico se estimó mediante la maceración de una muestra de pulpa con un agente estabilizante como ácido oxálico (para mantener propia la acidez para la reacción y evitar auto-oxidación del ácido ascórbico a alto pH) y reducción del 2, 6 diclorofenol-indofenol (solución de Tillman). Se estimó a partir de 5 g de muestra finamente picada y homogenizada con 50 mL de ácido oxálico, tomando una alícuota de 10 mL.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), en la que se empleó el paquete de análisis estadístico SAS (Statistical Analysis System) ver. 9.0 (AOAC, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de varianza

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas significativas en todas las variables con excepción de la actividad enzimática de catalasa (Cuadro 1A y 2A).

Comparación de medias

Peroxidasa (EC. 1.11.1.7.; POD)

Se encontró que a los 3 días de almacenamiento (dda) (Cuadro 1), la actividad de la enzima peroxidasa (POD) en los tratamientos a 10 °C y testigo superaron estadísticamente al de 6 °C, con valores de 621.20 y 387.60 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ de PF, respectivamente. Por una parte se ha reportado que bajo condiciones de almacenamiento en frío la actividad de la POD disminuye (Thompson, 2003), lo cual coincidió con lo observado en la menta almacenada a 6 °C.

Y en lo que respecta a los incrementos encontrados a 10 °C y en el testigo pueden estar asociados a la generación de un estrés oxidativo provocado por la exposición del

área foliar a condiciones no favorables de temperatura, por lo que se puede generar una mayor liberación de la POD al citoplasma incrementando su actividad. Este comportamiento en POD ha sido mencionado por Goodman *et al.*, (1986) y recientemente confirmado por Altunkaya y Gökmen (2008) y Ding *et al.*, (2009).

A los 6 dda en frío (6 y 10 °C) la actividad de la POD en la menta fueron significativamente superiores a los observados a temperatura ambiente con valores estadísticamente similares de 234.30 y 174.96 U·g⁻¹ de PF, respectivamente, estos resultados sugieren que la POD es una molécula clave en la aclimatación de la menta o de alguno de sus órganos a los cambios que experimenta el medio ambiente en el que se desarrolla.

También se detectaron efectos significativos en el último periodo de muestreo, donde todos los tratamientos de almacenamiento evaluados fueron diferentes entre sí, destacando el tratamiento a 10 °C sobre los de 6 °C y testigo, con actividades de 306.29, 162.50 y 66.73 U·g⁻¹ de PF, respectivamente. No se ha logrado determinar en forma clara el papel de la POD en el proceso de senescencia, ya que se ha observado que en hojas de hierbas como tomillo aguja (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) y algunas especies de Salvia, la actividad de esta enzima disminuye al aumentar la temperatura (Dogan *et al.*, 2007a; Dogan *et al.* 2007b), mientras que en frutos como papaya su comportamiento fue inverso (Sankat y Maharj, 1997). La disminución que se observó en la actividad de la POD en el tratamiento testigo, contrasta con Alia *et. al.*, (2002) quienes encontraron que en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) almacenados a 15 °C se incrementó de manera considerable la actividad de esta enzima.

Polifenol oxidasa (EC. 1.14.18.1.; PFO)

Se observó que a los tres días de almacenamiento (Cuadro 1), el tratamiento testigo, mostró mayor actividad de la polifenol oxidasa (PFO) con $116.42 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ de PF en comparación a los tratamientos a 6 y 10 °C, los cuales presentaron actividades estadísticamente similares de 95.15 y $94.59 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ de PF, respectivamente, estos resultados indican que la temperatura del medio ambiente afectó negativamente a los tejidos, provocando el inicio de su deterioro, al respecto Trujillo *et al.*, (2006) y Hassanpour *et al.*, (2012), mencionan que esta enzima se encuentra localizada exclusivamente en plastidios y es liberada al citosol como consecuencia de un daño o senescencia.

Mientras que al día 6 de almacenamiento se encontró un efecto significativo de la temperatura sobre la actividad de la PFO en los tratamientos de 6 y testigo en relación al de 10 °C. Este efecto es contrario a lo reportado por Kravayan y Aydemir (2001), quienes al purificar y caracterizar a esta enzima en hojas de menta (*Mentha x piperita* L.) indican que la actividad de la PFO es estable a bajas temperaturas. Estos mismos autores mencionan que existe una correlación positiva con el incremento de la temperatura. Por lo que se especula que el comportamiento de estos resultados podrían encontrarse estrechamente vinculados con la presencia de isoenzimas, las cuales pueden estar actuando bajo condiciones diferentes de temperatura (Concellón *et al.*, 2004, Neves *et al.*, 2009; Hassanpour *et al.*, 2012).

Durante el penúltimo periodo de muestreo, se observó que la actividad de la PFO en el tratamiento testigo aumentó considerablemente, puesto que su valor máximo fue de $190.68 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ de PF, en relación a lo que se presentó a 6 y 10 °C con valores de 114.29 y

101.80 U·g⁻¹ de PF, lo cual concuerda con lo indicado por varios autores en hierbas aromáticas como el orégano (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum*) (Dogan *et al.*, 2005), menta poleo (*Mentha pulegium*) (Hassanpour *et al.*, 2012), tomillo (*Thymus longicaulis* subsp. *Chaubardii* var. *chaubardii*) (Dogan y Dogan, 2004) y algunos frutos como pitaya amarilla (*Acanthocereus pitahaya*) (Baquero *et al.*, 2005) y uva (*Vitis vinífera* ssp. *Sativa*) (Rapeanu *et al.*, 2006).

Superóxido dismutasa (EC. 1.15.1.1.; SOD)

Durante los dos primeros muestreos (3 y 6 días), la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) no presentó cambios significativos entre tratamientos, sino hasta al día 9 de almacenamiento, en donde el tratamiento a 10 °C presentó el valor más alto con 30.47 U·g⁻¹ de PF en comparación al de temperatura ambiente que fue de 24.28 U·g⁻¹ de PF (Cuadro 1). Con respecto a estos resultados, se ha encontrado que la resistencia de las plantas a bajas temperaturas se encuentra asociada a la actividad conjunta de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa, más que a otros factores fisiológicos (Scandalios, 1993; Polata *et al.*, 2009), ya que constituyen la primera línea de defensa celular en contra de las especies reactivas de oxígeno (ERO) (del Rio *et al.*, 2003; Ferreira-Silva *et al.*, 2012). Por lo que se sugiere que un incremento en su actividad enzimática puede resultar benéfica (Alsher *et al.*, 2002; Palma *et al.*, 2006; Vranová *et al.*, 2002).

De igual forma se encontró un incremento en la actividad de la SOD a los 12 días de almacenamiento en la que los tratamientos con frío (6 y 10 °C) fueron

estadísticamente superiores al testigo, con actividades de 40.97 y 35.37 U·g⁻¹ de PF, respectivamente, lo cual concuerda con Cantwell y Reid, (2002); Mi *et al.*, (2008), quienes indican que algunas hierbas aromáticas para mercado fresco como perejil, berro y menta no son susceptibles a daño por frío por lo que comúnmente se enfrían con hielo. Por consiguiente, nuestros resultados podrían suponer que un incremento en la actividad de la SOD durante el almacenamiento a 6 y 10 °C puede conferir una protección contra un posible daño a la integridad de la membrana celular, lo cual coincide con Cuadra-Crespo y del Amor (2010) quienes al evaluar la actividad enzimática de la SOD en frutos de chile pimiento morrón almacenados bajo condiciones de frío y de alta humedad relativa, encontraron un incremento de su actividad sin que se hubiese observado algún tipo de daño en su apariencia.

En el último periodo de muestreo el comportamiento de la SOD fue similar a lo sucedido en el día 9 de almacenamiento, donde de igual manera los tratamientos a bajas temperaturas (6 y 10 °C) fueron estadísticamente superiores a lo encontrado con la temperatura de almacenamiento testigo, con valores de 26.22 y 20.69 U·g⁻¹ de PF, respectivamente. Con respecto a lo anterior, se podría inducir que bajo esas temperaturas de almacenamiento, al menos una de las enzimas (SOD) que apoyan la disminución de la senescencia es activada por el estrés oxidativo en las hojas de menta. Este mismo comportamiento ha sido mencionado para menta poleo (*Mentha pulegium*) por Candan y Tarthan (2003); Oueslati *et al.*, (2010) y en frutos como pitahaya (*Hylocereus undatus*) (Balois *et al.*, 2008) y pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*) (Baquero *et al.*, 2005).

Catalasa (EC. 1.11.1.6.; CAT)

La actividad de catalasa (CAT) no presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos durante el periodo de almacenamiento (Cuadro 1), lo que puede sugerir que esta enzima es estable a las temperaturas empleadas (6, 10 °C y testigo), lo que coincide con Balois *et al.*, (2008) quienes reportan para frutos de pitahaya que la actividad de CAT es insensible al frío y a condiciones de manejo a temperatura ambiente. En este mismo sentido, Sala y Lafuente (2000) indican que en frutos como la mandarina, la CAT es una enzima antioxidante involucrada en los mecanismos de protección contra el estrés por frío. En contraste a lo observado en hojas maduras de nuez vómica (*Strychnos nux-vomica* L.) por Vijayakumar *et al.*, (2009), quienes determinaron una alta actividad de la CAT. Lo anterior indica que estas diferencias pueden ser dependientes de la especie, momento fisiológico de cosecha, tiempo de almacenamiento, entre otros factores.

Cuadro 1. Actividad enzimática de peroxidasa, polifenol oxidasa, superóxido dismutasa y catalasa en menta almacenada bajo refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

Temperatura de almacenamiento (°C)	POD ^y	PFO	SOD	CAT
0 días de almacenamiento				
-	194.72*	58.72	53.68	23.16
3 días de almacenamiento				
6	111.01 b	95.15 b	33.52 a	23.09 a
10	621.20 a	94.59 b	33.34 a	44.07 a
Ambiente	387.60 a	116.42 a	34.39 a	42,38 a
DMSH	234.86	14.09	7.91	34.75
6 días de almacenamiento				
6	234.30 a	111.83 a	38.66 a	25.75 a
10	174.96 ab	98.06 b	36.30 a	21.71 a
Ambiente	141.72 b	106.30 a	31.24 a	18.19 a
DMSH	89.68	6.09	9.79	18.10
9 días de almacenamiento				
6	166.32 a	108.21 a	27.46 ab	11.28 a
10	98.78 a	98.26 a	30.47 a	14.72 a
Ambiente	138.18 a	121.59 a	24.28 b	11.35 a
DMSH	97.13	24.29	5.22	15.65
12 días de almacenamiento				
6	231.48 a	114.29 b	40.97 a	20.91 a
10	208.60 a	101.80 c	35.37 a	29.15 a
Ambiente	292.56 a	190.68 a	25.32 b	24.24 a
DMSH	102.95	11.77	6,61	14.86
15 días de almacenamiento				
6	66.73 c	90.02 a	26.22 a	15.00 a
10	306.29 a	86.90 a	20.69 ab	13.57 a
Ambiente	162.50 b	84.33 a	17.89 b	11.56 a
DMSH	43.39	15.15	7.19	15.65

*Aquí aun no hay efecto de tratamientos, solo se reporta media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey con $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. ^yPOD: Peroxidasa ($U \cdot g^{-1}$ de PF); PFO: Polifenol oxidasa ($U \cdot g^{-1}$ de PF); SOD: Superóxido dismutasa ($U \cdot g^{-1}$ de PF); CAT: Catalasa ($U \cdot g^{-1}$ de PF).

Capacidad antioxidante

Se encontró que al día 3 de almacenamiento, en el tratamiento a 10 °C se presentó el mayor valor de capacidad antioxidante (403.36 mm TEAC·g⁻¹ de PF) en relación a 6 y al testigo, los cuales fueron estadísticamente similares con 283.41 y 332.45 mm TEAC·g⁻¹ de PF, respectivamente (Cuadro 2). Al respecto se ha indicado que la actividad antioxidante de las hierbas aromáticas se debe a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos, donde las condiciones de almacenamiento a bajas temperaturas pueden favorecer su expresión, como lo señalan Ayala-Zavala *et al.*, (2004); Jin *et al.*, (2011), quienes mencionan que en fresa manejada a 10 °C se incrementó la capacidad antioxidante y la producción de compuestos aromáticos, por lo que podría pensarse que el manejo de menta a ciertas temperaturas de almacenamiento puede influir positivamente en el ciclo de los metabolitos secundarios, como los compuestos fenólicos los cuales pueden extender su vida de anaquel.

También se presentaron diferencias estadísticas al día 15 de almacenamiento, donde los tratamientos a 10 °C y a temperatura ambiente mostraron los valores mas altos de capacidad antioxidante con 327.32 y 291.87 mm TEAC g⁻¹ de PF comparado a lo que se observó a 6 °C con 261.11 mm TEAC·g⁻¹ de PF. Al comparar estos resultados con los mencionados por Gil *et al.* (2011) para *Mentha piperita* L. estos fueron similares, con valores de 332.3 mm TEAC·g⁻¹ de PF, mientras que fueron mayores a lo señalado para hierbabuena (*Mentha spicata* L.) por Rodríguez *et al.*, (2006); Tawha *et al.*, (2007), sin embargo, Rice-Evans *et al.*, (1997); Re *et al.*, (1999); Campanella *et al.*, (2003); Vargas *et al.*, (2005); Scalzo *et al.*, (2005); Kirca y Arslan, 2008), señalan que resulta difícil

comparar resultados relacionados con la capacidad antioxidante, debido a que se reportan bajo diferentes métodos de estimación, así como por el estado y manejo general de la muestra.

Fenoles totales

En lo que se refiere al contenido de fenoles totales (FT) (Cuadro 2), se puede observar que en el día 3 de almacenamiento, los tratamientos a 6 y 10 °C mostraron valores estadísticamente similares de 12.93 y 19.62 mg·Kg⁻¹ de PF, sin embargo, este último fue superior al testigo, comportamiento que se puede asociar con un incremento de la actividad antioxidante, debido a que los fenoles en conjunto con las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, entre otras, constituyen la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo inducido por las bajas temperaturas, manteniendo estable la integridad de la membrana celular (Kaur y Kapoor, 2001; Dorman *et al.*, 2003; Kevers *et al.*, 2007; Rastrepo *et al.*, 2009; Kirca y Arslan, 2008). Sin embargo también se ha reportado que la exposición de frutas y hortalizas a condiciones de almacenamiento entre 0 y 15 °C puede inducir un oscurecimiento en sus tejidos por la acción de la enzimas polifenol oxidasa y peroxidasa sobre los fenoles (Balois *et al.*, 2008), no obstante, que para el caso de menta, se menciona a está como un cultivo insensible a daños por frío (Cantwell y Reid, 1993; Cantwell y Reid, 2002).

Por otra parte, se encontró que a los 6 días de almacenamiento (dda) el contenido de FT, tuvo un comportamiento contrario a los demás días de evaluación, ya que el tratamiento testigo superó a los de 6 y 10 ° C. Con relación a lo anterior, Wojdylo *et al.*, (2007); Khalaf *et al.*, (2008) indican que la estabilidad de los compuestos fenólicos está

en función de la temperatura de almacenamiento, luz y la disponibilidad de oxígeno; y que en condiciones de temperatura ambiental, estos tienden a mostrar un comportamiento poco uniforme entre las especies de plantas analizadas, y aun entre genotipos de la misma especie (Piljac-Žegarac y Šamec, 2011).

A los 12 dda, se observó que el tratamiento a 6 °C fue estadísticamente superior al testigo, con un valor de 18.31 mg·Kg⁻¹ de PF, lo cual es similar a los resultados reportados por Cantwell *et al.*, (2002) quienes en raíces de jícama almacenada en condiciones de frío, reportan un incremento en el contenido de fenoles.

Al final del periodo de evaluación (15 dda), se pudo apreciar que los tratamientos a bajas temperaturas de almacenamiento (6 y 10 °C) presentaron el mayor contenido de FT (18.81 y 17.77 mg·Kg⁻¹ de PF) en relación con lo que se presentó el testigo, siendo este resultado inverso a lo exhibido a los 6 dda, por lo que se alude un mayor efecto benéfico del frío en la disminución de los procesos fisiológicos que conducen a la senescencia (Do Nascimento, 2008), lo cual nuevamente confirma lo reportado por Cantwell y Reid (2002), puesto que no se han encontrado investigaciones que indiquen un incremento en la concentración de fenoles totales auspiciadas por el daño por frío o largos periodos de almacenamiento, como se señala para frutos como zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn) (Alia *et al.*, 2005); mango (*Mangifera indica*) y guayaba (*Psidium gujava*) (Patthamakanokporn *et al.*, 2008).

Vitamina C

De acuerdo con la comparación de medias (Cuadro 2), el contenido de vitamina C (ácido ascórbico) no presentó diferencias significativas durante la mayor parte del

periodo de almacenamiento, a excepción del último muestreo, donde el tratamiento a 6 °C fue significativamente superior al testigo. Con relación a esta fecha de evaluación se ha mencionado que el almacenamiento a bajas temperaturas se considera eficiente en la reducción de las pérdidas de ácido ascórbico, y en las que incluso la congelación suele ser aun mejor (Rapisarda *et al.*, 2008; Tavarini *et al.*, 2008), y al ser este un compuesto no enzimático que contribuye a la capacidad antioxidante, su conservación es importante durante el manejo poscosecha de frutas y hortalizas (Velioglu *et al.*, 1998; Shivashankara *et al.*, 2004).

Ahora bien la disminución en el contenido de vitamina C en la menta almacenada a temperatura ambiente se puede asociar con un incremento en la tasa de respiración, debido a que se ha señalado que la tasa de cambios bioquímicos causados por procesos fisiológicos, entre ellos, el respiratorio, se incrementan con las altas temperaturas (Canet y Álvarez, 2006), y al ser este un proceso del tipo oxidativo genera especies reactivas de oxígeno, por lo que enzimas como la ascorbato peroxidasa y ascorbato reductasa encargadas de detoxificar a la célula pueden jugar un papel importante al usar el ácido ascórbico como sustrato, con la consecuente disminución de sus niveles (Camarena, 2006; Viña y Chaves, 2006).

Cuadro 2: Capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y vitamina C en menta almacenada bajo refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

Temperatura de almacenamiento (°C)	CA ^y	FT	VC
0 días de almacenamiento			
-	262.57*	12.19	22.17
3 días de almacenamiento			
6	283.41 b ^z	12.93 ab	36.73 a
10	403.36 a	19.62 a	33.42 a
Ambiente	332.45 b	9.90 b	35.03 a
DMSH	49.59	8.33	5.94
6 días de almacenamiento			
6	229.48 a	8.86 b	36.17 a
10	204.85 a	9.10 b	38.37 a
Ambiente	219.09 a	14.03 a	40.17 a
DMSH	50.01	6.09	11.35
9 días de almacenamiento			
6	308.47 a	14.35 a	31.17 a
10	355.06 a	12.66 a	32.17 a
Ambiente	305.19 a	8.28 a	30.42 a
DMSH	51.75	6.09	10.25
12 días de almacenamiento			
6	307.90 a	18.31 a	35.92 a
10	334.37 a	16.06 ab	30.41 a
Ambiente	300.75 a	11.89 b	30.91 a
DMSH	74.15	6.32	6.39
15 días de almacenamiento			
6	261.11 b	18.81 a	39.67 a
10	327.32 a	17.77 a	30.17 b
Ambiente	291.87 ab	9.52 b	34.42 ab
DMSH	35.94	6.63	8.82

*Aquí aun no hay efecto de tratamientos, solo se reporta media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey con $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta, ^yCA: capacidad antioxidante (mm TEAC·g⁻¹ de PF); FT: Fenoles totales (mg·Kg⁻¹ de PF); VC: Vitamina C (mg ac, ascórbico 100 g⁻¹).

CONCLUSIONES

El uso de bajas temperaturas aumentó la actividad enzimática de peroxidasa, el contenido de fenoles totales y vitamina C. Por otro lado, la actividad de superóxido dismutasa disminuyó y la capacidad antioxidante mantuvo los valores más altos a 10 °C.

LITERATURA CITADA

- Alia T. I., Colinas, L. M. T., Martínez, D. M. T. y Soto, H. M. R. 2002. Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) durante poscosecha. Revista Chapingo Serie Horticultura 8(2): 263-281.
- Alia T. I., Colinas, L. M. T., Martínez, D. M. T. y Soto, H. M. R. 2005. Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore and Stearn) II: Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. Revista Fitotecnia Mexicana 28(1): 25-32.
- Alsher, G. R., Erturk, N. and Heath, S. L. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal Experimental Botany 53: 1331-1341.
- Altunkaya, A. and Gökmen, V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). Food Chemistry 107(3): 1173-1179.
- Anónimo. 2002. European Pharmacopoeia. Fourth Edition. Strasbourg: Cedex. Council of Europe. 3263 p
- AOAC. 1990. Official Methods and Analysis. 14th Ed. Published for the association of Official Analytical Chemists Inc. Airlington, VA., USA. 1006 p.

- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y. and González-Aguilar, G. A. 2004. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Food Science and Technology* 37(7): 687-695.
- Balois M. R., Colinas, L. M. T., Peña, V. C. B., Chávez, F. S. H. y Alia, T. I. 2008. Sistema enzimático antisenescencia catalasa-superóxido dismutasa, de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados con frío. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14(3): 295-299.
- Baquero D. L. E., Castro, R. J. A. and Narváez, C. C. E. 2005. Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana* 10(2): 49-59.
- Beyer, F. W. and Fridovich, I. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry* 161(2): 559-566.
- Blackwell, R. D., Murray, A. J. S. and Lea, P. J. 1990. Enzymes of photorespiratory carbon pathway, pp. 129-144. *In*. *Methods in Plant Biochemistry*. Lea, P. J. (Ed). Academic Press. USA.
- Camarena, G. G. 2006. Las especies reactivas de oxígeno en defensa de las plantas contra patógenos. *Revista Chapingo: Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 12(1): 25-30.
- Campanella, L., Bonani, A., Favero, G. and Tomassetti, M. 2003. Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 375(8): 1011-1016.

- Candan, N. and Tarthan, L. 2003. The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. *Plant Science* 165(4): 769-776.
- Canet, P. W. and Álvarez, T. M. D. 2006. Quality and safety of frozen vegetables, pp. 377-410. *In: Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. Sun W. D. (ed.). Taylor & Francis Group, LLC. Florida, USA.
- Cantwell, M. I. and Reid, M. S. 1993. Postharvest physiology and handling of fresh culinary herbs. *Journal Herbs Spices & Medicinal Plants* 1(3): 93-127.
- Cantwell, M. I. and Reid, M. S. 2002. Postharvest handling systems: fresh herbs. *In: Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Chapter 26, pp. 367-372. Kader, A. A. (ed.). University of California. California, USA.
- Cantwell, M. I., Peiser, G. and Mercado-Silva, E. 2002. Induction of chilling injury in jicama (*Pachyrhizus erosus*) roots: changes in texture, color and phenolics. *Postharvest Biology and Technology* 25: 311-320.
- Concellón, M., Añón, M. and Chaves, A. R. 2004. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melogena* L.) during storage at low temperature. *Food Chemistry* 88(1): 17-24.
- Cuadra-Crespo, P. and del Amor, M. F. 2010. Effects of postharvest treatments on fruit quality of sweet pepper at low temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(15): 2716-2722.
- del Rio, A. L., Sandalio, M. L., Altomare, A. D. and Zilinskas, A. B. 2003. Mitochondrial and peroxisomal manganese superoxide dismutase: differential expression during leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* 54(384): 923-933.

- Ding, Z., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. 2009. Hydrogen peroxide is correlated with browning in peach fruit stored at low temperature. *Frontiers of Chemical Engineering in China* 3(4): 363-374.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. and Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97(4): 654-660.
- Do Nascimento, N. M. C. 2008. Color atlas of postharvest: quality of fruits and vegetables. Blackwell Publishing. Singapore City, Singapore. 448 p.
- Dogan, S. and Dogan, M. 2004. Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from *Thymus* (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*). *Food Chemistry* 88(1): 69-77.
- Dogan, S., Arslan, O. and Özen, F. 2005. Polyphenoloxidase activity of oregano at different stages. *Food Chemistry* 91(2): 341-345.
- Dogan, S., Turan, P., Dogan, M., Arslan, O. and Alkan, M. 2007a. Partial characterization of peroxidase from leaves of thymbra plant (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*). *European Food Research and Technology* 225 (5-6): 865-871.
- Dogan, S., Turan, P., Dogan, M., Arslan, O. and Alkan, M. 2007b. Variations of peroxidase activity among *Salvia* species. *Journal of Food Engineering* 79(2): 375-382.
- Dorman, D. H. J., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. and Hiltunen, R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16): 4563-4569.

- Erdemoglu, N., Turan, N. N., Cakici, I., Sener, B. and Aydin, A. 2006. Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts. *Phytotherapy Research* 20(1): 9-13.
- Ferreira-Silva, S. L., Voigt, E. L., Silva, E. N., Maia, J. M., Aragão, T. C. R. and Silveira, J. A. G. 2012. Partial oxidative protection by enzymatic and non-enzymatic components an cashew under high salinity. *Biologia Plantarum* 56(1): 172-176.
- Flurkey, W. H. and Jen, J. 1978. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science* 43(6): 1828-1831.
- Giannopolities, C. N. and Ries, S. K. 1977. Superoxide dismutases. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Gil, D. M. A., Falé, P. L. V., Serralheiro, M. L. M. and Rebelo, M. J. F. 2011. Herbal infusion bio electrochemical polyphenolic index: Green tea- The gallic acid interference. *Food Chemistry* 129(4): 1537-1543.
- Goodman, R. N., Kiraly, Z. and Wood, K. R. 1986. Secondary metabolite, pp. 221-226. *In: The Biochemistry and Physiology of Plant Disease*. Goodman, R. N. (ed). Missouri: University of Missouri. USA. 435 p.
- Hassanpour, H., Khavari-Nejad, A., Nikman, V., Najafi, F. and Razavi, K. 2012. Effects of penconazole and water deficit stress on physiological and antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulgium* L.). *Acta Physiologiae Plantarum* 34(4): 1537-1549.
- Jin, P., Wang, Y. S., Wang, Y. C. and Zheng, Y. 2011. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. *Food Chemistry* 124(1): 262-270.

- Karousou, R., Balta, M., Hanlidou, E. and Kokkini, S. 2007. "Mints", smells and traditional uses in Thessaloniki (Greece) and others Mediterranean countries. *Journal of Ethnopharmacology* 109(2): 248-257.
- Kaur, C. and Kapoor, H. C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables: the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology* 36(7): 703-725.
- Kavrayan, D. and Aydemir, T. 2001. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). *Food Chemistry* 74(2): 147-154.
- Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J. O., Dommès, J. and Pincemai, J. 2007. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(21): 8596–8603.
- Khalaf, A. N., Skakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z. and Farah, H. 2008. Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology* 32: 51-55.
- Kirca, A. and Arslan, E. 2008. Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *International Journal of Food Science and Technology* 43(11): 2038-2046.
- Lamikanra, O. 1995. Enzymatic browning of muscadine grapes products, pp: 166-177. *In: Enzymatic browning and its prevention*. Lee, C. L. and Whitaker, J R. (ed.). ACS. Washington, DC., USA.
- Mi, Y. K., Hwan, L. C., Lee, H., Moon, B. and Yong, L. C. 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry* 106(3): 929-939.

- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85(2): 231-237.
- Mimica-Dukin, N and Bozin, B. 2008. *Mentha* L. species (Lamiaceae) as promising sources of bioactive secondary metabolites. *Current Pharmaceutical Design* 14(2): 3141-3150.
- Neves, A. V., Pichii, G. D. and Da Silva, A. M. 2009. Some biochemical properties of polyphenoloxidase from spearmint (*Mentha arvensis*). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52(4): 1001-1010.
- Nickavar, B., Alinaghi, A. and Kamalinejad, M. 2008. Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 7(3): 203-209.
- Oueslati, S., Karray-Bouraoui, N., Attia, H., Rabhi, M., Ksouri, R. and Lachal, M. 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulgium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 32(2): 289-296.
- Ozgen, M., Reese, N. R., Tulio Jr., Z. A., Scheerens, C. J. and Miller, R. A. 2006. Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(4): 1151-1157.
- Palma, M. J., Jiménez, A., Sandalio, M. L., Corpas, J. F., Lundqvist, M., Gómez, M., Sevilla, F. and del Rio, A. L. 2006. Antioxidative enzymes from chloroplast, mitochondria, and peroxisomes during senescence of nodulated pea plants. *Journal of Experimental Botany* 57(8): 1747-1758.

- Patthamakanokporn, O., Puwastien, P., Nitithamyong, A. and Sirichakwal, P. P. 2008. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 21(3): 241–248.
- Piljac-Žegarac, J. and Šamec, D. 2011. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Research International* 44(1): 345-350.
- Polata, H., Wiliniska, A., Bryjak, J. and Polakovic, M. 2009. Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. *Journal of Food Engineering* 91(3): 387-391.
- Rapeanu, G., Van Loey, A., Smout, C. and Hendrickx, M. 2006. Biochemical characterization and process stability of polyphenoloxidase extracted from Victoria grape (*Vitis vinifera* ssp. *Sativa*). *Food Chemistry* 94(2): 253-261.
- Rapisarda, P.; Blanco, I. M., Pannuzzo, P. and Timparo, N. 2008. Effect of cold five orange genotypes (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Postharvest Biology and Technology* 49(3): 348-354.
- Rastrepo, S. D. C., Narváez, C. C. E. and Rastrepo, S. L. P. 2009. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Química. Nova* 32(6): 1517-1522.
- Re, R., Pellegreni, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26(9-10): 1231-1237.
- Rice-Evans, A. C., Miller, N. J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2(4): 152-158.

- Rodríguez, J. L., Valdés, O. and Alemán, A. 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco hierbas aromáticas. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 16(1): 30-36.
- Rodríguez, V. M. J., Tomassini, S. L. R., Mancade, N. M. C. and Strasser de Sad, A. M. 2010. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. *Food Control* 21(5): 779-785.
- Sala, J. M. and Lafuente, M. T. 2000. Catalasa enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruits to chilling. *Postharvest Biology and Technology* 20(1): 81-89.
- Sankat, C. K. and Maharaj, R. 1997. Papaya, pp. 167-190. *In: Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits*. Mitra, S. K. (ed.). CAB International. Great Britain.
- SAS. 2002. SAS/STAT users guide: Statics, Ver. 9.00. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA. 1503 p.
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegreni, N., Mezzeti, B. and Battino, M. 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic content in fruit. *Basic Nutritional Investigation* 21(2): 207-213.
- Scandalios, J. G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology* 101(1): 7-12.
- Serteser, A., Kargioglu, M., Gök, V., Bagcl, Y., Musa, O. M. and Arslan, D. 2009. Antioxidant properties for some plants growing wild in Turkey. *Grasas y Aceites* 60(2): 147-154.
- Shivashankara, K. S., Isobe, S., Al-Haq, M. I., Takenaka, M. and Shina, T. 2004. Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercitin, and carotene of Irwin

- mango fruits stored at low-temperature after high electric field treatment. *Journal of Agricultural of Food Chemistry* 52(5): 1281-1286.
- Stauffer, C. E. 1989. *Enzyme assays for food scientists*. Van Nostrand Reinhold. USA. 317 p.
- Tao, F., Zhang, M. and Hang-qing, Y. 2007. Effect of vacuum cooling on physiological changes in the antioxidant system of mushroom under different storage conditions. *Journal of Food Engineering* 79(4): 1302-1309.
- Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R. and Guidi, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry* 107(1): 282-288.
- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohamed, M. and El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry* 104(4): 1372-1378.
- Tepe, B., Sokmen, M., Askin, A. H. and Sokmen, A. 2006. Screening of the antioxidant potential of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry* 95(2): 200-204.
- Thompson, K. A. 2003. *Fruit and vegetables: harvesting, handling and storage*. Blackwell Publishing, Ltd. New York, USA. 482 p.
- Trujillo V. B. A., Zavaleta, M. H. A., Mora, H. M. E. y López, D. H. A. 2006. Efecto del CaCl_2 sobre la actividad enzimática antioxidante durante la vida florero de gerbera (*Gerbera jamesonni* H. Bolux Ex Hook F.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12(2): 203-209.
- Vargas M. A., Camelo, R. A. P. y Cuenca, N. C. E. 2005. Capacidad antioxidante durante la maduración de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). *Revista Colombiana de Química* 34(1): 57-65.

- Veliloglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. 1998. Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(10): 4113-4117.
- Vijayakumar, R.; Zhao, C. X., Gopal, R. and Abdul, C. J. 2009. Non-enzymatic and enzymatic antioxidant variations in tender and mature leaves of *Sttrychnos nux-vomica* L. (Family: Loganiaceae). *Comptes Rendus Biologies* 332(1): 52-57.
- Viña, S. Z. and Chaves, A. R. 2006. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. *Food Chemistry* 94(1): 68-74.
- Vranová, E., Inzé, D. and Breusengem, V. F 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1227-1236.
- Waterman, P. G. and Mole, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 238 p.`
- Wojdylo, A., Oszmianski, J. and Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105(1): 940-949.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. and Pokorny, J. 2006. Natural antioxidant from herbs and spices. *European Journal Lipids Science Technology* 108(9): 776-793.
- Zheng, W. and Wang, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 49(11): 5165-5170.

**II. CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (*Mentha x piperita*
L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN**

RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el efecto de las bajas temperaturas sobre la calidad poscosecha de menta (*Mentha x piperita* L.), se cuantificó su comportamiento en almacenamiento a 6 y 10 °C con respecto a un testigo a temperatura ambiente. El diseño experimental fue completamente al azar con 4 repeticiones. Se determinó la tasa de respiración (TR), producción de etileno (PE), pérdida de peso (PP), acidez titulable (AT), clorofila total (CT), carotenoides (C), y además se realizó una evaluación hedónica. Entre los principales resultados se encontró que el uso de refrigeración (6 y 10 °C) mantuvo a la TR y PE con valores bajos que estuvieron entre 2.57 y 6.65 mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ y 0.04 y 0.27 µL C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹, respectivamente. De igual manera permitió disminuir en 50 % la PP. Por otra parte, también conservaron de mejor manera los pigmentos relacionados con el color como la CT y C. Contrario a lo ocurrido en la menta almacenada a temperatura ambiente, el uso de refrigeración permitió mantener sin cambios significativos el nivel de la TR y PE, de igual manera se logró observar una reducción en los cambios de PP, CT, C y las características de apariencia visual consideradas en la escala hedónica.

Palabras clave adicionales: *Mentha x piperita*, almacenamiento, tasa de respiración, contenido de clorofila, escala hedónica

ABSTRACT

With the aim of studying the effect of low temperatures over quality of postharvest mint (*Mentha x piperita* L.), storage behavior was quantified at 6 and 10 °C with respect at control treatment (room temperature). The experimental design was completely random with 4 repetitions. Respiration rate (RT), ethylene production (EP), weight loss (WL), titratable acidity (TA), total chlorophyll (TC) carotenoids (C) and also a hedonic evaluation was realized. As a result it was found that the use of refrigeration (6 and 10 °C) maintained RT and EP with low values which were under 2.57 and 6.65 CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ y 0.04 y 0.27 µL C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹, respectively. It also permitted a decrease of 50 % of WL. On the other hand, they also conserved pigments related with colors better like TC and C. Contrary to what happened to stored mint at room temperature, the use of refrigeration permitted the levels of RT and EP without any significant changes, likewise it was observed a reduction changes of WL, TC, C and visual appearance characteristics considered in the hedonic scale.

Additional key words: *Mentha x piperita*, storage, respiration rate, chlorophyll content, hedonic scale

INTRODUCCIÓN

Las plantas aromáticas siempre han sido una importante fuente de materias primas dentro de la industria de la cocina, cosméticos y farmacéutica, en relación con la producción de especias, aceites esenciales y medicamentos (Low, 2006; Mimica-Dukin y Bozin, 2008), donde la industria de los aceites esenciales, es el segmento utilitario mas ampliamente desarrollado (Verma *et al.*, 2010). Sin embargo, en esta ultima década, se han suscitado una serie de cambios en las tendencias y hábitos de alimentación que han favorecido un incremento considerable en la producción y consumo de productos con algún tipo de valor funcional, es decir, son alimentos que presentan una o varias características referentes a su constitución y/o función en la prevención de algún padecimiento (Beecher, 1998; Lewers *et al.*, 2012).

Bajo este contexto, se ha observado un incremento sustancial en la distribución de hierbas frescas culinarias a través de mayoristas, minoristas y cadenas de servicio de alimentos, pero su comercialización no ha sido del todo exitosa, debido a que una característica fundamental y muy común que se presenta durante su comercialización, es su extrema perecibilidad y corta vida de anaquel; en respuesta a esto, las estrategias de comercialización han tendido a la utilización de una tecnología uniforme para todas las hierbas, donde las condiciones poscosecha puede ser adecuadas para algunas de ellas e inapropiadas para otras, a consecuencia de sus diversas características botánicas y fisiológicas (Kenneth y Corey, 1989; Cantwell y Reid, 2002).

En el caso particular de la menta (*Mentha x piperita* L.) ésta responde adecuadamente a los métodos de conservación tales como las atmósferas modificadas y controladas, sin embargo, siempre es recomendable combinarlas con

el control de la temperatura ambiental (Böttcher *et al.*, 2002). El uso de refrigeración y el control de la humedad relativa durante su manejo, constituyen una herramienta importante en la disminución del metabolismo y deshidratación, con las que se puede prolongar su vida de anaquel (Martínez *et al.*, 2007), ya que se requiere remover el calor de campo tan rápidamente como sea posible, dado que es esencial para disminuir la velocidad de la tasa de deterioro de productos altamente perecederos (Thompson, 2003).

Es importante destacar que la gran mayoría de estudios disponibles en hierbas aromáticas se encuentran enfocados por un lado al estudio y mejoramiento de las características de los aceites esenciales, así como su interacción con los métodos de secado (Calvo *et al.*, 2009; Verma *et al.*, 2010), y por el otro, a la extracción, caracterización y utilización de antioxidantes naturales (Dorman *et al.*, 2003; Miliauskas *et al.*, 2004; Djeridane *et al.*, 2006; Nickavar *et al.*, 2008; Mimica-Dukin y Bozin, 2008), pocos de estos trabajos se encuentran enfocados con su fisiología poscosecha (Aharoni *et al.*, 1993; Cantwell y Reid, 1993; Cantwell y Reid, 2002; Böttcher *et al.*, 2002; Kenigsbuch *et al.*, 2007; Hassan y Mahfouz, 2010), por lo que se hace de vital importancia la realización de estudios que hagan un énfasis puntual en este aspecto.

De acuerdo a lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo, observar el comportamiento poscosecha de la menta (*Mentha x piperita* L.), bajo diferentes temperaturas de almacenamiento, por medio de la evaluación de algunos cambios bioquímicos y fisiológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizó como material vegetal a la menta (*Mentha x piperita* L.), variedad “mint moroco” que fue proporcionada por la empresa Glezte SPR de RI, localizada en Axochiapan, Morelos, México; donde fue cosechada y preenfriada por 24 horas a 5 °C, con el propósito de eliminar el calor de campo.

Ubicación del experimento

El trabajo experimental se llevó a cabo durante el ciclo primavera-verano de 2011, en los Laboratorios de Fisiología de Frutales y en el de Usos Múltiples del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

Tratamientos evaluados

El experimento consistió en almacenar menta en refrigeración (6 y 10 °C) y a temperatura ambiente (testigo), para lo cual se pesaron manojos de 250 g que se colocaron en bolsas de polietileno de baja densidad, perforadas manualmente, simulando el proceso de comercialización a Estados Unidos y Canadá.

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar con 4 repeticiones. La unidad experimental consistió de una bolsa de polietileno perforada con 250 g de material vegetal (incluyendo tallos). Se evaluó la tasa de respiración, producción de etileno, pérdida de peso, acidez titulable, clorofila total, carotenoides, así como una evaluación hedónica donde se consideró la calidad visual, escala de color visual, amarillamiento, desarrollo de malos olores, el nivel de abscisión de hojas y pudriciones. Las evaluaciones se llevaron a cabo cada tres días en un periodo total de 15 días.

Tasa de respiración y producción de etileno

La tasa de respiración y la producción de etileno se determinaron por el método estático, en el cual manojos de menta de 50 g se colocaron en un recipiente hermético de volumen conocido por una hora, transcurrido el tiempo se tomaron 5 ml de aire con una jeringa hipodérmica trasladándolos a un vacutainer al vacío a -20 °C, hasta su lectura. Las muestras se inyectaron en un cromatógrafo de gases marca Varian modelo 3400 con una columna SS empacada poropak N, 2 m x 1/8" OD x 2.0 mm OI de película tipo abierto con una capa porosa de silica fundida con 2 detectores TCD (detectores de conductividad térmica) y FID (detector de flama de ionización), la temperatura de la columna fue de 80 °C, del detector de 170 °C y del inyector FID de 250 °C, como estándar se utilizó etileno (INFRA) 101 mg·litro⁻¹ y CO₂ (INFRA) 460 mg·litro⁻¹. El gas de arrastre fue helio con un flujo de 32.3 ml·min⁻¹.

¹ y la cantidad de muestra inyectada fue de 1.0 ml el cual se tomó con una jeringa hipodérmica.

Pérdida de peso

Se registró el peso inicial de un manojo 50 g (incluyendo tallos), cada tres días, durante 15 días, donde se utilizó una balanza granataria con aproximación de 0.01 g, y se aplicó la siguiente fórmula: pérdida de peso (%) = [(Peso inicial-peso final) / peso inicial] x 100

Acidez titulable

Se determinó de acuerdo con la metodología de la AOAC (AOAC, 1990), para lo cual se licuo un manojo de 10 g en 50 ml de agua desionizada , para posteriormente tomar una alícuota de 10 ml la cual fue neutralizada con NaOH 0.1 N en las que se utilizó fenolftaleína como indicador. Para lo cual se usó la fórmula convencional para este parámetro.

$$\% \text{ Ácido} = [(mL \text{ NaOH} \times N \times \text{Meq Ac} \times V) / (\text{peso de la muestra alícuota})] \times 100$$

Donde:

N = Normalidad NaOH.

V = Volumen total (mL de extracto después de licuar).

Meq Ac = Miliequivalentes del ácido que se encuentra en mayor proporción.

$$\text{Meq Ac} = (\text{PM ácido orgánico} / \text{Valencia}) \times 100$$

Clorofila total y carotenoides

Se cuantificó de acuerdo con la técnica propuesta por la AOAC (AOAC, 1990), la cual consiste en tomar una muestra de menta finamente picada la cual fue cubierta con acetona al 80 % dejándola reposar durante 24 horas en oscuridad. Posteriormente se tomaron lecturas de absorbancia (A) a tres longitudes de onda (470, 652 y 663 nm), mediante el uso de un espectrofotómetro digital UV-VIS modelo Perkin Elmer.

Escala hedónica

Se utilizó una escala hedónica propuesta por Martínez y Cantwell (2002), en la que se evaluó la calidad visual, escala de color visual, amarillamiento, desarrollo de malos olores, el nivel de abscisión de hojas y pudriciones, y para poder analizar estas características se asignaron calificaciones de la siguiente manera: calidad visual (9=excelente, 1=indeseable), escala de color visual (5 =verde oscuro, 1=amarillo + algo verde), amarillamiento (1=ninguno, 5=severo), desarrollo de malos olores (1=ninguno, 5=severo), nivel de abscisión de hojas (1=bajo; 2=medio; 3=alto) y pudriciones (1=ninguna, 5=severo). Para cuantificar los diferentes caracteres, las muestras fueron almacenadas en un ultracongelador a -80 °C. Únicamente los parámetros de la escala hedónica se registraron el día del análisis.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y análisis comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), y para los datos obtenidos mediante la escala hedónica, se llevó a cabo un análisis no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis, en ambos casos se empleó el paquete de análisis estadístico SAS (Statistical Analysis System) ver. 9.0 (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de varianza

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en todas las variables (Cuadro 1A y 2A), de igual modo la prueba de Kruskal-Wallis permitió detectar diferencias en todas las variables evaluadas en la escala hedónica, con excepción de la presencia de pudriciones (Cuadro 3A).

Comparación de medias

Tasa de respiración

Uno de los síntomas de mayor deterioro durante la senescencia en los productos agrícolas como la menta, donde las hojas son la principal parte de interés, lo constituye el proceso de respiración (Thompson, 2003), el cual se ve afectado directamente por la temperatura (Smith *et al.*, 2003). En este trabajo se encontró que

a partir de los 6 días de almacenamiento, el tratamiento a temperatura ambiente fue estadísticamente superior con respecto a los de 6 y 10 °C, con un rango de valores que estuvieron entre 9.31 a 16.41 mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Cuadro 1), comportamiento similar a lo indicado por Kenigsbuch *et al.*, (2007) en menta silvestre (*Mentha longifolia* L.) almacenada por 6 días a 20 °C. Sin embargo, estos valores fueron menores a lo señalado por Loaiza y Cantwell (1997) en cilantro (*Coriandrum sativum* L.) manejado en condiciones de almacenamiento a 20 °C, con valores máximos de 70 y 94 µL CO₂·g⁻¹·h⁻¹.

Al respecto se ha señalado que las hierbas aromáticas, después de ser cosechadas y durante su manejo y transporte, son altamente susceptibles a una acelerada senescencia, acompañada por pérdidas de frescura, clorofila y calidad culinaria debido a su alto metabolismo, donde al igual que en otros productos perecederos, la temperatura es el factor mas importante (Aharoni *et al.*, 1993; Cantwell y Reid, 1993; Böttcher *et al.*, 1999); por lo que el uso de la refrigeración constituye una herramienta importante que contribuye a disminuir diversos procesos fisiológicos que conllevan a alterar su vida de anaquel, manteniendo por mayor tiempo el valor nutritivo y comercial del producto (Rennie *et al.*, 2003).

Producción de etileno

Uno de los problemas más comunes en poscosecha de hierbas frescas se encuentra asociado con su rápida senescencia, producto de su alta sensibilidad al etileno (Aharoni *et al.*, 1989). En el caso de las condiciones de almacenamiento de la menta en este trabajo, se encontró que la producción de etileno se inició a partir del día 6 de almacenamiento (dda), donde el tratamiento testigo fue el que presentó los valores estadísticamente mas altos (0.64 a 1.22 µL C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹) con relación a las de

6 y 10 °C, en donde se observó un comportamiento similar con 0.14 y 0.27 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$, no obstante, que en el día 9 los tratamientos de 10 °C y testigo presentaron una producción de etileno estadísticamente igual (Cuadro 2). Al respecto varios autores como Böttcher *et al.*, (2003) y Nath *et al.*, (2006), han reportado el efecto de la influencia de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la calidad de diversas hojas frescas, de igual forma indican que las altas temperaturas pueden acelerar su deterioro, al favorecer un incremento en el metabolismo celular y una mayor sensibilidad de los tejidos al efecto negativo del etileno (Böttcher *et al.*, 2002; Nei *et al.*, 2005). Al igual que en otros productos perecederos, las hierbas aromáticas son afectadas por este regulador del crecimiento, presentando síntomas tales como el amarillamiento, caída de hojas y epinastia (Cantwell y Reid, 2002; Kenigsbuch *et al.*, 2007; Hassan y Mahfouz, 2010), en el caso particular de la menta, ésta suele ser altamente sensible, sin embargo, puede ser minimizada con el uso de temperaturas adecuadas durante su transporte y comercialización (Aharoni *et al.* 1993; Böttcher *et al.* 2001).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son similares a lo reportado por Hruschka y Wang (1979); Cantwell y Reid (2002) y Kenigsbuch *et al.*, (2007), quienes mediante un estudio realizado sobre el almacenamiento y vida de anaquel en berro (*Nasturtium officinale*), perejil (*Petroselinum crispum* L.) y menta (*Mentha piperita* L.), demostraron que a 0 °C se conservan en excelentes condiciones por 2 semanas, donde adicionalmente encontraron que la menta tiene una vida de anaquel mas corta, debido a que después de tres semanas solo 25 % de la planta era comercializable, comparado con el 45 y 60 % para perejil y berro.

Pérdida de peso

En cuanto a esta variable, se encontró que a los 9, 12 y 15 días de almacenamiento (dda), en el tratamiento testigo fue en el que presentó una mayor pérdida de peso con 47.33 % comparado con el producto almacenado a 6 y 10 °C, los cuales mostraron valores similares de 24.47 y 24.71 %, respectivamente (Cuadro 1). Lo anterior, puede estar estrechamente vinculado con la pérdida de agua por transpiración, la cual se ve afectada por condiciones de temperatura elevada (Martínez *et al.*, 2007; Cuadra-Crespo y del Amor, 2010), ya que desde el punto de vista de la vida poscosecha de productos perecederos, el déficit de presión de vapor de agua es una de las medidas que adquiere primordial importancia, pues ésta mide la diferencia en la presión del vapor de agua al interior de un producto almacenado y su entorno (Ávila *et al.*, 2007). Según Ben-Yehoshua y Rodov (2003), cuanto mayor sea el déficit de presión de vapor (un mayor gradiente), las pérdidas de agua serán superiores, lo que se traduce en pérdidas de peso en el transcurso del tiempo.

Por su parte, Cantwell y Reid (1993) y Cantwell y Reid (2002), reportan que hierbas aromáticas como el cilantro, mitsuba, eneldo y menta, son altamente susceptibles a perder agua como producto de su condición de hierbas frescas, donde si se almacenan a 20 ° C, se limita notablemente su vida de anaquel.

Cuadro 1. Pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

Temperatura de almacenamiento (°C)	TR	PE	PP ^y
0 días de almacenamiento			
-	2.57*	0.04	-
3 días de almacenamiento			
6	3.65 a	0.04 a	8.50 a
10	3.75 a	0.22 a	8.41 a
Ambiente	7.50 a	0.48 a	10.21 a
DMSH	3.88	0.53	8.70
6 días de almacenamiento			
6	3.58 b	0.04 b	12.24 a
10	4.97 b	0.06 b	14.44 a
Ambiente	9.31 a	0.64 a	21.70 a
DMSH	4.24	0.53	10.86
9 días de almacenamiento			
6	3.64 b	0.08 b	15.74 b
10	5.18 b	0.16 ab	17.74 b
Ambiente	10.76 a	0.53 a	30.27 a
DMSH	3.02	0.42	12.21
12 días de almacenamiento			
6	4.09 b	0.10 b	20.79 b
10	5.30 b	0.15 b	20.47 b
Ambiente	13.65 a	1.18 a	36.72 a
DMSH	2.50	0.51	12.92
15 días de almacenamiento			
6	4.76 b	0.14 b	24.47 b
10	6.65 b	0.27 b	24.71 b
Ambiente	16.41 a	1.22 a	47.33 a
DMSH	5.79	0.14	21.14

*Aquí aun no hay efecto de tratamientos, solo se reporta media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey con $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. ^yPP: Pérdida de peso (%); TR: Tasa de respiración ($\text{mL CO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); PE: Producción de etileno ($\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Acidez titulable

En cuanto a la acidez titulable (% ácido cítrico), se logró detectar que a los 6, 9 y 15 días de almacenamiento (dda), en el tratamiento a temperatura ambiente, los valores fueron superiores al de 6 y 10 °C (Cuadro 2). Sin embargo, a los 12 dda solo presentó diferencias estadísticas con respecto a 6 °C, lo anterior, puede estar relacionado con un incremento en el proceso respiratorio favorecida por la alta temperatura de almacenamiento, a lo que Nei *et al.*, (2005) y Nath *et al.*, (2006), reportan que en hojas la concentración de carbohidratos es baja, y que al avanzar la senescencia por efecto directo de la temperatura ambiental, este sustrato se agota; debido a esto, los ácidos orgánicos se convierten en el principal sustrato respiratorio (Peiris *et al.*, 1997; Alvarado *et al.*, 2004)

En este mismo sentido, Rogers (1973) y Figueroa *et al.*, (2005), mencionan que en el caso de aquellos productos agrícolas en los que el órgano de interés económico no es el fruto, sino la lamina foliar, un aspecto importante de su deterioro, es que se involucra una disminución excesiva de los sustratos respiratorios y la tasa de velocidad con que esto ocurre es en parte dependiente de la cantidad de reservas presentes al momento de ser cosechadas.

Clorofila total

El rápido deterioro de los atributos de calidad visual en las hojas de los diversos productos agrícolas, suele estar vinculada con la pérdida de pigmentos de color como la clorofila, entre otros (Aharoni *et al.*, 1993). Por lo tanto, uno de los mayores objetivos en el uso de refrigeración es disminuir la degradación de estos

compuestos (Clydesdale, 1998; Shewfelt, 2003; Do Nascimento, 2008). Bajo las condiciones particulares generadas en esta investigación, se pudo observar que el contenido de clorofila total presentó variación significativa en los tres últimos periodos de muestreo (9, 12 y 15 días de almacenamiento (dda)), donde el tratamiento a 6 °C presentó el valor más alto ($9.32 \mu\text{g g}^{-1}$ de peso fresco) con relación al de 10 °C y testigo (Cuadro 2). Este comportamiento se encuentra ampliamente vinculado con lo indicado en diversos trabajos donde se sugiere una relación directa entre un incremento de la temperatura de almacenamiento y la tasa de degradación de pigmentos (clorofilas y carotenoides) que en forma intrínseca permiten la coloración de hojas y frutos (Brosnan y Sun, 2001; Harpaz-Saad *et al.*, 2007). Por lo que el uso de la refrigeración puede ser una herramienta útil, ya que permite disminuir de manera importante esta degradación, manteniendo la calidad visual (apariencia de frescura y de color) de los productos hortofrutícolas (Laurila y Ahvenainen, 2002; Shewfelt, 2003; Smith *et al.* 2003), que en el caso de hierbas frescas como la menta suele ser una de las características mas importantes (Böttcher *et al.*, 2002).

Por otra parte, este resultado fue similar a lo encontrado en cilantro (*Coriandrum sativum* L.) por Hassan y Mahfouz (2012), quienes en un trabajo de almacenamiento a 5 °C reportan que el contenido de clorofila total fue disminuyendo gradualmente durante el almacenamiento pero de forma lenta en comparación a la mantenida bajo condiciones ambientales. De igual manera estos autores también reportan un resultado similar en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) (Hassan y Mahfouz, 2010).

Carotenoides

Con relación al contenido de carotenoides, se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) durante la mayor parte del periodo de evaluación, en la que el tratamiento a temperatura ambiente fue el que presentó el mayor contenido de estos pigmentos ($2.94 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PF), excepto a los 9 dda donde mostró un comportamiento estadísticamente similar al de 10°C (Cuadro 2). Esto sugiere que el uso de bajas temperaturas (6 y 10°C) inciden en la disminución de los diversos procesos metabólicos degradativos de los productos perecederos, evitando la pérdida de clorofila, principal pigmento en hojas y frutos inmaduros (Clydesdale, 1998; Do Nascimento, 2008), y de forma paralela también impide la biosíntesis de carotenoides (colores amarillos, naranjas y rojos) (Yamauchi y Watada, 1991); los cuales se ha visto que aparecen lentamente al degradarse el color verde inducido por la presencia de clorofila (Ferrante y Francini, 2006). Lo anterior coincide con lo indicado por Maestrelli (2000) y Shewfelt (2003) quienes indican que el color es un indicador cosmético de la calidad en frutas y hortalizas, el cual sufre relativamente pocas alteraciones durante el almacenamiento, y los cambios que se suscitan son consecuencia de la variación en la composición de los pigmentos naturales, como son las clorofilas, antocianinas y carotenoides o en el peor de los casos, ocasionadas por reacciones de oscurecimiento enzimático.

Cuadro 2. Acidez titulable, contenido de clorofila total y carotenoides en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

Temperatura de almacenamiento (°C)	AT ^y	CT	C
0 días de almacenamiento			
-	0.40*	11.00	0.34
3 días de almacenamiento			
6	1.06 a	11.07 a	0.27 a
10	1.03 a	10.82 a	0.31 a
Ambiente	1.01 a	12.74 a	0.31 a
DMSH	0.23	4.98	0.05
6 días de almacenamiento			
6	0.72 c	10.53 a	0.25 b
10	1.05 b	8.33 a	0.25 b
Ambiente	1.38 a	8.16 a	0.33 a
DMSH	0.30	2.88	0.03
9 días de almacenamiento			
6	0.77 b	9.91 a	0.21 b
10	0.92 b	7.78 b	0.25 ab
Ambiente	1.40 a	6.01 c	0.30 a
DMSH	0.41	1.35	0.05
12 días de almacenamiento			
6	0.71 b	10.27 a	0.17 b
10	1.34 a	5.93 b	0.22 b
Ambiente	1.62 a	4.59 b	0.29 a
DMSH	0.39	2.44	0.06
15 días de almacenamiento			
6	0.65 b	9.32 a	1.15 c
10	0.83 b	5.24 b	1.99 b
Ambiente	1.44 a	3.09 c	2.94 a
DMSH	0.35	0.87	0.26

*Aquí no hay efecto de tratamientos, solo se reporta media como referencia. ^zMedias con la misma letra dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey con $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. ^yAT: Acidez titulable (% Acido cítrico); CT: Clorofila total ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PF); C: Carotenoides ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PF).

Escala hedónica

De acuerdo con el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis, se encontró que las bajas temperaturas (6 y 10 °C) favorecieron ($P \leq 0.05$) una mayor la calidad visual (con valores de 9; cuadro 3), a los 6, 9, 12 y 15 días de almacenamiento (dda), comportamiento que puede estar asociado con la disminución de la tasa de degradación de clorofila; y algunos procesos implicados con la senescencia (Laurila y Ahvenainen, 2002; Shewfelt, 2003). En un estudio similar Cantwell y Reid (1993), reportan que bajo condiciones experimentales, la albahaca almacenada por 10 días a 10 °C, mantuvo su calidad visual de forma excelente y en buenas condiciones después de cuatro semanas a esta misma temperatura.

Una característica fundamental de calidad en las hierbas frescas lo constituye el color verde de sus hojas (Aharoni *et al.*, 1989), y en este estudio se detectó que a partir del día 6 dda el uso de refrigeración favoreció la conservación del color verde de los manojos, en contraste a lo que se observó en el tratamiento testigo donde la pérdida de color fue evidente aunado con la aparición de colores amarillentos mostrado en los dos últimos periodos de evaluación.

Las condiciones generadas durante el almacenamiento a temperatura ambiente incrementaron la caída de hojas a los 6, 9, 12 y 15 dda; de igual forma también generó el desarrollo de malos olores en los dos últimos muestreos. En lo que respecta a la presencia de pudriciones, en este trabajo no se logró detectar diferencia estadística entre tratamientos, esto tal vez puede estar asociado con la duración del periodo de almacenamiento (15 dda), el cual pudo ser insuficiente para el desarrollo de los mismos. Cantwell y Reid (1993) y Kenigsbuch *et al.*, (2007) indican que como todos los tejidos de hoja verde, las hierbas se afectan negativamente por el etileno

presentando síntomas tales como el amarillamiento, caída de las hojas y epinastia (encurvamiento del pecíolo). Por su parte, Cantwell y Reid (2002) y Böttcher *et al.*, (2003), indican que de manera análoga con otros productos perecederos, la temperatura es el factor más importante que afecta la vida de las hierbas frescas. Estos mismos autores señalan que algunas de estas hierbas como la menta son susceptibles a amarillamiento, por lo que siempre se debe considerar su manejo mediante el uso de refrigeración y una humedad relativa cercana al punto de saturación (98 a 100 %).

Cuadro 3. Promedios de rangos de Kruskal-Wallis en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

Temperatura de almacenamiento (°C)	CV ^y	ECV	A	DMO	NAH	P
0 días de almacenamiento						
-	9.00*	5.00	1.00	1.00	1.00	1.00
3 días de almacenamiento						
6	9.00 a	5.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
10	9.00 a	5.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
Ambiente	9.00 a	3.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
6 días de almacenamiento						
6	9.00 a	5.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 b	1.00 a
10	9.00 a	5.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 b	1.00 a
Ambiente	9.00 a	2.00 b	1.00 a	1.00 a	2.00 a	2.00 a
9 días de almacenamiento						
6	9.00 a	5.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 b	1.00 a
10	9.00 a	5.00 a	1.00 a	2.00 a	1.00 b	1.00 a
Ambiente	3.00 b	1.00 b	3.00 a	2.00 a	2.00 a	2.00 a
12 días de almacenamiento						
6	9.00 a	5.00 a	1.00 a	1.00 b	1.00 b	1.00 a
10	9.00 a	4.00 a	1.00 a	2.00 b	1.25 b	1.00 a
Ambiente	1.00 b	1.00 b	5.00 b	5.00 a	3.00 a	2.00 a
15 días de almacenamiento						
6	9.00 a	5.00 a	1.00 a	1.00 b	1.00 b	1.00 a
10	9.00 a	4.00 a	1.00 a	2.00 b	1.50 b	1.00 a
Ambiente	1.00 b	1.00 b	5.00 b	5.00 a	3.00	3.00 a

*Aquí no hay efecto de tratamientos, solo se reporta rango como referencia. ^zLiterales

corresponden a comparaciones de medias de rangos por tratamientos para un diseño completamente al azar (Conover, 1980). ^yCV: Calidad visual; ECV: Escala de color visual; A: Amarillamiento; DMO: Desarrollo de malos olores; NAH: Nivel de abscisión de hojas; P: Pudriciones.

CONCLUSIONES

Contrario a lo ocurrido en la menta almacenada a temperatura ambiente, el uso de refrigeración permitió mantener sin cambios significativos el nivel de la tasa de respiración y producción de etileno, de igual manera se logró observar una reducción de los cambios en la pérdida de peso, clorofila total, carotenoides así como de las características de apariencia visual consideradas en la escala hedónica.

LITERATURA CITADA

- Aharoni, N., Dvir, O., Chalupowicz, D. and Aharon, Z. 1993. Coping with postharvest physiology of fresh culinary herbs. *Acta Horticulturae*. 344: 69-77.
- Aharoni, N., Reuveni, A. and Dvir, O. 1989. 1989. Modified atmospheres in film packages delay senescence and decay of green vegetables and herbs. *Acta Horticulturae* 258:37-45.
- Alvarado P. A., Berdugo, C. A. y Fisher, G. 2004. Efecto de un tratamiento de frío (a 1,5 °C) y la humedad relativa sobre las características físico-químicas de frutos de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento. *Agronomía Colombiana* 22(2): 147-159.
- AOAC. 1990. Official Methods and Analysis. 14th Ed. Published for the association of Official Analytical Chemists Inc. Airlington, VA. USA. 1006 p.
- Ávila H. G., Cuspoca, R. J. A., Fisher, G., Ligarreto, G. A. y Quicazan, de C., M. C. 2007. Caracterización fisicoquímica y organoléptica del fruto de agraz (*Vaccinium*

- meridionale* Swartz) almacenado a 2 °C. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín 60(2): 4179-4193.
- Beecher, G. R. 1998. Nutrient content of tomato and tomato products. Proceeding of the society for experimental and biology medicine 218 (2): 98-100.
- Ben-Yehoshua, S., Rodov, V. 2003. Transpiration and water stress, pp. 1-49. *In*: Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Bartz, J. A. and Brencht, J. K. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Böttcher, H., Günther, I. and Bauermann, U. 1999. Physiological postharvest responses of marjoram (*Majorana hortensis Moench*). Postharvest Biology and Technology 15(1): 41 -52.
- Böttcher, H., Günther, I. and Franke, I. R. 2002. Physiological postharvest response of peppermint (*Mentha x piperita* L.) herbs. Gartenbauwissenschaft 67(6): 243-257.
- Böttcher, H., Günther, I. and Franke, I. R. and Warnstorff, K. R. 2001. Physiological postharvest responses of Matricaria (*Matricaria recutita* L.) flowers. Postharvest Biology and Technology 22(1): 39-51.
- Böttcher, H., Günther, I. and Kabelitz, L. 2003. Physiological postharvest responses of Common Saint-John's wort herbs (*Hypericum perforatum* L.). Postharvest Biology and Technology 29(3): 342-350.
- Brosnan, T. and Sun, W. 2001. Pre cooling techniques and applications for horticultural products: review. International Journal of Refrigeration 24(2): 154-170.
- Calvo, I. L. M., Yam, A. P., Dzib, G., Escalante, R. F., Peña, R. L. M. 2009. Effect of postharvest drying on the composition of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) essential oil. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants. 15(3): 281-287.

- Canet, P. W., and Álvarez, T. M. D. 2006. Quality and safety of frozen vegetables, pp. 377-410. *In: Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. Sun, W. D. (ed.). Taylor & Francis Group, LLC. Florida, USA.
- Cantwell, M. I. and Reid, M. S. 1993. Postharvest physiology and handling of fresh culinary herbs. *Journal Herbs Spices & Medicinal Plants* 1(3): 93-127.
- Cantwell, M. I., and Reid, M. S. 2002. Postharvest handling systems: fresh herbs. *In: Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Chapter 26, pp. 367-372. Kader A. A. (ed.). University of California. California, USA.
- Clydesdale, F. M. 1998. Color: origin, stability, measurement, and quality, pp. 1-16. *In: Food Storage Stability*. Taub, A. I. and Singh, P. R. (eds.). CRC Press, LLC. Florida, USA.
- Conover, J. W. 1980. Practical nonparametric statistics. Josh Wiley y Sons, Inc. Washington, DC. 493 p.
- Cuadra-Crespo, P; del Amor, MF. 2010. Effects of postharvest treatments on fruit quality of sweet pepper at low temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(15): 2716-2722.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. and Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97(4): 654-660.
- Do Nascimento, N. M. C. 2008. Color atlas of postharvest: quality of fruits and vegetables. Blackwell Publishing. Singapore City, Singapore. 448 p.
- Dorman, D. H. J., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids,

- varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16): 4563-4569.
- Ferrante, A. and Francini, A. 2006. Ethylene and leaf senescence, pp. 51-64. *In: Ethylene Action in Plants*. Khan, A. N. (ed.). Springer-Verlag. Heidelberg, Germany.
- Figuerola, I, Colinas, M. T., Mejia, J. and Ramírez, F. 2005. Postharvest physiological changes in roses of different vase life. *Ciencia e Investigación Agraria* 32(3): 167-176.
- Harpaz-Saad, S., Azoulay, T., Arazi, T., Ben-Yaakov, E., Mett, A., Shibolet, Y. M., Hortensteiner, S., Gidoni, D., Gal-On, A., Goldschmidt, E. E. and Eyal, Y. 2007. Chlorophyllase is a rate-limiting enzyme in chlorophyll catabolism and is posttranslationally regulated. *Plant Cell* 19(3):1007–1022.
- Hassan, F. A. S. and Mahfouz, S. A. 2010. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on sweet basil leaf senescence and ethylene production during shelf-life. *Postharvest Biology and Technology* 55(1): 61-65.
- Hassan, F. A. S. and Mahfouz, S. A. 2012. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the postharvest senescence of coriander leaves during storage and its relation to antioxidant enzyme activity. *Scientia Horticulturae* 141: 69-75.
- Hruschka, H. W. and Wang, C. Y. 1979. Storage and shelf life of packaged watercress, parsley, and mint. United States Department of Agriculture, Science and Education Administration. Marketing. Research Report. 35 p.
- Kenigsbuch, D., Chalupowicz, D., Aharon, Z., Maurer, D. and Aharoni, N. 2007. The effect of CO₂ and 1-methylcyclopropene on the regulation of postharvest

- senescence of mint, *Mentha longifolia* L. Postharvest Biology and Technology 43(1): 165-173.
- Kenneth, A., and Corey, F. 1989. Postharvest preservation of fresh herbs, fundamentals and prospects. The herb, Spice and Medicinal Plants Digest 7(3): 1-5.
- Laurila, E. and Ahvenainen, R. 2002. Minimal processing in practice: fresh fruits and vegetables, pp. 219-238. *In: Minimal Processing Technologies in the Food Industry.* Ohlsson, T. and Bengtsson, N. (eds.). Woodhead Publishing, Ltd. Cambridge, England.
- Lewers, S. K., Luo, Y. and Vinyard, T. B. 2012. Evaluation strawberry breeding selections for postharvest fruits decay. Euphytica 186(2): 539-555.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids, Pigments of Photosynthetic Biomembranes, pp. 351-379. *In: Methods in enzymology* Vol. 148. Packer, L. and Dounce, R. (eds.). Academic Press Inc. London and New York.
- Loaiza, J and Cantwell, M. I. 1997. Postharvest physiology and quality of cilantro (*Coriandrum sativum* L.). HortScience 32(1): 104-107.
- Low, D. T. 2006. A reason to season: the therapeutic benefits of spices and culinary herbs. Explore 2(5): 446-448.
- Maestrelli, A. 2000. Fruit and vegetables: the quality of raw material in relation to freezing, pp 1-29. *In: Managing Frozen Foods.* Kennedy, J. C. (ed.). Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, England.
- Martínez D. M. T. y Cantwell, M. I. 2002. Cambios de calidad en espinaca almacenada en atmosferas controladas. Revista Chapingo Serie Horticultura 8(1): 49-62.
- Martínez, R. D., Bailen, G., Serrano, M., Guillén, F., Valverde, J., Zapata, P., Castillo, S. and Valero, D. 2007. Tools to maintain postharvest fruit and Vegetable quality

- through the inhibition of ethylene action: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47(6): 543- 560.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85(2): 231-237.
- Mimica-Dukin, N. and Bozin, B. 2008. *Mentha* L. species (Lamiaceae) as promising sources of bioactive secondary metabolites. *Current Pharmaceutical Design* 14(29): 3141-3150.
- Nath, P., Trivedi, P. K., Sane, A. V. and Sane, P. A. 2006. Role of ethylene in fruit ripening, pp. 151-176. *In: Ethylene Action in Plants*. Khan, A. N. (ed.). Springer-Verlag. Heidelberg, Germany.
- Nei, D., Uchino, T., Sakai, N. and Tanaka, S. I. 2005. Effect of high temperature on the apparent activation energy of respiration of fresh produce. *Postharvest Biology and Technology* 37(3): 213-22.
- Nickavar, B., Alinaghi, A. and Kamalinejad, M. 2008. Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 7(3): 203-209.
- Peiris, K. H. S., Mallon, J. L. and Kays, S. J. 1997. Respiratory rate vital heat of some specialty vegetables at various storage temperatures. *HorTechnology* 7(1): 46-49.
- Rennie, T. J., Vigneault, C., Deell, J. R. and Vijaya, R. G. S. 2003. Cooling and storage, pp. 505-538. *In: Postharvest Technology: Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices*. Chakraverty, A., Mujumda, R. S. A., Raghavan, S. G. V. and Ramaswamy, H. S. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.

- Rogers, M. N. 1973. An historical and critical review of postharvest physiology research on cut flowers. *HortScience* 8(3): 189-194.
- SAS. 2002. SAS/STAT users guide: Statics, Ver. 9.00. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA. 1503 p.
- Shewfelt, L. R. 2003. Color, pp. 1-10. *In: Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. Bartz, J. A., Brencht, J. K. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Smith, P. J., Ramaswamy, H. S., Ranganna, B. and Vijaya, R. G. S. 2003. Packaging of fruits and vegetable. Chapter 19, pp. 539-554. *In: Handbook of Postharvest Technology. Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices*. Chakraverty, A., Mujumda, R. S. A., Raghavan, S. G. V. and Ramaswamy, H. S. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Thompson, K. A. 2003. Fruit and vegetables: harvesting, handling and storage. Blackwell Publishing, Ltd. New York, USA. 482 p.
- Vema, R. S., Rahman, L., Verma, R. K., Chauhan, A., Kadav, A. K. and Singh, A. 2010. Essential oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and peppermint (*Mentha piperita*) cultivars at different stages of plant growth from Kumaon region of western Himalaya. *Open Access Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 1(1): 13-18.
- Yamauchi, N. and Watada, A. E. 1991. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 116(1): 58-62.

CONCLUSIONES GENERALES

El uso de bajas temperaturas (6 y 10 °C) incrementó la actividad enzimática de peroxidasa, el contenido de fenoles totales y vitamina C disminuyendo la actividad de superóxido dismutasa.

La capacidad antioxidante se mantuvo con los valores más altos a 10 °C.

Contrario a lo ocurrido en la menta almacenada a temperatura ambiente, las bajas temperaturas permitieron mantener sin cambios significativos el nivel de la tasa de respiración y producción de etileno y se logró observar un efecto favorable en lo que se refiere a la disminución de pérdida de peso, clorofila total, y carotenoides. Así mismo se conservó la calidad visual, y no permitió la aparición de características indeseables para su comercialización como son el amarillamiento, desarrollo de malos olores, la caída de hojas y la presencia de pudriciones.

LITERATURA CITADA GENERAL

- Aked , J. C. 2002. Maintaining the post-harvest quality of fruits and vegetables, pp:119-149. *In: Fruit and Vegetable Processing: Improving Quality*. Jongen, W. (ed.). Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, England.
- Avello M. y Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales, y mecanismos de protección. *Atenea* 494(2): 161-172.
- Campanella, L., Bonani, A., Favero, G. and Tomasseti, M. 2003. Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 375(8): 1011-1016.
- Canet, P. W. and Álvarez, T. M. D. 2006. Quality and safety of frozen vegetables, pp. 377-410. *In: Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. Sun, W. D. (ed.). Taylor & Francis Group, LLC. Florida, USA.
- Chiesa, A. 2010. Factores prsecosecha y postcosecha que inciden en la calidad de la lechuga. *Horticultura Argentina* 29: 28-32.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. and Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97(4): 654-660.
- Gülcin, I., Elmastas, M. and About-Encin, Y. 2007- Determination of antioxidant and radical scavenging activity of basil (*Ocimum bailicum* L, Family) assayed by different methodologies. *Phytotherapy Reseach* 21(4): 354-361.
- Kader, A. A., Singh, P. R. and Mannapperuma, D. J. 1998. Technologies to extend the refrigerated shelf life of fresh fruits. Chapter 8, pp. 1-53. *In: Food Storage Stability*. Taub, A. I. and Singh, P. R. (eds.). CRC Press LLC. Florida, USA.

- Liu, M. Q. L. X., Weber, C., Yong, L. C., Brown, J. and Hai, L. R. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(10): 2926-2930.
- Magure, M. K., Sabarez, T. H. and Tanner, D. G. 2004. Postharvest Preservation and Storage, pp. 86-114. *In: Handbook of vegetables preservation and processing.* Fennema, R. O., Hui, H. Y., Karel, M., Waistra, P. and Whitaker, R. J. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Martínez, R. D., Bailen, G., Serrano, M., Guillén, F., Valverde, J., Zapata, P., Castillo, S. and Valero, D. 2007. Tools to maintain postharvest fruit and Vegetable quality through the inhibition of ethylene action: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47(6): 543- 560.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85(2): 231-237.
- Nickavar, B., Alinaghi, A. and Kamalinejad, M. 2008. Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 7(3): 203-209.
- Rodríguez, V. M. J., Tomassini, S. L. R., Mancade, N. M. C. and Strasser De Sad, A.M. 2010. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from Argentinean herbs infusions. *Food Control* 21(2): 779-785.
- Shukla, V. and Matto, A. K. 2009. Potential for engineering horticultural crops with high antioxidant capacity. *Perspectives in Agriculture, Veterinary, Science, Nutrition and Natural resources* 4 (66): 1-22.

- Smith, P. J., Ramaswamy, H. S., Ranganna, B. and Vijaya, R. G. S. 2003. Packaging of fruits and vegetable. Chapter 19, pp. 539-554. *In: Handbook of Postharvest Technology. Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices.* Chakraverty, A., Mujumda, A. S. R., Raghavan, V. G. S. and Ramaswamy, S. H. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Tonoiven, P. M. A. 2004. Postharvest storage procedures and oxidative stress. *HortScience* 39(5): 938-942.
- Vranová, E., Inzé, D. and Breusengem Van, F. 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1227-1236.

ANEXOS

I. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MENTA
(*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

Cuadro 1A. Cuadrados medios y significancia estadística de polifenol oxidasa, peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

FV	GL	POD ^y	PFO	SOD	CAT
0 días de almacenamiento					
T	2	0	0	0	0
Error	45	14590.03	1553.02	96.32	307.42
Total	47				
Media		194.72	58.72	53.68	21.02
CV (%)		62.03	67.11	18.28	83.38
3 días de almacenamiento					
T	2	1043583.85 ^{**z}	2477.88 ^{**}	4.97	2003.85
Error	45	75124.79	270.37	85.23	1404.47
Total	47				
Media		373.25	102.05	33.75	35.51
CV (%)		73.43	16.11	27.35	105.53
6 días de almacenamiento					
T	2	35190.21 [*]	767.94 ^{**}	229.789	176.10
Error	45	10953.84	50.51	130.555	360.16
Total	47				
Media		183,66	105.40	35.40	21.59
CV (%)		56.99	6.74	32.28	87.91
9 días de almacenamiento					
T	2	18420.10	219356	153.37 [*]	61.00
Error	45	12850.31	803.38	37.11	172.32
Total	47				
Media		134,43	109,35	27.403	12.48
CV (%)		84.33	25.92	22.230	105.20
12 días de almacenamiento					
T	2	30142.67	37044.43 ^{**}	1005.92 ^{**}	251.10
Error	45	14436.18	188.57	59.57	600.01
Total	47				
Media		244.21	135.59	33.89	25.03
CV (%)		49.200	10.13	22.78	97.87
15 días de almacenamiento					
T	2	232636.61 ^{**}	130.34	286.96 [*]	46.19
Error	45	2564.47	312.57	70.32	435.80
Total	47				
Media		178.51	87.08	21.60	13.41
CV (%)		28.37	20.30	38.82	155.62

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad ^yPOX: Peroxidasa (U·g⁻¹·PF); PPO: Polifenoloxidasa

(U·g⁻¹ de PF); SOD: Superóxido dismutasa (U·g⁻¹ de PF); CAT: Catalasa (U·g⁻¹ de PF); T:

Tratamientos; CV: Coeficiente de variación (%), ^z*,** significativo al 5 y 1%, respectivamente

Cuadro 2A. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables capacidad antioxidante, fenoles totales y vitamina C evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

FV	GL	CA	GL	FT	VC
0 días de almacenamiento					
T	2	0	2	0.00 ^z	0.00
Error	45	897.89	9	5.32	4.00
Total	47		11		
Media		262.57		12.19	22.17
CV (%)		11.41		18.91	9.023
3 días de almacenamiento					
T	2	58183.51**	2	98.89*	57.33**
Error	45	3349.37	9	17.82	6.67
Total	47		11		
Media		339.74		14.15	32.83
CV (%)		17.03		29.83	7.86
6 días de almacenamiento					
T	2	2446.61	2	34.05*	16.05
Error	45	3406.46	9	4.86	33.03
Total	47		11		
Media		217.81		10.66	38.23
CV (%)		26.80		20.69	15.03
9 días de almacenamiento					
T	2	12452.36	2	39.20	9.33
Error	45	3647.32	9	9.51	29.33
Total	47		11		
Media		322.90		11.76	32.50
CV (%)		18.70		26.22	16.66
12 días de almacenamiento					
T	2	5018.38	2	42.42*	1.33
Error	45	7488.70	9	10.26	8.44
Total	47		11		
Media		314.34		15.42	29.50
CV (%)		27.53		20.78	9.85
15 días de almacenamiento					
T	2	17564.14**	2	103.64*	25.33*
Error	45	1759.51	9	11.28	22.22
Total	47		11		
Media		293.44		15.37	32.50
CV (%)		14.29		21.85	14.50

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad; CA: Capacidad antioxidante (mm TEAC·g⁻¹ de PF; FT: Fenoles totales (mg·Kg⁻¹ de PF); VC: Vitamina C (mg de ac, ascórbico 100 g⁻¹). ^z*, ** significativo al 5 y 1 %, respectivamente.

II. CAMBIOS DE CALIDAD EN POSCOSECHA DE MENTA (*Mentha x piperita* L.) ALMACENADA EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN

Cuadro 1A: Cuadrados medios y significancia estadística de las variables tasa de respiración, producción de etileno y pérdida de peso evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

FV	GL	TR	PE	PP
0 días de almacenamiento				
T	2	0	0	-
Error	6	0.11	0.00001	-
Total	8			-
Media		2.57	0.04	-
CV (%)		13.02	10.63	-
3 días de almacenamiento				
T	2	14.46*	0.14	3.10
Error	6	2.48	0.04	4.42
Total	8			
Media		5.02	0.25	9.040
CV (%)		31.34	85.13	23.26
6 días de almacenamiento				
T	2	22.83*	0.34*	73.42
Error	6	4.44	0.04	18.81
Total	8			
Media		5.95	0.25	16.13
CV (%)		35.41	85.35	26.89
9 días de almacenamiento				
T	2	42.03**	0.17*	185.95* ^z
Error	6	1.45	0.03	23.76
Total	8			
Media		6.53	0.25	21.25
CV (%)		18.47221	65.79	22.94
12 días de almacenamiento				
T	2	81.28**	1.12*	256.34*
Error	6	0.99	0.04	26.94
Total	8			
Media		7.68	0.48	26.05
CV (%)		13.00	42.33	19.92
15 días de almacenamiento				
T	2	117.18**	1.06**	389.88.0*
Error	6	5.34	0.02	59.22
Total	8			
Media		9.27	0.54	31.17
CV (%)		24.92	23.55	24.69

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad; TR: Tasa de respiración (mL CO₂·Kg⁻¹·h⁻¹);

PE: Producción de etileno (μL C₂H₄·Kg⁻¹·h⁻¹); PP: Pérdida de peso (%). ^z*,** significativo al 5 y

1 %, respectivamente.

Cuadro 2A: Cuadrados medios y significancia estadística de las variables acidez titulable, clorofila total y carotenoides evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

FV	GL	AT	CT	C
0 días de almacenamiento				
T	2	0.00	0.00	0.00
Error	9	0.015	1.39	0.02
Total	11			
Media		0.40	11.00	3.37
CV (%)		30.43	10.72	4.42
3 días de almacenamiento				
T	2	0.21	4.35	0.24
Error	9	0.03	6.38	0.06
Total	11			
Media		1.01	11.54	2.96
CV (%)		18.62	21.87	8.62
6 días de almacenamiento				
T	2	0.44**	6.98	0.93**
Error	9	0.02	2.13	0.03
Total	11			
Media		1.05	9.01	2.79
CV (%)		14.56	16.193	5.82
9 días de almacenamiento				
T	2	0.40**	15.26**	0.47*
Error	9	0.05	0.47	0.06
Total	11			
Media		1.06	7.90	2.48
CV (%)		21.14	8.67	9.86
12 días de almacenamiento				
T	2	0.87**	35.34*	1.38*
Error	9	0.04	1.53	0.10
Total	11			
Media		1.22	6.93	2.28
CV (%)		16.19	17.87	14.04
15 días de almacenamiento				
T	2	0.68*	40.02**	3.18**
Error	9	0.03	0.19	0.01
Total	11			
Media		0.97	5.88	2.02
CV (%)		18.50	7.49	6.62

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad; AT: Acidez titulable (% ácido cítrico); CT: Clorofila total ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PF); C: Carotenoides ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PF). ^{Z*}, ^{**} significativo al 5 y 1 %, respectivamente.

Cuadro 3A. Estadístico To de la prueba de Kruskal-Wallis de las variables calidad visual, escala de color visual, amarillamiento, desarrollo de malos olores, nivel de abscisión de hojas y pudriciones evaluadas en menta almacenada en refrigeración (6 y 10 °C) y en condiciones de temperatura ambiente.

DDA ^y	CV	ECV	A	DMO	NAH	P
3	0 ^z	4.4	0	0	0	0
6	0	7.33*	0	0	11.00**	2.00
9	7.33*	11.00**	4.4	1.1	11.00**	2.00
12	11.00**	7.33*	11.00**	8.17*	9.80**	2.00
15	11.00**	7.33*	11.00**	8.17*	9.53**	4.4

^yDDA: días de almacenamiento; CV: Calidad visual; ECV: Escala de color visual; A: Amarillamiento; DMO: Desarrollo de malos olores; NAH: Nivel de abscisión de hojas. (%); P: Pudriciones. ^z*, ** significativo al 5 y 1%, respectivamente.

