



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA**

**ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE Y CAMBIOS EN LA CALIDAD
POSCOSECHA DE SALVIA (*Salvia officinalis* L.)
ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN**

TESIS

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

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



PRESENTA:

DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

MARÍA DE LA LUZ ROMERO TEJEDA

CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, DICIEMBRE DE 2014



Instituto de Horticultura

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CAMBIOS EN LA CALIDAD POSCOSECHA DE SALVIA (*Salvia officinalis* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

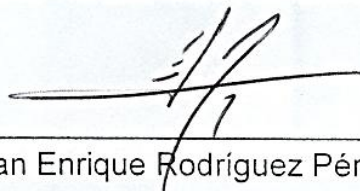
Tesis realizada por **María de la Luz Romero Tejeda**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

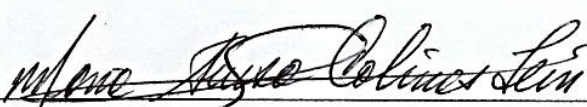
DIRECTOR:


Dra. María Teresa Martínez Damián

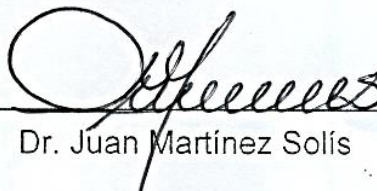
ASESOR:


Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

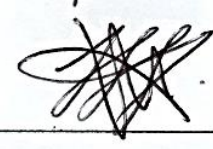
ASESOR:


Dra. María Teresa Beryl Colinas León

ASESOR:


Dr. Juan Martínez Solís

LECTOR EXTERNO:


Dra. Lucila González Molina

Chapingo, Estado de México, Diciembre de 2014

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada para la realización de los estudios de Doctorado.

Al **Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo** por brindarme el apoyo y la oportunidad para desarrollarme y culminar mis estudios en el Doctorado en Horticultura.

A la **Dra. María Teresa Martínez Damián** por sus conocimientos, orientación y recomendaciones para la realización de la presente tesis, así como por sus consejos y apoyo en mi vida personal.

Al Comité asesor: **Dra. María Teresa Colinas León; Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, Dr. Juan Martínez Solís y Dra. Lucila González Molina;** por sus valiosas observaciones y sugerencias en la presente investigación.

Al **Q. A. Cecilio Bautista Bañuelos**, por su asesoría, consejos y pláticas, que me motivaron durante la realización de este trabajo.

A la **I. A. Norma Macrina Aguilar Díaz** por su invaluable apoyo dentro del laboratorio y su valiosa amistad, que hicieron posible culminar la presente tesis.

Al **Dr. Eduardo López Blancas** por la apreciable ayuda durante la elaboración de este trabajo y por su amistad que hizo amena mi estancia en el laboratorio.

A la **Dra. María Antonia Flores Córdova** por su apoyo, pero sobre todo por su gran amistad y valiosos consejos durante los momentos difíciles.

A la empresa **Glezte S.P.R. de R.L.**, de Axochiapan, Morelos, en especial a la **M. en C. Verónica Núñez López**, por el apoyo y facilidades otorgadas.

A todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la realización de este trabajo.....**MIL GRACIAS.**

DEDICATORIA



A hermosa familia

A mis papás **Felicitas** y **Eduardo**, por su amor, por su gran apoyo, por sus sabios consejos, por escucharme y ayudarme a seguir adelante en los momentos difíciles de este largo camino recorrido...

A mi hermano **Ángel** q.e.p.d, porque pensar en él, me ha inspirado a seguir adelante con la mirada al frente...

A mi hermano **Lalo**, por ser un ejemplo a seguir, por su solidaridad con los que menos tienen, así como por el gran corazón y pasión con los que hace lo que más le gusta que es ayudar...

A **Rosy** por su invaluable apoyo, amistad y confianza...

A **Bren**, **Faty** y **Lalito** porque ustedes son lo más bello que tengo y son un gran motivo para continuar la marcha con una gran sonrisa...

LOS AMO

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CAMBIOS EN LA CALIDAD POSCOSECHA DE SALVIA (*Salvia officinalis* L.) ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

ENZYMATIC ACTIVITY, ANTIOXIDANT CAPACITY AND POSTHARVEST QUALITY CHANGES OF SAGE (*Salvia officinalis* L.) STORAGE UNDER REFRIGERATION

María de la Luz Romero Tejeda¹ y María Teresa Martínez Damián²

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la refrigeración sobre la calidad poscosecha, actividad enzimática y capacidad antioxidante de salvia. Para lo cual, la planta se almaceno en bolsas de polietileno a 0, 6 y 23 °C, por 21 días. Cada tercer día se determinaron las siguientes variables pérdida de peso, tasa de respiración, producción de etileno, sólidos solubles totales, acidez titulable, clorofila total, color, vitamina C, evaluación hedónica, fenoles totales, capacidad antioxidante, superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y polifenol oxidasa. Se encontró como resultado que a 0 °C hubo menor producción de etileno y tasa respiratoria; la pérdida de peso disminuyó hasta en un 40 %. A 0 y 6 °C se preservó el contenido de clorofilas y vitamina C hasta por 9 días. Los parámetros de calidad requeridos en la comercialización de salvia se mantuvieron hasta los 12 días de almacenamiento (dda). Las bajas temperaturas (0 y 6 °C) aumentaron el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante hasta por 15 días. Con respecto a la actividad de la superóxido dismutasa, peroxidasa y polifenoloxidasa, presentaron una disminución en las bajas temperaturas de refrigeración, aunque en estas tres enzimas se observó un aumento a los 15 y 18 dda, de 5.6, 33.2 y 16.7 U·mg⁻¹ de P, respectivamente. En contraste, la actividad de la catalasa, disminuyó por el almacenamiento en frío (13.4 U·mg⁻¹ de P). El almacenamiento a 0 y 6 °C prolongó la calidad poscosecha de salvia durante 12 y 9 dda, respectivamente.

Palabras clave: almacenamiento, evaluación hedónica, catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa, polifenoloxidasa.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of cooling on postharvest quality, enzyme activity and antioxidant capacity of sage. The plant was stored in polyethylene bags at 0, 6 and 23 °C for 21 days. The following variables were determined every other day: weight loss, respiration rate, ethylene production, total soluble solids, titratable acidity, total chlorophyll, color, vitamin C, hedonic evaluation, total phenols, antioxidant capacity, superoxide dismutase, catalase, peroxidase and polyphenol oxidase. It was found that at 0 °C ethylene production and respiration rate were reduced; weight loss decreased up to 40 %. At 0 to 6 °C the content of chlorophyll and vitamin C was preserved for up to 9 days. The quality parameters required in marketing sage remained until 12 days of storage (dda). Low temperatures (0 to 6 °C) increased phenolic content and antioxidant capacity up to 15 days. Activity of superoxide dismutase, peroxidase and polyphenol oxidase showed a decrease at low refrigeration temperatures, although these three enzymes increased at 15 and 18 dda, 5.6, 33.2 and 16.7 U·mg⁻¹ P, respectively. In contrast, catalase activity, decreased in cold storage (13.4 U·mg⁻¹ P). Storage at 0 to 6 °C extended the postharvest quality of sage for 12 and 9 dda, respectively.

Keywords: storage, hedonic evaluation, catalase, superoxide dismutase, peroxidase, polyphenoloxidase.

¹Tesista

²Director

CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
RESUMEN GENERAL.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DEL ANEXO.....	ix
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2.CALIDAD POSCOSECHA DE SALVIA ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN.....	5
2.1. RESUMEN.....	6
2.2. ABSTRACT.....	7
2.3. INTRODUCCIÓN.....	8
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
2.6. CONCLUSIONES.....	31
2.7. LITERATURA CITADA.....	31

3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN SALVIA ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN.....	40
3.1 RESUMEN.....	41
3.2 ABSTRACT.....	42
3.3 INTRODUCCIÓN.....	43
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
3.6 CONCLUSIONES.....	59
3.7 LITERATURA CITADA.....	60
4.0 EL USO MEDICINAL, LA ACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES, EXTRACTOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE SALVIA EN FRESCO.....	65
4.1. RESUMEN.....	66
4.2. ABSTRACT.....	66
4.3. INTRODUCCIÓN.....	67
4.4. IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	68
4.4.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	70
4.4.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	71
4.4.3 USO MEDICINAL.....	73
4.4.4 ACEITES ESENCIALES.....	76
4.4.5 EXTRACTOS NATURALES.....	78
4.4.6 ANTIOXIDANTES.....	80
4.4.7 CONCLUSIONES.....	82
4.4.8 LITERATURA CITADA.....	83
5. CONCLUSIONES GENERALES.....	88
6. LITERATURA CITADA GENERAL.....	89
7. ANEXOS.....	92

INDICE DE CUADROS

PÁG

CAPÍTULO 2. CALIDAD POSCOSECHA DE SALVIA ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

	PÁG.
Cuadro 1. Pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	14
Cuadro 2. Sólidos solubles totales y acidez titulable en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	21
Cuadro 3. Color en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	22
Cuadro 4. Clorofila total y vitamina C en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	28
Cuadro 5. Evaluación hedónica en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	29
 CAPITULO 3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN SALVIA ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN	
Cuadro1. Fenoles totales y capacidad antioxidante en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	53
Cuadro 2. Superóxido dismutasa y catalasa en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	56
Cuadro 3. Peroxidasa y Polifenol oxidasa en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	59
 CAPITULO 4. EL USO MEDICINAL, LA ACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES, EXTRACTOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE SALVIA EN FRESCO	
Cuadro1. Cierre de la producción agrícola de salvia (2013).....	69
Cuadro 2. Composición química del aceite esencial de <i>Salvia officinalis</i>	72

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁG.

CAPÍTULO 2. CALIDAD POSCOSECHA DE SALVIA ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

Figura 1. Diagrama del sistema de notación del color 23

CAPITULO 4. EL USO MEDICINAL, LA ACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES, EXTRACTOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE SALVIA EN FRESCO.

Figura 1. Planta de salvia A) desarrollo y B) floración..... 71

ÍNDICE DEL ANEXO

1A. Estadístico <i>To</i> de la evaluación hedónica en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	92
2A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisiológicas evaluadas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	93
3A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisicoquímicas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	94

	PÁG.
4A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables bioquímicas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	95
5A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de fenoles totales y capacidad antioxidante en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	96
6A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de actividades enzimáticas evaluadas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.....	97

CAPITULO 1
INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantas aromáticas han sido utilizadas desde la antigüedad con fines medicinales y como condimento para realzar el sabor de los alimentos; entre las más comunes se encuentran el perejil, el cilantro, la mejorana, la menta, la albahaca, la salvia y el orégano; anteriormente su comercialización se realizaba como producto seco; sin embargo, en la actualidad debido a la tendencia por consumir productos sanos se consumen en fresco, debido a sus características nutricionales y mejor sabor (Cantwell y Reid, 2007).

Actualmente, un área que ha adquirido mayor atención es la nutrición, con el fin de prevenir daños nocivos para la salud ocasionados por el estrés oxidativo, mediante antioxidantes naturales que se obtienen al consumir diferentes productos hortofrutícolas, entre ellos las hierbas aromáticas frescas que presentan un alto contenido de antioxidantes, como los ácidos fenólicos y flavonoides que tienen efectos benéficos para la salud, por su actividad antioxidante, astringente, anticancerígeno, antihipertensivo y antimutagénico (Shukla y Matto, 2009; Nickavar *et al.*, 2008).

En este sentido, Shukla y Matto (2009), señalan que se requiere de una caracterización detallada de las diferentes hierbas aromáticas, así como la evaluación del potencial antioxidante no sólo en fresco, sino a partir de los aceites esenciales para determinar la eficiencia de los antioxidantes naturales, con relación a la protección contra el daño oxidativo sobre las funciones del organismo humano.

A la salvia le han sido atribuidas numerosas actividades farmacológicas, tanto en humanos como en animales; las hojas por ejemplo, manifiestan actividad antibacteriana, fungistática y virostática. Es además astringente e inhibidora de la sudoración, el aceite esencial tiene actividad espasmolítica, y los extractos hidroalcohólicos combaten la hipotensión (Newall, 2006; Todorov *et al.*, 2007).

Aunque esta planta tiene diferentes beneficios para la salud, ya que es afectada por las ERO (especies reactivas de oxígeno), que generan enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Bailey, 2006; Rodríguez *et al.*, 2010); cuenta con un sistema de defensa antioxidante eficaz, que involucra varias enzimas y compuestos antioxidantes (Arivulchelvan *et al.*, 2012). Por ejemplo, Rodríguez y Pedraza (2005) sugieren que en el sistema de defensa pueden actuar los β -carotenos y ácido ascórbico, que están presentes en el cloroplasto, o que la planta puede inhibir la peroxidación lipídica.

En este sentido, la acción de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasas que intervienen en los procesos metabólicos, son de gran importancia durante el manejo, transporte y almacenamiento de las hierbas frescas; debido a que cualquier aspecto que afecte su calidad, activa los sistemas enzimáticos, que al tener contacto con el oxígeno (Martínez *et al.*, 2007); originan pardeamiento enzimático, en el que participa la enzima peroxidasa (POD), que se encarga de oxidar diferentes donadores de hidrógeno, y provoca reacciones que generan compuestos que modifican el sabor de los vegetales y favorecen el pardeamiento (Balouchi *et al.*, 2012) y la polifenoloxidasas (PFO) que oxida fenoles, lo que ocasiona que se desarrollen

pigmentos oscuros, negros o rojizos, que son responsables de la disminución de la calidad visual y nutricional del producto (Hassanpour *et al.*, 2012).

A pesar de su importancia, la salvia en fresco es altamente perecedera después de la cosecha, ya que actúan procesos fisiológicos como la producción de etileno y la degradación de enzimas, que ocasionan el incremento en la tasa respiratoria y la pérdida de agua durante el almacenamiento, lo cual se ve reflejado en el deterioro de la calidad del producto (Canet y Álvarez, 2006). Para evitar el acelerado aumento del metabolismo en las hierbas aromáticas es recomendable almacenarlas a bajas temperaturas y con 95 % de HR; condiciones que para salvia son adecuadas para su transporte, ya que su calidad se mantiene, debido a que tolera el frío, lo cual es necesario (Cantwell y Reid, 2007).

Por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del almacenamiento en refrigeración a 0, 6 y 23 °C (temperatura ambiente), sobre la calidad poscosecha, actividad enzimática y capacidad antioxidante en salvia (*Salvia officinalis* L.).

CAPITULO 2.

CAMBIOS EN LA CALIDAD POSCOSECHA DE SALVIA ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

CHANGES IN POST-HARVEST QUALITY OF SAGE UNDER REFRIGERATION

2.1 RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de las bajas temperaturas sobre la calidad poscosecha de salvia (*Salvia officinalis* L.), se condujo un experimento durante el ciclo primavera-verano de 2012 en la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México. Las plantas se evaluaron por 21 días y fueron almacenadas a 0 y 6 °C con respecto a 23±2 °C (testigo). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones. Se determinó la tasa de respiración (TR), producción de etileno (PE), pérdida de peso (PP), sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), clorofila total (CT), color (CL) y vitamina C (VitC). Se realizó una evaluación hedónica (apariencia visual, escala de color, amarillamiento, abscisión de hojas y pudriciones). Entre los principales resultados se encontró que el uso de refrigeración (0 y 6 °C) mantuvo la TR y PE con valores que estuvieron entre 15.4 a 22.9 ml CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ y de 0.06 a 0.46µl C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹, respectivamente. Disminuyó la PP hasta en un 40 %. La CT y el CL se conservaron hasta por 15 días a 6 °C. La VitC disminuyó progresivamente, aunque este decremento fue más evidente en el tratamiento a 23 °C. Los parámetros de calidad requeridos en la comercialización de la salvia se mantuvieron hasta por 12 días a bajas temperaturas, mientras que a 23 °C la calidad se perdió a partir de los 6 días.

Palabras clave: *Salvia officinalis*, tasa de respiración, calidad, escala hedónica.

2.2 ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the effect of low temperature on the quality of sage (*Salvia officinalis* L.) over postharvest. For this purpose, a laboratory experiment was conducted during spring-summer of 2012 at the University Autonomous of Chapingo, Texcoco, Mexico. The variables were evaluated over 21 days and stored at 0 to 6 °C compared to 23 ± 2 °C (control). A completely randomized experimental design with four replications was used. Respiration rate (TR), ethylene production (EP), weight loss (WL), total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), total chlorophyll (TC), color (CL) and vitamin C (CVit) were determined. A hedonic evaluation was performed (external appearance, color scale, yellowing, leaf abscission and rots). Results show that the refrigeration treatments (0 and 6 °C) maintained the TR and EP values between 15.4 and 22.9 $\text{mlCO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and 0.06 and 0.46 $\text{ulC}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, respectively. Weight loss decreased by 40 %. The TC and CL were maintained for up to 15 days at 6 °C. The CVit progressively decreased, although this decrease was more evident in the treatment at 23 °C. The market quality parameters required for sage were maintained for up to 12 days.

Keywords: *Salvia officinalis*, respiration rate, quality, hedonic scale.

2.3 INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas aromáticas tiene su origen en lo más remoto de la historia. Tanto en la cocina como en la medicina natural sus cualidades han sido destacadas. A mediados del siglo XIX se practicaron los primeros análisis químicos de esencias de plantas aromáticas con el fin de conocer su composición química y con ello se inició la base de la industria farmacéutica, perfumera y condimentaria (Palacio, 2006). En este sentido, el uso de las plantas aromáticas en la cocina está cada vez más extendido, tanto en la frecuencia como en la variedad de especies utilizadas (Mendiola y Montalbán, 2009). Actualmente se emplean las hojas frescas, tanto para sazonar los guisos como para realzar los diversos aromas culinarios. Cabe hacer notar que la industria alimentaria consume anualmente el 40 % de la producción mundial de plantas aromáticas en fresco. A pesar de este auge, la movilización de plantas aromáticas en poscosecha no ha sido del todo exitosa, debido a que durante su comercialización presentan una alta perecibilidad y corta vida de anaquel; en respuesta a esto se han creado estrategias de mercado en las que se emplea una tecnología general para todas las hierbas, es por ello, que las condiciones poscosecha implementadas pueden ser adecuadas para algunas de estas plantas e inapropiadas para otras, debido a sus diferencias botánicas y fisiológicas (Cantwell y Reid, 2007). En el caso particular de salvia fresca (*S. officinalis* L.), perteneciente a la familia Labiatae, responde adecuadamente a los métodos de conservación; sin embargo, siempre es aconsejable

combinarlas con el control de la temperatura ambiental (Böttcher *et al.*, 2005). El uso de refrigeración a bajas temperaturas (5 °C) y control de la humedad relativa durante el manejo poscosecha de esta planta constituyen una herramienta importante en la disminución del metabolismo y deshidratación, lo que permite prolongar su vida de anaquel y conservar sus características fisicoquímicas hasta por 16 días de almacenamiento, por lo que es indispensable remover el calor de campo rápidamente, ya que es esencial para disminuir la velocidad de la tasa de deterioro de productos altamente perecederos como es el caso de esta aromática (Thompson, 2003). Es importante enfatizar que los estudios disponibles en plantas aromáticas en general se han enfocado a mejorar las cualidades de los aceites esenciales empleando diferentes estados de madurez y técnicas de secado poscosecha (Calvo *et al.*, 2009; Verma *et al.*, 2010). En cuanto a salvia la investigación se ha enfocado a la caracterización y utilización de los antioxidantes naturales mediante extractos obtenidos de las hojas, así como a identificar los minerales y los polifenoles que la componen (Wang *et al.*, 2008). En la actualidad son pocos los trabajos relacionados con la fisiología poscosecha como el uso de empaques y diferentes temperaturas de almacenamiento en hierbas de la familia Labiatae (Böttcher *et al.*, 2005; Cantwell y Reid, 2007; Kenigsbuch *et al.*, 2007; Hassan y Mahfouz, 2010), por lo que es importante realizar estudios que consideren estos aspectos. Es por ello, que este trabajo tuvo como objetivo evaluar el comportamiento poscosecha de salvia (*S. officinalis* L.) en fresco, bajo tres temperaturas de almacenamiento (0, 6 y 23 °C), con el fin de estudiar

los cambios fisiológicos (pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno), fisicoquímicos (sólidos solubles totales, acidez titulable y color), bioquímicos (clorofila total y vitamina C), y sensoriales (escala hedónica).

2.4 MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

El material vegetal fue Salvia de la especie *officinalis*, proporcionado por la empresa Glezte S.P.R. de R.L., localizada en Axochiapan, Morelos, la cual se cosechó el 9 de mayo de 2012, se empacó y almacenó a 5 °C por 8 días en bolsas de polietileno transparente de baja densidad de 40 x 60 cm con seis perforaciones de 0.5 cm de diámetro por lado, en volúmenes de 500 g.

Ubicación del experimento y tratamientos

El material se trasladó a los Laboratorios de Fisiología de Frutales y de Usos Múltiples de la Universidad Autónoma Chapingo. Las plantas se mantuvieron a 5 °C por 24 h, posteriormente fueron colocadas en bolsas perforadas con 250 g de muestra y almacenadas a 0, 6 y 23 °C. Se realizó un análisis inicial y las posteriores evaluaciones fueron cada tres días por un periodo de 21 días. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar; con cuatro repeticiones por tratamiento (cada repetición con cuatro sub-repeticiones) en cada día evaluado, donde la unidad experimental consistió de una bolsa de salvia.

Variables fisiológicas

Pérdida de peso: se evaluó con una balanza digital (OHAUS); los datos de

porcentaje de pérdida se obtuvieron en cada día de evaluación con la fórmula:

% de pérdida de peso = (peso inicial-peso final)/peso inicial x 100.

Tasa de respiración y producción de etileno: se determinaron mediante el método estático a través de tubos de plástico cerrados herméticamente con manojos de 50 g de salvia, de los cuales después de una hora se tomó 1 ml de aire y la muestra se inyectó con una aguja hipodérmica en un cromatógrafo de gases VARIAN (mod.3400) acondicionado con una columna Porapak 80/100 de 2 mm x 1/8", con dos detectores, uno conductividad térmica (TCD) y otro de ionización de flama (FID), manteniendo 150 °C en el inyector, 80 °C en el horno, 170 °C en el TCD y 250 °C en el FID. Como estándar se utilizó CO₂ (399 mg·litro⁻¹) y etileno (103 mg·litro⁻¹) (INFRA). El gas de arrastre fue helio con un flujo de 32.3 ml·min⁻¹.

Variables fisicoquímicas

Sólidos solubles totales: evaluados según el método de AOAC (2003), con un refractómetro digital (ATAGO Pal-1), en el cual se colocaron 3 gotas del jugo de 5 g de hojas maceradas manualmente.

Acidez titulable: valorada por titulación de acuerdo con AOAC (2003); en esta determinación se licuaron 5 g de hojas en 25 ml de agua destilada, en seguida se tomó una alícuota de 5 ml para ser valorada con NaOH 0.01N y fenolftaleína como indicador.

Color: se determinó mediante un espectrofotómetro de esfera X-Rite (modelo SP62), donde a partir de un sistema triestímulo se obtuvieron las dimensiones

de la escala Hunter L° (brillantez), C° (cromaticidad) y h° (ángulo de tono), las lecturas se tomaron en el haz de tres hojas maduras de diferentes ramas.

Variables bioquímicas

Clorofilas: se determinaron de acuerdo con la metodología propuesta por la AOAC (2003), la cual consiste en tomar una muestra de 5 g de las hojas de salvia y realizar la extracción con acetona al 80 % dejándolas reposar durante 24 h en oscuridad en un lugar fresco. Se registraron lecturas de absorbancia (Abs) a tres longitudes de onda (645, 652 y 663 nm). Las concentraciones se calcularon con las siguientes fórmulas: Clorofila a= $0.0127_{A663} - 0.00269_{A645}$; Clorofila b= $0.0229_{A645} - 0.00468_{A663}$; Clorofila total (a+b) = $0.0202_{A652} + 0.00802_{A663}$; mediante el uso de un espectrofotómetro digital UV-VIS modelo Perkin Elmer. Los datos se reportan en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso fresco (Pf).

Vitamina C: se estimó de acuerdo al método de Tillman (AOAC, 2003) conocido como DCPIP 2, 6 diclorofenol-indofenol; a partir de 5 g de hojas de salvia que se licuaron con 50 ml de ácido metafosfórico-ácido acético, para lo que se tomó una alícuota de 10 ml a la que se agregaron 20 ml de agua destilada y se tituló con la solución de DCPIP. La titulación se detuvo cuando apareció un color rosa oscuro que permaneció más de 15 s. Se registró el gasto de DCPIP. Para obtener el contenido de esta vitamina se empleó la siguiente fórmula: $\text{mg vitamina C}/100\text{g peso fresco} = [\text{gasto DCPIP} \times 0.133/\text{vol. alícuota} \times \text{vol. total}/\text{peso de la muestra} \times 100]$.

Evaluación hedónica

Se utilizó la escala hedónica propuesta por Martínez y Cantwell (2002), con modificaciones, que consistieron en cambios en los valores de la escala y en evaluar la caída de hojas. Se evaluó apariencia visual (AV), escala de color visual (ECV), amarillamiento (AM), pudriciones (P) y abscisión de hojas (ABH). Para poder analizar estos caracteres se asignaron los siguientes valores: AV (9=excelente, 1=indeseable), ECV (5=verde oscuro, 1=amarillo), AM (1=ninguno, 5=severo), ABH (5=severo, 1=ninguno) y P (1=muy malo, 5=excelente).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), para lo que se empleó el paquete de análisis estadístico SAS (Statistical Analysis System ver. 9.0) (SAS, 2002). Para los datos obtenidos mediante la escala hedónica, se llevó a cabo un análisis no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis, para lo que se utilizó el software estadístico InfoStat (ver. 2013) (Di Rienzo *et al.*, 2008).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables fisiológicas

Pérdida de peso

Las pérdidas de peso por transpiración en las hortalizas de hoja durante poscosecha constituyen el principal problema que demerita su calidad, debido a que están constituidas en mayor parte por agua alcanzando hasta un 90 %

del peso total (Vicente *et al.*, 2009). En cuanto a esta variable, se puede observar que para el día 3 sólo hay diferencias significativas entre el tratamiento de 23 °C con el de 0 °C con valores de 3 % y 1.53 %, respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
PP (%)								
0	-	1.53b ^z	2.2b	3.0b	3.8b	6.8b	7.4c	7.9c
6		2.4ab	2.9b	5.0b	6.5b	8.8b	11.0b	12.9b
23		3.0a	6.2a	9.6a	15.4a	20.9a	26.3a	27.3a
DMSH		1.42	2.0	2.7	4.2	4.0	3.37	3.6
TR (mlCO₂·kg⁻¹·h⁻¹)								
0	14.2 [*]	16.6a	15.4b	16.5b	16.6b	17.2c	17.6b	18.0b
6		18.6a	19.8b	20.0b	20.1b	21.4b	21.6a	22.9a
23		22.0a	23.8a	25.2a	28.1a	29.9a	-	-
DMSH		10.1	5.6	6.1	5.9	5.5	5.2	5.3
PE (µlC₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹)								
0	0.06	0.06a	0.06b	0.10b	0.13b	0.17c	0.23b	0.29b
6		0.08a	0.10b	0.19b	0.17b	0.29b	0.38a	0.46a
23		0.05a	0.68a	0.72a	0.94a	1.05a	-	-
DMSH		0.05	0.15	0.20	0.22	0.30	0.18	0.19

*No hay efecto de tratamientos, sólo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas para cada periodo de almacenamiento, son iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEMP: temperatura de almacenamiento. PP: Pérdida de peso TR: Tasa de respiración; PE: Producción de etileno.

Entre los 6 y 15 días de almacenamiento la pérdida de peso es similar en la hoja almacenada a 0 y 6 °C; sin embargo ambas temperaturas tienen menor pérdida con respecto a la conservada a 23 °C. Por otra parte, es importante

mentonar que del día 18 al 21 el efecto de la temperatura de almacenamiento fue más claro, observándose las mayores pérdidas de peso en el último muestreo a 23 °C (27.3 %) mientras que a 0 °C se abatió 7.9 %. De acuerdo con Burg (2004); Cuadra y Del Amor (2010) y Coop *et al.* (2011), los vegetales de hoja almacenados a una temperatura elevada pueden perder entre 6 y 7 % de su peso fresco, la firmeza y apariencia disminuyen y por consecuencia la calidad y vida de anaquel también. De acuerdo con Ávila *et al.* (2007) cuando se trata de prolongar la vida poscosecha de productos perecederos, el déficit de presión de vapor de agua es una de las medidas que adquiere mayor relevancia, ya que ésta mide la diferencia entre la presión del vapor de agua del interior de un producto almacenado y su entorno.

De modo que, cuanto mayor sea el déficit de presión de vapor, las pérdidas de agua serán superiores, lo que se traduce en pérdidas de peso del producto en el transcurso del tiempo (Ben-Yehoshua y Rodov, 2003). En este sentido, Kader (2007) sugiere que las hierbas frescas deben almacenarse cerca de los 0 °C, ya que entre más altas sean las temperaturas se presenta una mayor pérdida de agua, lo cual produce alteraciones tanto en el exterior como en el interior de la hoja (Romojaro *et al.*, 2006). Aunado a esto el empacar las plantas en bolsas de polietileno perforadas puede limitar o aumentar la pérdida de agua, además de que la morfología de las plantas puede ayudar a prolongar la vida poscosecha, y el hecho de que las hojas de salvia presenten pequeñas vellosidades, la hace más resistente a perder agua (Cantwell y Reid, 2007; Lopestri y Thomkins, 2007).

Tasa de respiración

Se ha encontrado que la tasa de respiración resulta ser un buen indicador de la actividad metabólica de productos vegetales en donde las hojas son la parte de interés, y por tanto, es muy útil en la precisión del potencial de almacenamiento cuando se trata del manejo de temperaturas (Gómez *et al.*, 2009). En este trabajo se encontró que de los 6 a los 12 días de almacenamiento, la mayor tasa de respiración se presentó a 23 °C, con respecto a 0 y 6 °C, con un rango de valores que fluctuaron de 23.8 a 28.1 mLCO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Cuadro 1), alcanzando el mayor valor a los 15 dda, momento a partir del cual también se observan diferencias significativas entre las temperaturas de refrigeración, obteniendo a 0 °C la menor tasa de respiración (18.0 mLCO₂·kg⁻¹·h⁻¹), es decir que a medida que aumentó la temperatura, la tasa respiratoria fue superior. Bajo estas circunstancias es preferible conservar la planta a 0 °C, ya que los altos niveles de respiración a los 23 °C no presentaron condiciones adecuadas de consumo para ser evaluadas, resultados similares a los reportados por Cruz *et al.*, (2013) en menta (*Mentha x piperita* L.) almacenada por 15 días a 20 °C donde la tasa respiratoria fue estadísticamente diferente de 6 y 10 °C (con valores que fluctuaron de 9.31 a 16.41 mLCO₂·kg⁻¹·h⁻¹). Sin embargo, estos valores fueron menores a lo señalado por Gómez *et al.*, (2009) en cilantro (*Coriandrum sativum* L.) almacenado a 25 °C, con valores máximos de 25 y 46 µLCO₂·g⁻¹·h⁻¹. Al respecto Cooke *et al.*, (2008) y Hardenburg *et al.*, (2008) señalan que cuanto más alta es la temperatura de almacenamiento en hierbas frescas, la respiración tiende a intensificarse provocando la producción acelerada de calor,

CO₂, y H₂O, por lo que la vida de anaquel se reduce. Es por ello, que el manejo de la temperatura es el método más eficaz para mantener la tasa respiratoria en productos frescos, lo cual permite predecir el tiempo de almacenamiento y determinar los requerimientos de refrigeración (Gang *et al.*, 2005; Peiris *et al.*, 2007), ya que las plantas después de ser cosechadas durante su manejo y transporte, son altamente susceptibles a una acelerada senescencia que se acompaña por pérdidas de frescura, clorofila, calidad culinaria y nutrientes debido a su alto metabolismo, en donde, al igual que en otros productos perecederos diversos procesos fisiológicos alteran su vida de anaquel (Cantwell y Reid, 2007).

Producción de etileno

Los problemas poscosecha más frecuentes que ocurren en hierbas frescas están asociados con su rápida senescencia, producto de la alta sensibilidad al etileno (Giovannoni, 2007). En el caso de las condiciones de almacenamiento de salvia, en este trabajo se encontró que a los 3 días de almacenamiento no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos; sin embargo la mayor producción de etileno fue registrada entre los 6 y 15 dda a 23 °C con valores que oscilaron entre 0.68 a 1.05 mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Cuadro 1). En este periodo no existieron diferencias significativas de etileno producido a 0 (0.06 a 0.17 mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹) y 6 °C (0.10 a 0.29 mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹), no obstante, en las últimos dos evaluaciones (18 y 21), si se observaron diferencias, presentando la menor producción de etileno las hojas almacenadas a 0°C. Es importante mencionar que para éstas fechas las plantas almacenadas a 23 °C ya no

tuvieron la calidad adecuada de consumo para ser evaluadas, comportamiento similar al encontrado en la tasa de respiración de salvia. Varios autores como Nath *et al.* (2006) y Pyung *et al.* (2007) han reportado la influencia de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la calidad de diversas hojas frescas e indican que las altas temperaturas pueden acelerar su deterioro, dado que favorecen un incremento en el metabolismo celular y una mayor sensibilidad de los tejidos al efecto negativo del etileno (Nei *et al.*, 2005). Algunas hierbas como albahaca, menta y cilantro son afectadas por el etileno y presentan síntomas tales como el amarillamiento, caída de hojas y epinastia (Kenigsbuch *et al.*, 2007; Hassan y Mahfouz, 2010). En el caso particular de salvia, temperaturas superiores a 10 °C la afectan; sin embargo, el efecto puede ser minimizado con el uso de refrigeración (entre 0 y 6 °C) durante su transporte y comercialización (Grzegorzczuk *et al.*, 2005). Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con Cruz *et al.* (2013) que reportan para plantas de menta almacenadas a 20 °C valores más altos de etileno con relación a 6 y 10 °C; por su parte Cantwell y Reid (2007) y Kenigsbuch *et al.* (2007), mediante un estudio realizado sobre el almacenamiento y vida de anaquel en berro (*Nasturtium officinale*), perejil (*Petroselinum crispum* L.) y menta (*M. piperita* L.), encontraron que estas hierbas a 0 °C se conservan en excelentes condiciones por dos semanas.

Variables fisicoquímicas

Sólidos Solubles Totales

En lo que respecta al contenido de sólidos solubles totales, durante todo el periodo de almacenamiento no se presentaron diferencias estadísticas significativas (Cuadro 2), lo que probablemente se debe a que la salvia al ser una hierba no posee tejidos de reserva que permitan la acumulación de azúcares, lo cual puede estar relacionado con el proceso de senescencia (Nath *et al.*, 2006) que al ser este un proceso oxidativo pudo ocasionar que se degradaran desde el inicio del almacenamiento los pocos azúcares y ácidos que la planta mantenía (Shewfelt y Rückner, 2005).

Estos resultados son similares a los obtenidos por Wang *et al.* (2008) quienes almacenaron salvia por 15 días a 0, 7 y 20 °C, y no encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, aunque obtuvieron los valores más altos de sólidos solubles a 0 °C (con un rango de valores de 5.46 y 3.50°Brix); efecto contrario a lo que reporta Nuñez *et al.* (2012), para albahaca donde se probó un sistema de acolchado y sin acolchar, la cual fue almacenada a diferentes temperaturas, reportando diferencias significativas durante la mayor parte del periodo de almacenamiento, a excepción del muestreo a 16 dda (bajo el sistema de acolchado), donde la interacción de los niveles de temperatura a 0, 5, 7 y 20 °C generaron valores de °Brix mayores comparados con los que no se acolcharon.

Acidez titulable

Se puede observar que entre los 3 y 15 días de almacenamiento (dda), el mayor porcentaje de ácido málico se registró a 23°C, en un rango de 0.93 a 1.09) (Cuadro 2), mientras que a 0 y 6 °C se obtuvieron valores de 0.48 a 0.69 % y de 0.46 a 0.72 % de ácido málico, respectivamente, no habiendo diferencias significativas entre estos dos tratamientos, aunque fue notorio que a medida que la temperatura aumentó el porcentaje de ácido málico fue superior. Lo anterior, coincide con lo reportado por Wang *et al.* (2008) quienes encontraron que a los 8, 12 y 15 dda la acidez titulable fue mayor en la planta almacenada a 20 °C. Esto también coincide con el trabajo realizado por Torales *et al.* (2010) en arúgula en donde los valores de acidez a 20 °C fueron estadísticamente mayores durante los 15 días de almacenamiento con respecto al tratamiento a 6 °C. En cuanto a la mayor parte del periodo de almacenamiento en salvia se refiere, es similar emplear 0 y 6 °C, ya que no se presentan diferencias estadísticas en el porcentaje de ácido málico. En este sentido, Wills *et al.* (2008) mencionan que ocurre un efecto contrario en albaca donde el uso de bajas temperaturas redujo el desdoblamiento de los ácidos orgánicos, lo que permitió conservar y aumentar los porcentajes de acidez para resistir el estrés por frío durante el almacenamiento, además de que los productos vegetales mantienen sus características organolépticas con el menor número de cambios perceptibles en su calidad y comportamiento poscosecha (Kader y Salveit, 2005).

Cuadro 2. Sólidos solubles totales y acidez titulable en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23°C.

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
SST (°BRIX)								
0	7.58 [*]	7.4a ^z	7.3a	7.2a	7.1a	6.7a	6.5a	6.2a
6		7.3a	7.2a	7.2a	7.1a	6.6a	6.3a	6.1a
23		7.3a	7.3a	7.2a	7.1a	6.5a	-	-
DMSH		1.2	1.1	1.0	1.0	1.2	1.8	1.8
AT (% de ácido málico)								
0	0.43	0.48b	0.54b	0.60b	0.63b	0.69b	0.75a	0.80a
6		0.46b	0.52b	0.58b	0.66b	0.72b	0.78a	0.84a
23		0.93a	0.97a	1.01a	1.06a	1.09a	-	-
DMSH		0.11	0.12	0.12	0.15	0.18	0.23	0.23

*No hay efecto de tratamientos, solo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas para cada periodo de almacenamiento, son iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEMP: temperatura de almacenamiento. SST: sólidos solubles totales, AT: acidez titulable.

Color

El aspecto visual es uno de los factores principales utilizados por el consumidor al momento de comprar un producto y se utiliza en muchos estándares de clasificación como criterio de calidad (Kang *et al.*, 2008). En este trabajo se observa (Cuadro 3), que a los 3 y 6 días de almacenamiento no se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos; sin embargo a los 9, 12 y 15 dda, el tratamiento a 23 °C (con valores que fluctúan entre 42.5 a 42.0), presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto a 0 °C (40.8 a 39.4) y 6 °C (40.5 a 39.6), comportamiento que implica que cuanto más prolongado sea el tiempo de almacenaje y mayor sea la temperatura la brillantez de las hojas sufrirá una pérdida continua (Apeland, 2007; Palou, 2009). Al día 18 y 21 de almacenamiento se observa que no hay diferencia estadística entre

tratamientos. Respecto a la cromaticidad, a los 3, 6 y 9 días de almacenamiento no se observa variación de las temperaturas de almacenamiento, no así a los 12 y 15 dda donde el tratamiento a 23 °C promovió estadísticamente la mayor saturación de color con respecto a 0 y 6 °C. A los 18 y 21 días de almacenamiento se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos a bajas temperaturas, presentando la mayor cromaticidad a los 6°C. Cabe resaltar que a valores más altos de cromaticidad, mayor es la intensidad de color en las hojas (Pathare *et al.*, 2013). El color de las hojas indicado por el ángulo Hue indica que valores cercanos a 90° indican un color amarillo y a 180° señalan un color verde (Minolta, 2007).

Cuadro 3. Color en salvia almacenada durante 21 días bajo refrigeración a 0 y

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
	B (*L)							
0	40.4*	41.2a ^z	40.9a	40.8b	40.5b	39.4b	37.6a	35.2a
6		42.2a	41.1a	40.5b	40.0ab	39.6b	39.1a	37.4a
23		43.3a	42.8a	42.5a	42.2a	42.0a	-	-
DMSH		1.30	1.25	1.90	1.32	1.92	1.32	1.28
	C (*C)							
0	19.3	20.2a	19.1a	18.6a	18.3b	18.1b	17.7b	17.4b
6		20.0a	19.5a	18.4a	18.4b	18.2b	18.1a	18.0a
23		21.6a	21.8a	22.0a	23.4a	23.0a	-	-
DMSH		2.7	3.0	2.7	2.9	2.9	1.2	1.2
	T (°h)							
0	112.0	110.9a	110.8a	110.7a	110.5a	109.6a	107.3b	106.8b
6		111.2a	111.0a	110.8a	110.7a	109.7a	109.4a	107.9a
23		111.3a	110.7a	110.3a	109.2b	107.6b	-	-
DMSH		2.0	2.0	2.0	2.2	2.3	1.0	1.2

6 y a 23 °C.

*No hay efecto de tratamientos, solo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas para cada periodo de almacenamiento, son iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEMP: temperatura de almacenamiento. B: brillantez, C: cromaticidad, T: tonalidad.

En lo que respecta al ángulo de tono del día 3 al 9 los valores fluctuaron de 41.2 a 40.8) no se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos, y es hasta los 12 y 15 días donde se observa que el tratamiento a 23 °C es estadísticamente diferente, con un rango de valores de entre 109.2° a 107.6° que según el diagrama de color (Figura 1) indica una coloración menos verde con respecto a 0 y 6°C (con una tonalidad más verde).

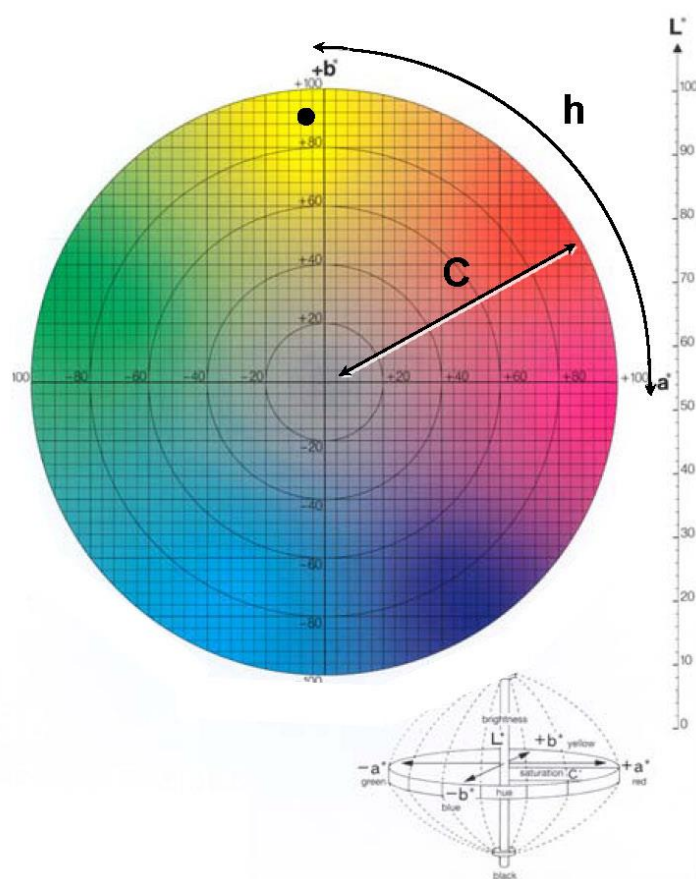


Figura 1. Diagrama del sistema de notación del color.

En cuanto a los 18 y 21 días de almacenamiento, se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos de refrigeración, en donde el tratamiento a

6 °C mostró mayor color verde, con respecto a 0 °C, aspecto que coincide con los resultados de clorofila en estos mismos días para salvia. Lo anterior, coincide con Wang *et al.* (2008) quienes al almacenar salvia por 15 días a 0, 5, 7 y 20 °C encontraron que a los 12 dda la brillantez, la cromaticidad y la tonalidad fueron estadísticamente diferentes a 20 °C. Por su parte, Nuñez *et al.* (2012) encontraron que en albahaca, la brillantez no presentó de manera evidente algún efecto por los tratamientos evaluados, situación contraria a la que se manifestó en cromaticidad y tonalidad de color, donde el testigo (20°C) fue estadísticamente diferente de 0 °C a los 12 dda. Tonoiven (2004) y Kevany *et al.* (2007) afirman que un reducido contenido de oxígeno en el tejido de las plantas provoca cambios en la coloración, cuando se manejan temperaturas por arriba de los 20 °C, que se vinculan principalmente con la degradación de la clorofila, ocasionada por cambios físicos y químicos implicados en el proceso de senescencia, así como por la síntesis o manifestación de otros pigmentos como carotenoides y antocianinas, por lo cual se espera un efecto benéfico por parte del uso de las bajas temperaturas.

Variables bioquímicas

Clorofila total

En la planta de salvia almacenada en este trabajo, se pudo observar que a partir de los 6 días de almacenamiento se presentaron diferencias entre tratamientos (Cuadro 4), donde las hojas almacenadas a 23 °C presentó valores de 0.023 a 0.005 mg·100g⁻¹ mostrando una disminución significativa de

la clorofila en relación a los resultados observados a 0 °C (0.027 a 0.011 mg·100g⁻¹) y 6 °C (0.028 a 0.011 mg·100g⁻¹), los cuales a su vez tienen el mismo comportamiento entre si hasta los 15 días, ya que en las dos últimas evaluaciones (18 y 21) la planta conservada a 6 °C mantuvo estadísticamente los más altos niveles de clorofila.

El comportamiento observado sugiere que puede haber una relación directa entre factores ambientales y la temperatura que pueden provocar la alteración de color de las hojas involucrando la desnaturalización de la clorofila, así como la síntesis de otros pigmentos (Pyung *et al.*, 2007 y Nagle *et al.*, 2012). Aunado a esto, cuando las hojas se exponen a bajas temperaturas (-0.5 a 4 °C) se foto-inhiben fácilmente lo que ocasiona un grave daño a la maquinaria fotosintética, que se ve reflejado en la disminución de los pigmentos (Taiz y Seiger, 2010). Lo anterior coincide con Torales *et al.* (2010) donde los tratamientos con bajas temperaturas de almacenamiento en arúgula presentaron mayor contenido de clorofila, en relación a albahaca almacenada a 20 °C, donde el contenido de clorofila fue siempre menor. Lo reportado en este trabajo también concuerda con Hassan y Mahfouz (2012), quienes al almacenar cilantro a 5 °C por 15 días observaron que el contenido de clorofila total fue disminuyendo gradualmente durante el almacenamiento pero de forma lenta comparada con la que se mantuvo a temperatura ambiente. Por su parte, Cruz *et al.* (2013) reportan que en menta almacenada durante 15 días a 6, 10 y 20 °C, el contenido de clorofila total presentó variación significativa en los tres últimos periodos de muestreo (9, 12 y 15 dda), donde el tratamiento a 6 °C presentó el valor más alto con

relación al de 10 y 20 °C. En relación a los cambios que generan las temperaturas en el contenido de clorofilas, el uso de refrigeración puede ser una alternativa, debido a que permite disminuir la degradación, manteniendo la calidad visual (frescura, turgencia y color verde) de hortalizas de hoja, en el caso de hierbas frescas suele ser una de las características fundamentales para prolongar su vida útil (Kader, 2007).

Vitamina C

En este trabajo se presentaron diferencias estadísticas durante la mayor parte del periodo de almacenamiento, excepto al día 6 en donde todos los tratamientos son iguales (Cuadro 4). Para el día 3, el tratamiento a 0 °C presentó el mayor contenido de Vitamina C ($57.7 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) con relación a 6 y 23 °C en donde el contenido de vitamina es estadísticamente igual (49.4 y $51.2 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente), en tanto que a los 9 dda los menores valores fueron registrados a 0 °C. Posteriormente, a los a los 12 y 15 dda a 0 °C se presentó la mayor cantidad de vitamina C, particularmente con relación a la alcanzada bajo 23 °C, tendencia que se mantiene hasta el último muestreo. Es importante destacar que el comportamiento del ácido ascórbico es muy inconsistente del día 3 al 12 y no es hasta los 15 dda en adelante que se muestra una diferencia del efecto entre cada tratamiento empleado. En este contexto es posible establecer de manera general que el incremento de la temperatura promueve la disminución del contenido de vitamina C, lo anterior sugiere, que cuando las plantas se mantienen a temperaturas elevadas y en periodos de almacenamiento prolongado, el inicio de la senescencia se acelera ocasionando mayor pérdida de vitamina C debido a la degradación de los

tejidos (Kalt, 2005; Tavarini, 2008 y Soto *et al.*, 2012), lo que adicionalmente puede vincularse con el incremento en la tasa de respiración que provoca la disminución de ésta vitamina debido a los cambios bioquímicos causados por procesos fisiológicos, entre ellos el respiratorio, que aumentan con las altas temperaturas (Canet y Álvarez, 2006). Otro aspecto que puede intervenir en la disminución de ésta vitamina, desde el inicio del almacenamiento, es que algunos cultivos son sensibles a la congelación, lo cual ocasiona mayor pérdida de vitamina C cuando las plantas se mantienen a bajas temperaturas y por periodos largos de refrigeración (Kader, 2007). También se puede resaltar que es mejor emplear 0°C. Estos últimos resultados son similares a los reportados por Pighín y Ral (2010) que en espinaca fresca almacenada por 15 días a 7 °C encontraron valores más altos de Vitamina C ($48.2\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), en comparación con 20°C ($36.8\text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), lo anterior es diferente a lo que reportan Martínez *et al.* (2013), en menta almacenada por 15 días a diferentes temperaturas en donde el contenido de vitamina C no presentó diferencias significativas durante la mayor parte del periodo de almacenamiento, excepto al día 15 donde el tratamiento a 6 °C fue significativamente superior al de 20 °C; respecto a lo anterior el almacenamiento a bajas temperaturas es considerado eficaz para evitar la disminución de las pérdidas de ácido ascórbico, en donde la congelación suele ser mejor (Rapisarda *et al.*, 2008, Tavarini *et al.*, 2008), y al ser este un compuesto que contribuye a la capacidad antioxidante, su conservación es importante durante el manejo poscosecha hortalizas de hoja (Shivashankara *et al.*, 2004).

Cuadro 4. Clorofila total y vitamina C en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
CLT (mg·100g ⁻¹)								
0	0.027*	0.024a ^z	0.027a	0.020a	0.011a	0.011a	0.009b	0.009b
6		0.023a	0.028a	0.014a	0.008a	0.011a	0.012a	0.016a
23		0.024a	0.023b	0.011b	0.006b	0.005b	-	-
DMSH		0.016	0.014	0.013	0.010	0.07	0.010	0.013
VitC (mg·100g ⁻¹)								
0	69.5	57.7a	53.7a	50.7b	44.1a	38.6a	28.3a	24.2a
6		49.4b	52.7a	53.0a	42.0ab	35.8b	27.8b	22.8b
23		51.2b	53.0a	52.0ab	42.7b	31.3c	-	-
DMSH		3.1	1.8	2.0	1.6	2.5	2.9	2.7

*No hay efecto de tratamientos, solo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas para cada periodo de almacenamiento, son iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEMP: temperatura de almacenamiento. CLT: clorofilas totales, VitC: vitamina C.

Escala hedónica

Entre las diferentes características sensoriales la apariencia y la frescura son los atributos primordiales en la selección de hortalizas de hoja por parte de los consumidores, que en la actualidad prefieren productos ricos en nutrientes y de calidad (Trijp y Schifferstein, 2007). En cuanto a la apariencia visual, en este trabajo se observan (Cuadro 5) diferencias estadísticas entre los tratamientos, a partir de los 6 dda, donde el efecto de las bajas temperaturas (0 y 6 °C) reflejó mejor calidad visual, con respecto al tratamiento de 23 °C en donde la calidad

se perdió conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento, comportamiento que puede estar relacionado con la disminución de la tasa de degradación de clorofila, y algunos procesos implicados con la senescencia (Shewfelt, 2005).

Cuadro 5. Evaluación hedónica en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
AV								
0	9 [*]	9a ^z	9a	9a	9a	8a	7a	7a
6		9a	9a	9a	9a	7b	6b	6b
23		9a	8b	6b	3b	2c	1c	1c
ECV								
0	5	5a	5a	5a	4a	4a	4a	4a
6		5a	5a	5a	4a	3b	3b	3b
23		5a	5a	4b	3b	2c	2c	2c
AM								
0	1	1a	1a	1a	1b	1b	1c	1c
6		1a	1a	1a	1b	1b	2b	2b
23		1a	1a	1a	3a	3a	4a	4a
ABH								
0	1	1a	1a	2a	2a	3b	3b	3b
6		1a	1a	2a	2a	3b	3b	3b
23		1a	1a	2a	2a	4a	4a	4a
P								
0	5	5a	5a	5a	5a	5a	4a	4a
6		5a	5a	5a	5a	5a	4a	4a
23		5a	5a	5a	1b	1b	1b	1b

*No hay efecto de tratamientos, solo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas para cada periodo de almacenamiento, son iguales de acuerdo a la prueba de comparaciones de medias de rangos (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.05$). TEMP: temperatura de almacenamiento. AV: apariencia visual, ECV: escala de color visual, AM: amarillamiento, ABH: abscisión de hojas, P: pudriciones.

Lo anterior coincide con Cruz *et al.*, (2013) quienes al almacenar menta a 6, 10 y 20 °C durante 15 días encontraron que las bajas temperaturas favorecieron la apariencia visual entre los 6 y 15 días. Una característica fundamental de calidad en las hierbas frescas la constituye el color verde de sus hojas (Cantwell y Reid, 2007); en este estudio se detectaron diferencias estadísticas después de los 9 días de almacenamiento, donde la conservación a 23 °C promovió la menor escala de color con respecto a las bajas temperaturas, tendencia que continuó hasta los 21 dda donde a 0 °C se registró estadísticamente el mayor color verde en las hojas, mientras que a 23 °C en el que la pérdida evidente de color fue acompañada con la aparición de colores amarillentos mostrados particularmente durante los tres últimos periodos de evaluación. En la abscisión de hojas se encontró que el tratamiento a 23 °C incrementó la caída a partir del día 15 de almacenamiento y continuó hasta los 18 y 21 días. Con relación a los resultados obtenidos en salvia, Kenigsbuch *et al.* (2007) indican que las hortalizas de hoja verde, se ven afectadas negativamente por el etileno, lo que ocasiona síntomas como amarillamiento, caída de hojas y epinastia (encurvamiento del pecíolo). Por su parte, Nuñez *et al.* (2012) y Cruz *et al.* (2013) indican que la temperatura es el factor más importante que afecta la vida de las hierbas frescas, como albahaca y menta, las cuales son susceptibles a presentar cambios, por lo que es indispensable su manejo mediante el uso de refrigeración y humedades relativas cercanas al punto de saturación (98 a 100 %), con el fin de prolongar su vida útil y mantener la calidad de comercialización. En cuanto a la pudrición de salvia, no se encontraron

diferencia estadística del día 3 al 9 de almacenamiento, no obstante, a partir del día 12 la conservación a 23 °C promovió estadísticamente la mayor pudrición, esto posiblemente ocurrió porque la descomposición de los tejidos vegetales tienden a reducir su actividad metabólica cuando se someten a bajas temperaturas (Montes y Arévalo 2009; Ortiz *et al.*, 2011).

2.6 CONCLUSIONES

La conservación de salvia a 0 °C durante 21 días, permitió la menor pérdida de peso de la hoja, y redujo la su tasa de respiración y producción de etileno.

La acidez titulable aumentó progresivamente a lo largo del periodo de almacenamiento, sin embargo, a 0 °C mantuvo los niveles más bajos de ácido málico a la vez que conservó los valores más altos de Vitamina C.

Los mayores valores de clorofila, cromaticidad y tonalidad se presentaron en las muestras almacenadas a 6 °C, mientras que a 0 °C, a partir de los 18 días de almacenamiento, se redujo la cantidad de pigmento y color verde en las hojas.

El almacenamiento a bajas temperaturas mantuvo la calidad de la salvia hasta por 12 días, mientras que a 23 °C la calidad se perdió a partir de los 6 días.

2.7 LITERATURA CITADA

APELAND, J. 2007. Factors affecting respiration and color during storage of parsley. *Acta Horticulturae* 20:43-52.

AOAC. 2003. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemistry. 17 ed. Published for the association of Official Analytical Chemists Inc. Arlington, VA. USA. 1006 p.

ÁVILA R., H. G.; CUSPOCA R., J. A.; FISHER, G.; LIGARRETO M., G. A.; 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.

BEN-YEHOSHUA, S.; RODOV, V. 2003. Transpiration and water stress, pp. 1-49. In: Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. BARTZ, J. A.; BRECHT, J. K. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.

BÖTTCHER, H.; GÜNTHER, I.; FRANKE, R. 2005. Physiological postharvest response of peppermint (*Mentha x piperita* L.) herbs. Gartenbauwissenschaft 67(6): 243-254. BURG, S. P. 2004. Postharvest Physiology and Hypobaric Storage of Fresh Products. CABI Publishing, Wallingford UK. 654 p.

CALVO I., L. M.; YAM P., A.; 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: 281-287.

CANET P., W.; ÁLVAREZ T., M. D. 2006. Quality and safety of frozen vegetables. In: WD. Sun. (ed.). Handbook of frozen food processing and packaging. Taylor & Francis Group. LLC. Florida, USA. pp. 377-410.

CANTWELL M., I.; REID M., S. 2007. Sistemas de manejo postcosecha: hierbas frescas. In: AA. Kader. (ed.). Tecnología Postcosecha de Cultivos

Hortofrutícolas. Series de Horticultura Poscosecha No. 24. University of California, Davis, USA. pp. 367-372.

COOKE R., D.; RICKARD J., E.; THOMPSON A., K. 2008. The storage of tropical root and tuber crops. *Expl. Agr* 24:457-470

COOP G., Y. F.; CORONA C., A. I.; RODRÍGUEZ R., R.; HERRERA R., F. J. 2011. Conservación de la calidad poscosecha en chile habanero (*Capsicum chinense* J.) mediante atmósferas modificadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 12:80-86.

CUADRA C., P.; 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: 2716-2722.

CRUZ A., O.; MARTÍNEZ D., M.T.; COLINAS L., M. T; RODRÍGUEZ P., J. E.; RAMÍREZ R., S.P. 2013. Cambios de calidad en poscosecha de menta (*Mentha x piperita* L.) almacenada en refrigeración. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 19: 287-299.

DI RIENZO J., A.; CASANOVES, F.; BALZARINI M., G.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO C., W. 2008. *InfoStat*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

GANG J., K.; LUO, Y.; SAFTNER A., R., KENNETH C., G.; 2005. Delayed modified atmosphere packaging of fresh-cut romaine lettuce: effects on quality maintenance and shelf-life. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130:116-123.

- GIOVANNONI J., J. 2007. Fruit ripening and its manipulation. En: S. Gan, (ed.). Senescence Processes in Plants: Annual Plants Reviews. Blackwell Publishing, Ltd. New York, USA. pp. 278-295.
- GÓMEZ, E.; LABARCA J., M.; Guerrero M., M. 2009. Comportamiento poscosecha de cilantro (*Coriandrum sativum* L.) bajo refrigeración. Rev. Fac. Agron. 16: 146-150.
- GRZEGORCZYK, I.; BILICHOWSKI, I.; MIKICIUK O., E.; WYSOKINSKA, H. 2005. *In vitro* cultures of *Salvia officinalis* L. as a source of antioxidant compounds. Acta Societa Tis Botanicorum Poloniae. 74:17-21.
- HARDENBURG R., E.; WATADA E., A.; WANG Y., C. 2008. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. In: C. Gross, C. Wang, and M. Saltveit. (eds.). USDA Agr. Res. Ser., Agr. Handbook.66. p. 130.
- HASSAN F., AS., Y SA. MAHFOUZ. 2010. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on sweet basil leaf senescence and ethylene production during shelf-life. Postharvest Biology and Technology 55: 61-65.
- HASSAN F., A. S.; 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.
- KADER A., A. 2007. Tecnología Postcosecha de cultivos hortofrutícolas. Tercera edición, Univ. Calif. Peer Reviewed. 299 p.
- KADER A., A., SALTVEIT E., M. 2005. Respiration and Gas Exchange. In: JA. Bartz, JK. Brencht. D. Marcel. (eds). Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Inc. New York, USA. pp. 5-28.

- KALT, W. 2005. Effects of production and processing factors on mayor fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Foods Science* 70: 11-19.
- KANG S., P.; EAST A., R.; Trujillo F., J. 2008. Colour vision system evaluation of bicolour fruit: a case study with B74 mango. *Postharvest Biology and Technology*. 49:77-85.
- KENIGSBUCH., D.; CHALUPOWICZ., D.; Aharon, Z.; MAURER, D.; 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: 165-173.
- KEVANY M., B.; TIEMAN D., M.; TAYLOR M., G.; CIN V., D.; Klee H., J. 2007. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. *The Plant Journal*. 51: 458-467.
- LOPESTRI, J., TOMKINS, B. 2007. Postharvest handling and packaging of fresh herbs. Rural Industries Research and Development Corporation. Victoria, USA. 256 p.
- MARTÍNEZ D., M. T., CANTWELL T., M. 2002. Cambios de calidad en espinaca almacenada en atmósferas controladas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 8: 49-62.
- MARTÍNEZ D., M. T.; Cruz Á., O.; COLINAS L., M. T.; RODRÍGUEZ P., J. E., RAMÍREZ R., S. P. 2013. Actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha piperita* L.) almacenada bajo refrigeración. *Agronomía Mesoamericana*. 24:57-69.

- MENDIOLA M., A.; MONTALBÁN M., J. 2009. Plantas aromáticas gastronómicas. Editorial. Mundi-Prensa. Madrid, España. 91 p.
- MINOLTA. 2007. Precise Color Communication. Tokyo, Japan. 62 p.
- MONTES, J.; ARÉVALO, S. 2009. Determinación del calor de respiración de frutas por el método de titulación. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria 2:27- 37.
- NAGLE, M.; ROMANO, G.; MAHAYOTHEE, B.; SARDSUD, V.; Müller, J. 2012. A novel optical approach for monitoring color changes in mango. In: Program and Abstracts of the International Scientific Conference on Sustainable Land Use and Rural Development in Mountain Areas. University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.199-200 p.
- NATH, P.; TRIVEDI P., K.; SANE V., A.; SANE A., P. 2006. Role of ethylene in fruit ripening. In: NA. Khan. (ed.). Ethylene Action in Plants. Springer-Verlag. Heidelberg, Germany. pp. 151-184.
- NEI, D.; UCHINO, T.; SAKAI, N.; Tanaka S., I. 2005. Effect of high temperatura on the apparent activation energy of respiration of fresh produce. Postharvest Biology and Technology. 37: 213-22.
- NÚÑEZ L., V.; MARTÍNEZ D., M. T.; Colinas L., M. T. 2012. Fisiología poscosecha de albahaca (*Occimum basilicum* L.) con y sin acolchado. Revista Chapingo Serie Horticultura. 18: 307-315.
- ORTÍZ, C.; ALATORRE, R.; VALDIVIA, B.; ORTIZ, C.; MEDINA, T.; ALEJO, S. 2011. Effect of temperature and relative humidity on entomopathogenic fungi development. Rev. Biociencias.1:42-5.

- PALACIO G. L. 2006. Las plantas medicinales y aromáticas. Una alternativa de futuro para el desarrollo rural. Boletín económico del Centro de Asistencia Técnica e Inspección de Comercio Exterior (CATICE) No. 2652. Madrid, España. 29-40 p.
- PALOU, E. 2009. Polyphenoxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. Journal of Food Science. 64: 42- 45.
- PATHARE P., B.; LINUS O., U.; AL-JULANDA A., S. F. 2013. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. Food Bioprocess Technol. 6: 36-60.
- PEIRIS, K. H. S.; MALLON J., L.; KAYS S., J. 2007. Respiratory rate and vital heat of some specialty vegetables at various storage temperatures. HortTechnology. 7: 46-49.
- PIGHÍN, G. F.; RAL, R. 2010. Espinaca fresca, supercongelada y en conserva: contenido de vitamina C pre y postcocción. Rev. Chil. Nutr. 37:201-207.
- PYUNG, O. L.; HYU, J. K.; Hong, G. N. 2007. Leaf Senescence. Annu. Rev. Plant Biol. 58:115-136.
- RAPISARDA, P.; BLANCO, I. M.; PANNUZZO, P.; TIMPARO, N. 2008. Effect of cold five orange genotypes (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Postharvest Biology and Technology. 49: 348-354.
- ROMOJARO, F.; MARTÍNEZ, M. C.; PRETEL, M. T. 2006. Factores precosecha determinantes de la calidad y conservación en postcosecha de productos agrarios. Resumen de conferencia. V Simposio Ibérico VIII Nacional de Maduración y Post-Recolección. Orihuela Alicante. pp.91-96.

SAS. 2002. SAS/STAT users guide: *Statics, Ver. 9.00*. SAS Institute Inc. Cary, North Caroline, USA. 1503 p.

SHEWFELT, L. R. 2005. Color, In: JA. Bartz, JK. Brencht, D. Marcel. (eds.). *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. Inc. New York, USA. 313-323 p.

SHEWFELT, R.L.; RÜCKNER, B. 2005. *Fruit and vegetable quality*. Technomic Publishing Company Inc. Pensilvania, USA. 330 p.

SHIVASHANKARA, K. S.; ISOBE, S.; AL-HAQ, M. I.; TAKENA, K. A.; SHINA, M. 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*. 52:1281-1286.

SOTO, G. A.; ETTIENE, G.; PÉREZ, E.; SANDOVAL, L.; MONTILLA, L.; Soto, E. 2012. Propagación y fertilización del cultivo del guanábano. II: Características químicas de frutos. *Rev. Fac. Agron.* 29: 20-36.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2010. *Plant Physiology*. Fifth Edition. SinauerAssociates Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts.

TAVARINI, S.; DEGL'INNOCENTI, E.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; GUIDI, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*. 107: 282-288.

THOMPSON, K. A. 2003. *Fruit and vegetables: harvesting, handling and storage*. Blackwell Publishing, Ltd. New York, USA. 482 p.

- TONOIVEN, P. M. A. 2004. Postharvest storage procedures and oxidative stress. *HortScience*. 39: 938-942.
- TORALES, A.C.; CHAVES, A. R.; Rodríguez, S. C. 2010. Cambios en la calidad de rúcula mínimamente procesada. Efecto de distintos envases. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 11: 196-203.
- TRIJP, V. H.; SCHIFFERSTEIN, H. N. J. 2007. Sensory analysis in marketing practice: comparison and integration. *J. Sens. Stud.*10: 127-147.
- VERMA, R. S.; RAHMAN, L.; VERMA, R. K.; CHAUHAN, A. K.; 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: 13-18.
- VICENTE, A. R.; MANGANARIS, G. A.; SOZZI, G. O.; CRISOSTO C. H. 2009. Nutritional quality of fruits and vegetables, In: WJ. Florkowski, RL. Shewfelt, B. Brueckner, SE. Prussia. (eds). *Postharvest Handling: A System Approach*. Elsevier Inc. Academic Press. USA. 58-106 p.
- WANG, M.F.; LI, J. G.; RANGARAJAN, M.; SHAO, Y.; LA VOIE, E. J.; HUANG, T. C.; Ho, C. T. 2008. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agr. Food Chem.* 46:4869-4873.
- WILLS, R.; Glasson, Mc B.; Graham, D.; Joyce, D. 2008. *Postharvest: An introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals*. UNSW Press, Adelaide. 262 p.

CAPITULO 3.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN SALVIA ALMACENADA EN REFRIGERACIÓN

ENZYME ACTIVITY AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN COOLING STORED SAGE

3.1 RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del almacenamiento en refrigeración sobre la actividad antioxidante y actividad enzimática de salvia. Brotes terminales de salvia previamente empacados en bolsas de polietileno, se almacenaron a 0, 6 y 23 °C (testigo), por 21 días. Cada tercer día, se evaluó el contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante, actividad de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa y polifenol oxidasa. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. En los resultados se encontró que el almacenamiento a 6 °C afectó el contenido de fenoles totales, así como la actividad enzimática de peroxidasa y polifenol oxidasa, e incrementó la actividad de catalasa y superóxido dismutasa, por lo cual, es recomendable el almacenamiento de salvia a 0 °C para disminuir la actividad de las enzimas oxidativas e incrementar la capacidad antioxidante.

Palabras clave: almacenamiento, fenoles, catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa, polifenol oxidasa.

3.2 ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of refrigerated storage on antioxidant and enzymatic activity on sage. Terminal buds of sage prepackaged in polyethylene bags, stored at 0, 6 and 23 ° C (control) for 21 days. Every third day, the total phenolic content, antioxidant capacity, activity of peroxidase enzymes superoxide dismutase, catalase and polyphenol oxidase was evaluated. A completely randomized design with four replications. The storage to 6 °C affect the total phenol content and the enzymatic activity of peroxidase and polyphenol oxidase, and increased the activity of catalase and superoxide dismutase, and therefore, it is recommended storage salvia 0 °C to decrease the activity of oxidative enzymes and increase the antioxidant capacity.

.Key words: storage, phenols, catalase, superoxide dismutase, peroxidase, polyphenol oxidase.

3.3 INTRODUCCIÓN

La investigación sobre antioxidantes naturales y actividad enzimática en plantas, se ha incrementado considerablemente en los últimos años, debido a que los de origen sintético son volátiles, se degradan fácilmente a altas temperaturas y generan efectos negativos en la salud (Rodríguez *et al.*, 2010), es por ello que, algunas plantas aromáticas, entre las que sobresalen: albahaca, menta, orégano, tomillo y salvia, se han comenzado a estudiar con el fin de evaluar su actividad antioxidante y enzimática (Nickavar *et al.* 2008). En el caso particular de la salvia, perteneciente a la familia Labiatae, además de ser una planta que se emplea en la gastronomía para condimentar platillos, se conoce que es benéfica para la salud, ya que se considera antidiabética, antidiarreica, antiinflamatoria y antiséptica; también se utiliza en la industria alimentaria, cosmética y en la elaboración de licores (Melero *et al.* 2009). Aunado a esto, se ha reportado que es una planta con alto contenido de compuestos polifenólicos, minerales y antioxidantes (Pizzale *et al.*, 2005; Bichra *et al.*, 2013). Es por ello, que en estudios relacionados con antioxidantes y enzimas en plantas, una función primordial es la reducción de oxígeno a agua, que ocurre secuencialmente. En este sentido, si la molécula de oxígeno sólo recibe de uno a tres electrones, forma a las especies reactivas de oxígeno que se encargan de incorporar a la molécula de peróxido de hidrógeno, que tiene propiedades químicas similares a las del superóxido, y fácilmente puede formar los radicales hidroxilo que son muy reactivos (González *et al.*, 2011). Las especies reactivas de oxígeno juegan un papel importante en la señalización de

plantas, ya que controlan procesos como el crecimiento, el desarrollo, la senescencia, la respuesta a estímulos ambientales tanto bióticos como abióticos y la muerte celular programada (Bailey, 2006). Algunos cambios abióticos tales como las bajas y altas temperaturas, el exceso de irradiación, la sequía, la salinidad, las heridas, la anoxia y los contaminantes naturales, modifican el balance celular e incrementan la generación de especies reactivas de oxígeno, por lo que la respuesta de un tejido vegetal para producir estas especies podría resultar no solo de la existencia y función de distintas proteínas, sino también de la presencia o ausencia de antioxidantes en la célula. Las especies reactivas de oxígeno se encuentran estrechamente relacionadas con el retraso o inhibición de la oxidación de lípidos y otras moléculas, que se acompaña por el deterioro progresivo de las plantas; también se vinculan con el acelerado incremento celular que provoca enfermedades del corazón y cáncer (Rodríguez *et al.* 2010), es por ello que el consumo de alimentos con alto contenido de antioxidantes permite prevenir estas alteraciones (Erdemoglu *et al.* 2006). En este sentido, los sistemas de defensa antioxidantes en las plantas implican, un sistema no enzimático, donde se promueve la síntesis de numerosos metabolitos secundarios (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y vitaminas) en la ruta de los fenilpropanoides (Yanishlieva *et al.*, 2006); y un sistema antioxidante basado en la actividad enzimática que se encuentra localizado en varios compartimentos celulares, en el que se incluye a las enzimas superóxido dismutasa que convierte al superóxido a H_2O_2 , la peroxidasa que convierte el H_2O_2 a agua y la catalasa que elimina a el

H₂O₂ (Oueslati *et al.*, 2010). A pesar de estos estudios, no se conoce el comportamiento enzimático y antioxidante cuando las plantas se almacenan en refrigeración, por lo que se plantea la presente investigación con el objetivo de evaluar el efecto poscosecha de tres temperaturas de almacenamiento sobre la actividad enzimática y capacidad antioxidante en salvia.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizó Salvia de la especie *officinalis*, del ciclo primavera, con calidad de exportación, proporcionado por la empresa Glezte S.P.R. de R.L., localizada en Axochiapan, Morelos. El 9 de mayo de 2012, después de cosechar la planta se pre-enfrió durante 24 h a 5 °C; posteriormente, se empacaron 250 g de salvia en bolsas de polietileno transparente de baja densidad con 3 perforaciones de 0.5 cm de diámetro por lado.

Ubicación del experimento y tratamientos

El material se trasladó a los Laboratorios de Fisiología de Frutales y de Usos Múltiples de la Universidad Autónoma Chapingo. El experimento y análisis de variables se realizó durante los meses de mayo a septiembre de 2012. La salvia empacada se almacenó durante veintiún días, a temperaturas de 0 y 6 °C, en cámaras frigoríficas y a 23 °C (tratamiento testigo); cada tercer día cuatro empaques por tratamiento se transfirieron a un ultracongelador (-20 °C).

Variables

Las variables evaluadas fueron fenoles totales, capacidad antioxidante, actividad enzimática de catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa y polifenoloxidasas; la primera se determinó a partir del extracto de acetona y las siguientes mediante polvo de acetona; los resultados de las variables se reportaron con base al peso fresco. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar de un factor (temperaturas de almacenamiento), con tres niveles (0, 6 y 23 °C) y siete días evaluados (3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 días); la unidad experimental consistió de un empaque con 250 g de salvia, con cuatro repeticiones por tratamiento (cada repetición con cuatro sub-repeticiones) por día de evaluación.

Polvo de acetona

Con las muestras congeladas se elaboró polvo de acetona (Alia *et al.*, 2005); para lo cual, 15 g de hojas (sin peciolo) más 80 ml de acetona en congelación (-15 °C), se homogenizaron en licuadora por 25 segundos y se filtraron al vacío. Después de homogenizar y filtrar en doce ocasiones, el extracto de acetona se guardó en refrigeración (4 ± 2 °C); por otra parte, el polvo de acetona se dejó secar por 15 minutos a temperatura ambiente (23 ± 2 °C), una vez seco se pesó y almacenó en un ultracongelador (-20 °C). El peso del polvo de acetona se determinó en función de la relación: peso fresco de hojas maceradas entre peso del polvo seco.

Fenoles totales

Se cuantificaron por el método de Folin y Ciocalteu (Waterman y Mole, 1994). A 0.1 ml de extracto de acetona se adicionaron 7.9 ml de agua desionizada y 0.5 ml del reactivo de Folin y Ciocalteu, la mezcla se agitó vigorosamente y se agregaron 1.5 ml de solución de carbonato de sodio (20 %); posteriormente se dejó reposar por dos horas en oscuridad; después las muestras se leyeron a 760 nm en un espectrofotómetro. Por medio de una curva patrón de ácido tánico, los resultados se reportaron en mg/kg de peso fresco (mg/kg/pf).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó de acuerdo con el método ABTS [2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)] Ozgen *et al.* (2006), en donde una solución de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM) se mantuvo en oscuridad durante 24 h a temperatura ambiente; posteriormente la solución se diluyó con buffer fosfato (0.1 M, pH 7.4) hasta obtener un valor en absorbancia de $0.700 \text{ nm} \pm 0.02$ en espectrofotómetro calibrado a 734 nm.

El ensayo de las muestras se realizó con 2.9 ml de solución de ABTS (a 700 nm) y 0.1 ml de extracto etanólico de polvo de acetona (0.05 g de polvo de acetona en 5 ml de etanol, homogeneizados con 24 h de reposo), después de dos horas, la lectura se realizó a 734 nm. La cuantificación se hizo mediante curva de calibración con ácido ascórbico, los valores se reportaron en mg de actividad antioxidante equivalente a vitamina C/g de peso fresco (mgVCEAC/g /pfr).

Superóxido dismutasa (EC. 1.15.1.1; SOD)

La extracción de la SOD se realizó a partir de 0.05 g de polvo de acetona, al cual se le adicionaron 5 ml de Buffer (0.1 M, pH 7.8) y se homogeneizaron por 20 s; a continuación la mezcla se centrifugó a 12 000 x g a 4 °C por 30 min y se almacenó el sobrenadante. Para el ensayo enzimático se empleó la metodología propuesta por Beyer y Fridovich (1987), en la cual se mezclaron 27 ml de Buffer fosfatos (0.05 M, pH 7.8), que contenía 27 ml de Buffer (0.1 mM, pH 7.8 + EDTA), 1.5 ml de L-metionina (30 mg / ml), 1 ml de nitro blue tetrazolium (1.41 mg / ml) y 0.75 ml de Triton X-100 al 1 %. A 3 ml de esta mezcla de reacción se adicionaron 0.5 ml del sobrenadante y 0.03 ml de riboflavina (4.4 mg / 100 ml); la mezcla se agitó e iluminó por siete minutos con luz fluorescente, y posteriormente las muestras se leyeron en absorbancia a 560 nm. La actividad enzimática se reportó como unidad de actividad enzimática/mg de proteína (u / mg / prot), donde una u de superóxido dismutasa es igual a la cantidad de sobrenadante que foto-inhibe el 50 % de la formación de Nitro Blue Tetrazolium formazan (Giannopolities y Ries, 1977).

El incremento en absorbancia debido a la formación de Nitro Blue Tetrazolium formazan por unidad de tiempo equivale a la velocidad de reacción, y la absorbancia en ausencia o en presencia de varias cantidades de superóxido dismutasa se utilizó para determinar el número de unidades/ml de superóxido dismutasa en la solución (Stauffer, 1989).

Catalasa (EC. 1.11.1.6; CAT)

La CAT se extrajo a partir de 0.05 g de polvo de acetona, este se homogeneizó con 5 ml de Tris-HCl (0.1 M, pH 8.5) que contenía 1 % de polivinilpirrolidona. La mezcla se centrifugó a 12 000 x g por 40 min a 4 °C, se conservó el sobrenadante. La actividad de catalasa se determinó por el método descrito por Blackwell *et al.* (1990), para lo cual, en una celda de cuarzo, se colocaron 3 ml de amortiguador Tris-HCl (10 mM, pH 8.5) y 0.1 ml de H₂O₂ al 88 %; la reacción se inició al adicionar 0.1 ml del sobrenadante. Por último, se observó el cambio en absorbancia de las muestras a 240 nm, tomando lecturas a los 20, 60 y 180 s. La actividad enzimática se reportó como Unidad de actividad enzimática / mg de proteína (U/mg/prot), donde una u es igual a la descomposición de 1 µmol / min de H₂O₂.

Peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD)

La POD se extrajo a partir de 0.05 g de polvo de acetona que se homogeneizaron por 10 s, con 5 ml de Tris-HCl (0.1 M, pH 7.1) con 1 % de polivinilpirrolidona, la mezcla se centrifugó a 12 000 x g a 4 °C por 40 min, se guardó el sobrenadante. Se aplicó el método de Flurkey y Jen (1978), se mezclaron 2.45 ml de amortiguador Tris-HCl (0.1 M, pH 7.1), 0.25 ml de guayacol (0.1 M), 0.1 ml de H₂O₂ al 0.25 % y 0.2 ml del sobrenadante. En esta mezcla, con un volumen total de 3 ml, se determinó el cambio de absorbancia a 470 nm y las lecturas de las muestras se realizaron a los 30, 120 y 180 s. La actividad enzimática se reportó como Unidad de actividad enzimática / mg de

proteína (U / mg / prot), donde una u es igual a la formación de 1 μ mol de tetraguayacol / min.

Polifenoloxidasa (EC. 1.14.18.1; PFO)

La PFO se extrajo con el mismo procedimiento utilizado en la peroxidasa. La actividad enzimática de la polifenoloxidasa se evaluó mediante el método propuesto por Laminkanra (1995) en el cual se emplearon 3 ml de catecol (60 mM) disuelto en Buffer Tris-HCl (0.1 M, pH 7.1) y 0.2 ml del sobrenadante, con esta mezcla se evaluó el cambio de absorbancia de las muestras a 420 nm, tomando las lecturas a los 20, 60 y 120 s. La actividad enzimática se reportó como Unidad de actividad enzimática / mg de proteína (U / mg / prot), donde una U es igual a la formación de 1 μ mol de o-benzoquinona / min.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos de cada variable por día de evaluación se sometieron a un ANAVA y prueba de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) con el paquete de análisis estadístico SAS® (Statistical Analysis System, ver. 9.0) (SAS, 2002).

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fenoles totales

Entre los 3 y 15 días de almacenamiento (dda), estadísticamente ($\alpha=0,05$) el menor contenido de fenoles se observó en hojas de salvia almacenadas a 23°C, con valores que oscilaron entre 4.17 a 4.09 mg/kg/Pf. Este comportamiento se puede asociar con el aumento de la capacidad antioxidante,

ya que en conjunto con algunas enzimas como superóxido dismutasa y catalasa, pueden establecer la primera barrera de defensa contra el estrés oxidativo que puede ser ocasionado por el efecto de las bajas temperaturas, manteniendo estables los componentes de la pared y membrana celular (González *et al.*, 2011). Por otra parte, se encontró que en salvia a los 9 y 12 dda cada temperatura empleada fue estadísticamente diferente, observándose la mayor cantidad de fenoles a 6 °C. Estos resultados se asemejan a lo reportado por Martínez *et al.* (2013), en menta (*Mentha x piperita* L.) almacenada por 15 días, en donde el contenido de fenoles totales fue superior a 6 y 10 °C, a diferencia del testigo que presentó el valor más bajo. En este sentido, Kevers *et al.*, 2007 indican que la estabilidad de los compuestos fenólicos depende de factores como la temperatura de refrigeración, la humedad relativa y la disposición de oxígeno; sin embargo, en productos como el tomate de cáscara, la uva de mesa y el brócoli se ha presentado un breve aumento de los compuestos fenólicos durante los primeros días de almacenamiento. A los 18 y 21 dda, estadísticamente los valores más altos en el contenido de fenoles totales se obtuvieron de muestras almacenadas a 6 °C. Este comportamiento quizá se debió a que el periodo de almacenamiento influyó sobre los fenoles totales, que en estas condiciones presentan un estado de oxidación intermedio con mayor actividad captadora de radicales, lo cual promueve la oxidación enzimática (Kirca y Arslan, 2008).

Capacidad antioxidante

La mayor capacidad antioxidante entre los 3 y 9 dda se observó en hojas almacenadas a 23°C; a partir de los doce días, los valores más bajos sólo se reportaron en muestras almacenadas a 0 °C (Cuadro 1). Al respecto se ha señalado que la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales aumenta cuando los productos son manejados a altas temperaturas, resultados observados por Kevers *et al.* (2007) en espárrago, espinaca y apio almacenados a temperatura ambiente por 22, 19 y 8 días, respectivamente, contrario a lo que sucede en otros frutos y vegetales de hoja verde cuando se almacenan a ± 4 °C como es el caso de flamboyán, hojas de curry y mani cai (Mathiventhan y Sivakanesan, 2013), o lechuga, pepino y tomate (Kevers *et al.*, 2007) donde los niveles se mantuvieron bajos debido a que las bajas temperaturas retardan los procesos metabólicos de las plantas (Mathiventhan y Sivakanesan, 2013). A los 15 dda se presentaron diferencias estadísticas entre las tres temperaturas empleadas, observándose que a 23 °C la capacidad antioxidante fue mayor en comparación con 0 °C y 6°C. Finalmente a los 18 y 21 dda la conservación a 6°C permitió los valores más altos, en estos días en el tratamiento a 23 °C las plantas no presentaron la calidad adecuada para ser evaluadas. Autores como Patthamakanokporn *et al.* (2008) mencionan que la alta capacidad antioxidante depende del contenido de fenoles totales, por lo que hay una correlación directa entre los fenoles y la actividad antioxidante equivalente a vitamina C, situación que concuerda con este trabajo para los tratamientos a 0 y 6 °C entre los 6 y 12 dda.

Cuadro 1. Fenoles totales y Capacidad antioxidante en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23 °C.

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
FT (mg/kg/Pf)								
	4.52*							
0		4.26a ^z	4.30a	4.28b	4.37b	4.39a	4.41b	4.46b
6		4.24a	4.28a	4.47a	4.45a	4.40a	4.43a	5.07a
23		4.17b	4.19b	4.15c	4.12c	4.09b	-	-
DMSH		0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2
CA (mg VCEAC/g /Pf)								
	53.75							
0		49.68b	61.49b	63.36b	73.98b	59.88c	60.62b	53.42b
6		50.62b	65.13b	67.42b	82.19a	78.24b	72.16a	62.68a
23		63.74a	68.74a	74.26a	80.06a	88.57a	-	-
DMSH		6.7	4.6	5.5	4.2	5.2	4.9	4.6

*No hay efecto de tratamientos, solo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra dentro de columnas para cada periodo de almacenamiento, son iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEMP: temperatura de almacenamiento. FT: Fenoles totales CA: Capacidad antioxidante.

Superóxido dismutasa

En las plantas, los factores externos como la temperatura, humedad, luz, patógenos y lesiones, inducen estrés oxidativo debido a un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno. Para que las plantas se desintoxiquen de las especies reactivas de oxígeno dependen de la enzima superóxido dismutasa (Huang *et al.*, 2007). En este trabajo se encontró que el tratamiento a 0 °C presentó estadísticamente la mayor actividad de superóxido dismutasa (Cuadro 2). Sin embargo, a los 6 dda no se observaron diferencias

estadísticas entre los tratamientos y a los 9 dda se observó que el tratamiento a 0°C presentó los valores más altos de SOD a diferencia de 6 y 23°C que fueron estadísticamente iguales. Posteriormente, a los 12 y 15 dda, la mayor actividad enzimática se obtuvo de las muestras conservadas en refrigeración, situación que prevaleció hasta el último muestreo donde la mayor actividad se presentó en las hojas refrigeradas a 0 °C, lo que pudo ocurrir debido a que las bajas temperaturas pueden conferir protección contra un posible daño a la membrana celular, situación que concuerda con Cuadra-Crespo y del Amor (2010) y Oliveira *et al.* (2011), quienes al evaluar la actividad de la SOD en pimientos verdes y acerola, almacenados a bajas temperaturas y alta humedad relativa, observaron un incremento en su actividad sin que se presentaran daños en la apariencia. Estos resultados también coinciden con los reportados por Martínez *et al.* (2013) quienes al almacenar menta durante 15 días, encontraron que a 6 y 10 °C la actividad de la superóxido dismutasa fue estadísticamente superior comparada con la que se mantuvo a 20 °C. 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 (Polata *et al.*, 2009), ya que constituyen la primera línea de defensa celular en contra de las especies reactivas de oxígeno (Ferreira *et al.*, 2012). Por su parte, el efecto del almacenamiento a bajas temperaturas se encuentra asociado a un incremento significativo de la actividad de la superóxido ismutasa y a la disminución del proceso de senescencia, por lo que, si esta enzima se encuentra activa, es

posible que puedan retardarse los daños causados por el envejecimiento de las plantas (Balois *et al.*, 2008).

Catalasa

La actividad de la catalasa (Cuadro 2) no presentó diferencias significativas ($\alpha=0,05$) a los 3 dda, lo que puede sugerir la estabilidad de la enzima al inicio del experimento; no obstante, a partir de éste período y hasta los 15 dda, los valores registrados de plantas refrigeradas (0 y 6 °C) fueron estadísticamente mayores a las del testigo (23 °C), donde la conservación a 0 °C fue la mayor particularmente a los 15 y 18 dda, ya que en las últimas evaluaciones las hojas refrigeradas presentaron el mismo comportamiento. Este incremento de catalasa probablemente ocurrió porque dicha enzima participa en el mecanismo de defensa contra del estrés por frío (Polata *et al.*, 2009). Estos resultados coinciden con Duarte *et al.* (2005) quienes al almacenar pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*) a diferentes temperaturas observaron un aumento de la actividad de la catalasa a la más baja temperatura probada, a diferencia de lo reportado, Balois *et al.* (2008) indicaron que en frutos de pithaya (*Hylocereus undatus*), la actividad de la catalasa no mostró una tendencia dependiente de la temperatura o tiempo de almacenamiento con frío y que la inhibición de la actividad de la catalasa fue revertida parcial o totalmente con el almacenamiento a 22 ± 1 °C. Así mismo, Oliveira *et al.* (2011) observaron en acerola que la actividad de la catalasa fue mínima independientemente de las diferentes temperaturas de almacenamiento. Lo anterior indica que el comportamiento de la catalasa puede ser dependiente de la especie, momento

fisiológico de cosecha y tiempo de almacenamiento, entre otros factores. La tendencia del incremento de la catalasa a los 21 días de evaluación, con respecto a los 15 dda sugiere que plantas senescentes la producción en forma natural de radicales libres en tejido que envejece, promueve una respuesta antioxidante, incrementando la actividad de catalasa (Duarte *et al.*, 2005).

Cuadro 2. Actividad de Superóxido dismutasa y Catalasa en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23°C.

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
SOD (U/mg/prot)								
	5.4*							
0		6.0a ^z	6.0a	3.8a	4.0a	5.6a	5.5a	5.8a
6		5.3b	5.9a	3.2b	3.9a	5.7a	5.0b	5.3b
23		5.2b	5.6a	3.4b	3.3b	4.2b	-	-
DMSH		0.9	0.8	0.7	0.7	0.8	0.7	0.8
CAT (U/mg /prot)								
	13.6							
0		14.1a	14.2a	14.0a	13.4a	11.5a	8.9a	11.8a
6		13.9a	12.6a	14.0a	11.3b	9.8b	9.6a	13.9a
23		13.2a	9.4b	10.4b	9.0c	9.9b	-	-
DMSH		1.7	1.5	1.7	1.5	1.4	1.3	2.1

*No hay efecto de tratamientos, solo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra, dentro de columnas y días de almacenamiento, son estadísticamente iguales (Tukey con $P \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEMP: Temperatura de almacenamiento, SOD: Superóxido dismutasa, CAT: Catalasa.

Peroxidasa

Es bien conocido, que la peroxidasa participa en la construcción y lignificación de la pared celular, en la biosíntesis de etileno y peróxido de hidrógeno, la regulación de niveles de auxina, así como en la protección contra el deterioro de tejidos e infección por microorganismos patógenos.

Los resultados del presente estudio muestran que a los 3 dda se presentaron diferencias estadísticas entre los tres tratamientos empleados (Cuadro 3), registrándose la mayor actividad de la peroxidasa a 0 °C (con un valor de 39.0 U / mg / prot). Estos resultados coinciden con Martínez *et al.*, 2013 quienes encontraron que en menta almacenada por 15 días, la actividad de la peroxidasa fue más alta a 6 y 10 °C que a 20 °C. En este sentido, el incremento de la peroxidasa a bajas temperaturas es considerado una consecuencia de la capacidad del sistema para retrasar la senescencia, ya que se encarga de catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno (Balouchi *et al.*, 2011). A partir de los 6 dda y hasta los 15 dda, las muestras almacenadas a 23°C presentaron estadísticamente la mayor actividad de la peroxidasa, incrementos que 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 peroxidasa al citoplasma, incrementando su actividad (Able *et al.*, 2005). En cuanto a los 18 y 21 días de almacenamiento a 0 °C se presentó un aumento significativo de la actividad de la POD. Estos resultados coinciden con lo reportado por Balouchi *et al.* (2011) quienes al almacenar floretes de brócoli por 40 días, observaron que en los últimos días de evaluación, la baja temperatura (0 °C) produjo un aumento significativo en la actividad de la enzima.

Polifenoloxidasas

En este trabajo se observó que a los 3 dda el tratamiento a 23 °C, mostró la mayor actividad de la polifenol oxidasa (Cuadro3), en comparación con los tratamientos a 0 y 6 °C, los cuales presentaron actividades estadísticamente similares. A los 12 dda se presentó un comportamiento similar, aunque los tratamientos a 6 y 23 °C fueron estadísticamente superiores comparados al de 0 °C. Al respecto, Hassanpour *et al.* (2012), mencionan que la polifenol oxidasa se encuentra localizada exclusivamente en plastidios y es liberada al citosol como consecuencia de daños o del proceso de senescencia que está relacionado con la respiración de la planta y que se acelera con las altas temperaturas, generando productos de degradación, que aumentan la concentración de sustratos provocando coloraciones oscuras en las hojas (De Almeida, 2006). Los resultados a los 6, 9 y 15 dda indican que la mayor actividad de la polifenol oxidasa fue obtenida en la salvia almacenada a 23 °C, efecto similar a lo reportado por Martínez *et al.* (2013) quienes al almacenar menta indican que a altas temperaturas, la actividad de la polifenol oxidasa se incrementa rápidamente, por lo que puede existir una correlación directa entre la enzima y el aumento de la temperatura. A los 18 dda se presentó una disminución de la polifenol oxidasa por efecto de la baja temperatura, la cual fue significativa a los 21 dda, donde el almacenamiento a 0 °C promovió la menor actividad de la enzima. Este resultado coincide con López *et al.* (2014) quienes al almacenar albahaca observaron que la actividad de la polifenol oxidasa disminuyó después de un periodo de 16 días de almacenamiento. En este

sentido, cuando los tejidos vegetales son estresados por factores como el frío, ocurren cambios en la intensidad respiratoria, acumulación de compuestos fenólicos y variaciones en la actividad de la polifenol oxidasa.

Cuadro 3. Actividad de Peroxidasa y Polifenol oxidasa en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 Y 23 °C.

TEMP (°C)	Días de almacenamiento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
POD (U/mg/ prot)								
	27.3*							
0		39.0a ^z	28.5ab	25.2b	33.1b	33.2b	46.9a	76.2a
6		30.3b	23.0b	16.8c	34.4b	34.3b	35.9b	40.4b
23		19.6c	32.8a	34.9a	40.0a	39.9a	-	-
DMSH		8.1	6.9	6.9	6.3	5.0	7.2	5.4
PFO (U/mg/prot)								
	15.4							
0		13.7b	19.8b	20.6b	18.9b	13.4c	16.7a	17.3b
6		14.3b	10.9c	13.1c	27.1a	24.3b	20.7a	20.7a
23		21.3a	24.8a	27.9a	26.3a	28.5a	-	-
DMSH		3.4	4.5	4.8	3.9	2.9	4.2	2.9

*No hay efecto de tratamientos, solo se reporta la media como referencia.

^zMedias con la misma letra, dentro de columnas y días de almacenamiento, son estadísticamente iguales (Tukey con $P \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEMP: Temperatura de almacenamiento, PE: Peroxidasa, PPO: Polifenoloxidasa.

3.6 CONCLUSIONES

El contenido de fenoles totales, la capacidad antioxidante, y la actividad enzimática de la peroxidasa y polifenol oxidasa fueron afectadas durante el almacenamiento a 6 °C. La actividad de la catalasa y superóxido dismutasa a 0

°C, fue mayor en comparación con 6 y 23 °C; aunque a partir de los 18 días de almacenamiento fue en decremento. Se sugiere almacenar las plantas de salvia a 0 °C para disminuir la activación de los sistemas enzimáticos oxidativos.

3.7 LITERATURA CITADA

ALIA, T.I.; COLINAS, L.M.T.; MARTÍNEZ, D.M.T.; SOTO, H.M.R. 2005. Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) II: Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. Revista Fitotecnia Mexicana, 28:25-32.

ABLE, A.J.; WONG, L.S.; PRASAD, A.; OHARE, T.J. 2005. The physiology of senescence in detached pakchoy leaves (*Brassica rapa* var. *chinensis*) during storage at different temperatures. Postharvest Biology and Technology, 35:271–278.

BALOIS, M.R.; COLINAS, L.M.T.; PEÑA, V.C.B.; CHÁVEZ, F.S.H.; ALIA, T.I. 2008. Sistema enzimático antisenescencia catalasa-superóxido dismutasa, de frutas de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados en frío. Revista Chapingo Serie Horticultura, v.14, p.295-299.

BALOUCHI, Z.; PEYVAST, G.A.; GHASEMNEZHAD, M.; SAADATIAN, M. 2011. Changes of antioxidant compounds of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) during storage at low and high temperatures. South west J Hortic Biol Environ, 2:193-212.

BAILEY, S.J.; MITTLER, R. 2006. The Roles of Reactive Oxygen Species in Plant Cells. Plant Physiology, 141:308-311.

BEYER, F.W.; FRIDOVICH, I. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Analytical Biochemistry, 161:559-566.

BICHRA, M.; MODAFA, E.C.; ABBASSI, E.A.; BOUAMAMA, H.; BENKHALTI, F. 2013. Antioxidant activities and phenolic profile of six moroccan selected herbs. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 2:2320-2338.

BLACKWELL, R.D.; MURRAY, A.J.S.; LEA, P.J. 1990. Enzymes of photorespiratory carbon pathway. En: LEA, P.J. (Ed.) *Methods in plant biochemistry*. Academic Press. USA, pp. 129-144.

CUADRA, C.P; AMOR, M.F.DEL. 2010. Effects of postharvest treatments on fruit quality of sweet pepper at low temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90:2716-2722.

DE ALMEIDA, T.; DURIGAN, J.F.; MATTIU, B.H.; ALVES, R.; O'HARE, T.J. 2006. Cultivar affects browning susceptibility of freshly cut star fruit slices. *Sci. Agric. Piracicaba, Braz*, 63:1-4.

DUARTE B.L. E.; CASTRO R.J.A.; NARVÁEZ C.C.E. 2005. Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana*, 10:49-59.

ERDEMOGLU, N.; TURAN, N.N.; CAKICI, I.; SENER, B.; AYDIN, A. 2006. Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts. *Phytotherapy Research*, 20:9-13.

FERREIRA S.S.L.; VOIGT, E.; SILVA, E.N.; MAIA, J.M.; ARAGÃO, T.C.R.; SILVEIRA, J.A.G. 2012. Partial oxidative protection by enzymatic and non-enzymatic components an cashew under high salinity. *Biologia Plantarum*, 56:172-176.

FLURKEY, W.H.; JEN, J. 1978. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science*, 43:1828-1831.

GIANNOPOLITIES, C.N; RIES, S.K. 1977. Superoxide dismutases. *Plant Physiology*, 59:309-314.

- GONZÁLEZ, A. G. A.; QUIRÓS, S.A.E.; PALAFOX, H.; ROBLES, S.R.M. 2011. Phenolic compounds and dietary fiber interaction: antioxidant capacity and bioavailability. *BIOTecnia*, 13:3-11.
- HASSANPOUR, H.; KHAVARI N, N.A.; NIKMAN, V.; NAJAFI, F.; RAZAVI, K. 2012. Effects of penconazole and water deficit stress on physiological and antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulgium* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 34:1537-1549.
- HUANG, R.; XIA, R.; HU, L.; LU, Y.; WANG, M. 2007. Antioxidant activity and oxygen-scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Sci. Hortic*, 113:166-172.
- KEVERS, C.; FALKOWSKI, M.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J.O.; DOMMES, J.; PINCEMAIL, J. 2007. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *J Agric Food Chem*, 55:8596-603.
- KIRCA, A.; ARSLAN, E. 2008. Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *International Journal of Food Science and Technology*, 43:2038-2046.
- LAMINKANRA, O. 1995. Enzymatic browning of muscadine grapes products. En: LEE, C.L; WHITAKER, J.R. (Eds.). *Enzymatic browning and its prevention*. ACS. Washington DC, USA, pp. 166-177.
- LÓPEZ, B.E.; MARTÍNEZ, D.M.T.; COLINAS, L.M.T.; BAUTISTA, B.C.; MARTÍNEZ, S.J.; RODRÍGUEZ, P.J.E. 2014. Actividad antioxidante y enzimática de albahaca 'nufar' (*Ocimum basilicum* L.) almacenada en refrigeración. *Agronomía Mesoamericana*, 25:255-265.
- MARTÍNEZ, D.M.T.; CRUZ, Á.O.; COLINAS, L.M.T.B.; RODRÍGUEZ, P.J.E.; RAMÍREZ, R. S. P. 2013. Actividad enzimática y capacidad antioxidante en menta (*Mentha piperita* L.) almacenada bajo refrigeración. *Agronomía Mesoamericana*, 24:57-69.
- MATHIVENTHAN, U.; SIVAKANESAN, R. 2013. Total phenolic content and total antioxidant activity of sixteen commonly consumed green leafy vegetables

stored under different conditions. European International Journal of Science and Technology, 2:123-132.

MELERO, R.F.; MORÉ, E.; CRISTOBAL, R. 2009. Cultivo de plantas aromáticas, medicinales y condimentarias en Cataluña. Centro Tecnológico Forestal de Cataluña, España, 80 p.

NICKAVAR, B.; ALINAGHI, A.; KAMALINEJAD, M. 2008. Evaluation of the antioxidant properties of five mentha species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 7:203- 209.

OLIVEIRA, S.L.; RUFINO, M.S.; MARIA, M.H.F; CAVALCANTI, C.R. F.; ALVES, E. R.; MIRANDA, R.A. M. 2011. The influence of processing and long-term storage on the antioxidant metabolism of acerola (*Malpighia emarginata*) purée. Braz. J. Plant Physiol, 23:151-160.

OUESLATI, S.; KARRAY, B.N.; ATTIA, H.; RABHI, M.; KSOURI, R.; LACHAL, M. 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulgium* (Pennyroyal) to salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 32:289-296.

OZGEN, M.; REESE, N.R.; TULIO, Jr.Z.A.; SCHEERENS, C.J.; 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, 54:1151-1157,

PATTHAMAKANOKPORN, O.; PUWASTIEN, P.; NITITHAMYONG, A.; SIRICHAKWAL, P.P. 2008. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. Journal of Food Composition and Analysis, 21:241-248.

PIZZALE, L.; BORTOLOMEAZZI, R.; VICHI, S.; BEREGGER, E.; LANFRANCO C. S. 2005. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*ORIGANUM ONITES* and *O. indurcedens*) extracts related to their

phenolic compound content. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82, :1645-1651.

POLATA, H.; WILINISKA, A.; BRYJAK, J.; POLAKOVIC, M. 2009. Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. Journal of Food Engineering, 91:387-391.

RODRÍGUEZ, C.N.; PEDRAZA C.J. 2005. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. Educación Química, 17:164-173.

RODRÍGUEZ, V.M.J.; TOMASSINI, S.L.R.; MANCADE, N.M.C.; STRASSER DE S.A.M. 2010. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. Food Control, 21:779-785.

SAS.SAS/STAT users guide: Statics, Ver. 9.00. 2002. SAS Institute Inc. Cary, North Caroline, USA.

STAUFFER, C.E. 1989. Enzyme assays for food scientists. Van Nostrand Reinhold. USA, 317 p.

WATERMAN, P.G.; MOLE, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 238 p.

YANISHLIEVA, N.V.; MARINOVA, E.; POKORNY, J. 2006. Natural antioxidant from herbs and spices. European Journal Lipids Science Technology, 108:776-793.

CAPITULO 4.

**EL USO MEDICINAL, LA ACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES, EXTRACTOS
Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE SALVIA EN FRESCO**

**THE MEDICINAL USE, THE ACTION OF ESSENTIAL OILS, EXTRACTS AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY IN FRESH SAGE**

4.1 RESUMEN

Esta revisión se enfoca la evolución de los estudios del uso medicinal de salvia, la obtención de aceites esenciales y extractos naturales desde los inicios del año 2000. Se presentan los principales hallazgos relacionados con la evaluación *in vitro* e *in vivo* de salvia con fines terapéuticos, el efecto antifúngico y antimicrobiano de los aceites esenciales y de los extractos. Los avances recientes en la actividad antioxidante y su relación con los compuestos fenólicos son reportados.

Palabras clave: *Salvia officinalis* L., uso medicinal, aceites esenciales, antioxidantes.

4.2 ABSTRACT

This review focuses the evolution of studies medicinal use of sage, production of essential oils and natural extracts from the beginning of 2000. The main findings related to the *in vitro* and *in vivo* evaluation of sage are presented for therapeutic purposes, the antifungal effect and antimicrobial essential oils and extracts. Recent advances in antioxidant activity and its relationship with phenolic compounds are reported.

Keywords: *Salvia officinalis* L., medicinal use, essential oils, antioxidants.

4.3 INTRODUCCIÓN

El estudio de salvia como herramienta eficaz del control de enfermedades y como componente importante de la dieta humana, ha tenido gran relevancia dentro de la medicina tradicional y en el campo de la fisiología vegetal, debido a la generación de aceites esenciales y compuestos antioxidantes. Después de caracterizar a la salvia con el nombre genérico del latín “salvare” (salvar, salud) debido a las propiedades que se le atribuían por curar numerosas enfermedades (Mendiola y Montalbán, 2009), con el desarrollo de las técnicas científicas, se confirmaron muchas propiedades medicinales de esta planta, que hasta entonces solo se sospechaban (Marie, 2009). Para el siglo XIX se practicaron los primeros análisis químicos de esencias y otros principios activos de los vegetales y se desarrolló la investigación a escala mundial para conocer la composición química de las plantas, iniciando así la base de la industria farmacéutica, perfumera y condimentaria (Palacio, 2010). Recientemente, el uso de la salvia en fresco tanto en la investigación como en la cocina está cada vez más extendido (Mendiola y Montalbán, 2009). La salvia es una planta muy utilizada como condimento en la cocina mediterránea, incluyendo la cocina francesa, italiana y portuguesa. Su uso en los alimentos es muy benéfico, no sólo por el aroma y sabor que otorga a la comida, si no por sus propiedades digestivas. Las investigaciones realizadas recientemente permiten considerarla como una planta de suma importancia dado que la administración de los extractos naturales parece mejorar el rendimiento de la memoria en adultos mayores, mientras que la toma de forma continua puede atenuar el declive por

Alzheimer y la evaluación de la actividad antioxidante revela que es fuente de antioxidantes naturales. Es por ello, que el objetivo de este trabajo fue abordar los principales aspectos de la importancia económica, el uso medicinal, la obtención de aceites esenciales, extractos y actividad antioxidante de salvia en fresco.

4.4 IMPORTANCIA ECONÓMICA

La salvia forma parte de la familia Labiatae, misma a la que pertenecen varias plantas aromáticas como el romero, tomillo y menta; la especie (*officinalis*) hace referencia a sus propiedades medicinales. Es originaria del mediterráneo oriental; se cultiva para la industria alimentaria, cosmética y para la elaboración de licores. Constituye un cultivo con buen potencial económico, pudiendo acceder a mercados como Estados Unidos de América y la Unión Europea (Coronado y Ugas, 2006). El principal origen de la salvia que se importa a Estados Unidos es albanés, ya que este país concentró el 58 % del valor importado en 2010, siguen en importancia Turquía con el 27 %, Croacia con 10 % y México con 4 % (Sheng-Ji, 2006). Existe gran demanda en el mercado de exportación, especialmente el norteamericano, donde México es uno de los principales proveedores de esta especie aromática.

Según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA-SIAP, 2013), son tres los estados de la república mexicana los que producen

salvia para exportación, entre ellos se encuentran: Baja California Sur, Puebla y Morelos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cierre de la producción agrícola de salvia (2013)

Estado	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)	Valor de producción (mdp)
Baja California Sur	31.50	31.50	100.75	3.20	1,473.05
Puebla	5.00	5.00	10.00	2.00	95,02
Morelos	2.00	2.00	8.00	1.00	73,02
Total	38.50	38.50	118.75	6.20	\$1,641.09

Fuente: SIAP, 2013

A gran escala el aceite esencial se utiliza en la industria farmacéutica, alimentaria, perfumera y cosmética. Las hojas frescas son apreciadas en los restaurantes gourmet por el realce de sabor en marinados, estofados, rellenos y embutidos, ya que perfuman muy bien carnes blancas y pescados grasos (Marie, 2009). En el sector alimentario la comercialización de salvia ha aumentado considerablemente, ya que para el año 2000 solo se tenía una producción por ha de 28.96 ton, que para el 2013 aumentó a 110.75 ton, es decir casi en un 80 %, lo cual ha se ve reflejado en el incremento del valor de producción. Aunado a esto el que la planta en fresco, sea presentada al mercado en bolsas y/o cajas de plástico etiquetadas, ha traído consigo un aumento en el consumo. En el sector medicinal, se comercializa hoja seca entera o pulverizada, extractos y aceite esencial. Para la industria perfumera, se

distribuye el aceite esencial, cremas corporales, desodorantes o agua de colonia (Palacio, 2010).

4.4.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La salvia es un arbusto que puede alcanzar 70 cm de altura (Fig. 1), muy ramificado y aromático, erguido, con las ramas extendidas y tomentosas (Mendiola y Montalbán, 2009). Los tallos son erectos, leñosos en la base y herbáceos en la punta. Presentan nudos salientes sobre los cuales se insertan las hojas (Pierre y Gallouin, 2007). Las hojas son pecioladas, enteras, oblongas, más o menos estrechadas en la base, rugosas, verdosas por el haz y pubescentes blanquecinas por el envés, con el borde finamente dentellado, con la nervadura nítidamente marcada (Mendiola y Montalbán, 2009). Miden aproximadamente 2 cm de ancho y de 5 a 10 cm de largo. La epidermis contiene numerosos pelos secretorios. El olor de la esencia, localizada bajo la cutícula, se desprende por simple frotamiento. Las hojas más jóvenes son las más aromáticas (Pierre y Gallouin, 2007). Tiene flores agrupadas en 2 a 4 y rara vez en 6 a 10 verticilos, dispuestos en espigas terminales, cáliz pubescente y glandular. Corola de 2 a 3 veces más larga que el cáliz, de hasta 35 mm de longitud, con anillo peloso dentro del tubo, de color azul-violáceo, a veces blanco o rosáceo. Los frutos son aquenios ovoideos (Mendiola y Montalbán, 2009). Permanecen largo tiempo en el fondo del cáliz y se separan en la madurez (Pierre y Gallouin, 2007).



Figura 1. Planta de salvia en las etapas de desarrollo y floración (Fuente: <http://www.gyogyulasutjai.hu/> y www.jardineria.pro/plantas/salvia).

4.4.2 COMPOSICIÓN QUIMICA

La salvia presenta una composición química compleja con abundantes metabolitos de naturaleza terpénica: monoterpenos y sesquiterpenos constitutivos de sus aceites esenciales, diterpenos (carnosol, rosmanol, epirosmanol, ácido carnósico) y triterpenos derivados del ursano y oleanano. Además posee abundantes compuestos fenólicos: flavonoides con sustituyentes sobre el C-6 y ácidos fenólicos, principalmente ácido rosmarínico. Contiene aceite esencial (0.8-2.5 %), taninos condensados (3-7 %, salviatanino), ácidos fenólicos (rosmarínico, cafeico, clorogénico, ferúlico, etc.), flavonoides (1-3 %, luteolina, apigenina, genkwanina, hispidulina, cirsimarina, 5,6,7-4'-tetrametoxiflavona [5-O-metilsalvigenina], nepetina, cirsiol y sus

heterósidos), D-glucósidos de timol, mentol y tuyol, diterpenos (carnosol, ácido carnósico y rosmanol), triterpenos (α - amirina y β -amirina, betulina y ácidos ursólico y oleanólico y sus derivados hidroxilados), fitosteroles (β -sitosterol, estigmasterol) (Newman, 2013; Reinhard, 2012). Los componentes mayoritarios del aceite esencial (Cuadro 2), cuyo contenido mínimo no debe ser inferior al 1.5 % (V/m), son por lo general cetonas monoterpénicas bicíclicas: α -tuyona, y en menor proporción, β -tuyona. Además contiene alcanfor, 1,8-cineol y borneol libre y esterificado.

Cuadro 2. Composición química del aceite esencial de *Salvia officinalis*.

Porcentaje (%)	salvia
α -tuyona	18-43
β -tuyona	3-8,5
alcanfor	4,5-24,5
1,8-cineol	5,5-13
humuleno	0-12
α -pineno	1-6,5
canfeno	1,5-7
limoneno	0,5-3
linalol	<1
acetato de bornilo	<2,5

Fuente: Ortega y Carretero, 2012

Sin embargo, la composición de este aceite esencial varía considerablemente según el órgano vegetal utilizado en la extracción y la estación del año en que se haya recolectado. Por ejemplo, en estudios realizados sobre distintos cultivos de *Salvia officinalis* se ha comprobado que entre diciembre y abril

desciende significativamente la concentración de monoterpenos oxigenados (α-tuyona y alcanfor) y aumenta el porcentaje de hidrocarburos monoterpénicos (α-pineno y β-pineno y canfeno) (Santos y Fernádes, 2007).

4.4.3 USO MEDICINAL

A la *Salvia officinalis* le han sido atribuidas numerosas actividades farmacológicas en la medicina tradicional; sin embargo, sólo algunas han sido validadas científicamente. Las hojas manifiestan actividad antibacteriana, fungistática y virostática. Es además astringente e inhibidora de la sudoración. Estudios realizados en animales de experimentación (cobayos) han demostrado la actividad espasmolítica del aceite esencial, parece ser que el efecto se debe a la presencia de alcanfor y acetato de bornilo. Por otra parte, el extracto hidroalcohólico es capaz de inhibir las contracciones inducidas por serotonina y acetilcolina, que se debe al efecto a los compuestos fenólicos (Newall, 2006). Relacionado con esta actividad relajante de musculatura lisa intestinal hay que destacar el trabajo de Todorov *et al.* (2007), que demuestra la actividad hipotensora en gatos del extracto hidro-alcohólico de esta planta, ya que tanto esta especie como *Salvia triloba* son capaces de inhibir las contracciones inducidas por acetilcolina, histamina, serotonina y BaCl₂. También se ha comprobado en animales de experimentación la actividad antiinflamatoria; la aplicación tópica de los extractos hexánico y clorofórmico redujo significativamente el edema inducido por aceite de crotón en oreja de ratón y resultan inactivos tanto el extracto metanólico como el aceite esencial. Esta actividad antiinflamatoria parece estar relacionada con la presencia en los

extractos de componentes triterpénicos como el ácido ursólico (Baricevic *et al.*, 2007). La presencia de un elevado número de compuestos terpénicos le confiere una importante actividad antiséptica.

Sus efectos sobre la transpiración se pusieron de manifiesto mediante un ensayo realizado en Alemania sobre ocho pacientes con hiperhidrosis. El tratamiento con extracto seco e infusión (equivalentes a 2.5 g y 4.5 g de hoja seca respectivamente) redujeron la sudoración de forma significativa (< 50 %) (Blumenthal *et al.*, 2008).

La salvia ha demostrado también poseer gran utilidad en el tratamiento de algunos síntomas de la menopausia, como son los sofocos o la sudoración, al disminuir estos síntomas. En un ensayo clínico realizado con 30 mujeres menopáusicas a las que se administró un preparado que contenía extractos de alfalfa y salvia, se comprobó una disminución de los síntomas (sofocos), a la que parece añadirse una ligera actividad antidopaminérgica central (De Leo *et al.*, 2008). El extracto de salvia también puede utilizarse como medio de transporte para mantener vivas las células del ligamento periodontal, ya que posee actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante, esta última propiedad atribuida a sus componentes (Ozan *et al.*, 2008).

Por su parte, el uso *in vitro* utilizando aceites esenciales de *S. officinalis*, permite comprobar las propiedades antimicrobianas sobre *Escherichia coli*, *Salmonella typha*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella sonei*, además se demostró su actividad antifúngica y antioxidante (Bozin *et al.*, 2007).

Algunos compuestos activos de salvia como el ácido oleico y otros triterpenoides presentan una alta actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Serratia marcescens*. Por su parte el carnosol, no posee este tipo de actividad pero puede potenciar a los aminoglucósidos que atacan microorganismos patógenos (Muttalib y Aqishbandi, 2012).

En general, los experimentos enfocados a conocer los efectos de la salvia en la salud han sido herramientas valiosas en la dilucidación de las propiedades curativas de esta planta, ya que puede ser utilizada en la práctica clínica para disminuir el índice de gingivitis en adultos, mediante una pasta espesa que se obtiene de la maceración de las hojas (Valenzuela *et al.*, 2011). Algunos estudios *in vitro* sugieren que el ácido betaursólico aislado de salvia tiene acción antitumoral, así como un efecto antimicrobiano frente a diversos tipos de patógenos transmitidos por alimentos como *klebsiella*, *enterobacter*, *escherichia coli*, *salmonella typhi*, *shigella sonei*, *proteus mirabilis* y *morganella*, antiviral contra herpes (López *et al.*, 2013). Otros compuestos como el borneol y el ácido ursólico extraídos de la salvia tienen un efecto antiinflamatorio mayor. Por otro lado, se le atribuye al ácido rosmarínico incrementar la retención de la memoria, ya que en Irán se hizo un estudio con un grupo de personas con Alzheimer moderado, en donde todos los pacientes mostraron mejorías después de 16 semanas de administrárseles el extracto natural de salvia (Davut y Özgüven, 2011). Las flores de salvia también son valiosas, es por ello que se han obtenido comprimidos que muestran un efecto regulador de la tensión arterial, es activador de la circulación y ayuda a combatir la cicatrización insuficiente

(López *et al.*, 2013). Estos hallazgos en la investigación médica han permitido establecer que el uso de salvia en sus distintas presentaciones (infusiones, pomadas, pastas y pastillas), permite tener un efecto benéfico a largo plazo para la salud.

4.4.4 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales (AE) son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, cuando se activan mecanismos de defensa como respuesta a factores ambientales y ecológicos, estos presentan roles de defensa, atracción de polinizadores, entre otros. Son inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides. Son inocuos, mientras la dosis suministrada no supere los límites de toxicidad. Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, generando oligómeros de naturaleza indeterminada (Saldarriaga *et al.*, 2010). Se encuentran ampliamente distribuidos en diferentes partes de la planta: en las hojas, raíces, en las semillas, en el tallo y en las flores.

Los AE constituyen mezclas multicompuestas de mono, diterpenoides o derivados de fenilpropano (fenoles). Químicamente, pueden ser hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y éteres. Algunos aceites esenciales contienen un gran número de compuestos; sin embargo, por lo general un único compuesto es el responsable de su sabor y de la actividad farmacológica. El porcentaje de componente individual en el aceite esencial es variable y depende de factores genéticos y ambientales (Shen-Ji, 2006).

Las diferencias en la evaluación cualitativa y cuantitativa de la composición del aceite esencial es causada por el procedimiento de extracción (Newman, 2013). El método más utilizado para los aceites esenciales de extracción es hidrodestilación, mientras que las técnicas más modernas se realizan en fase sólida, entre ellas se encuentran la micro extracción (SPME) y la extracción asistida por microondas (MAE) (Bozin *et al.*, 2013).

El aceite esencial de salvia tiene actividad antimicrobiana sobre microorganismos transmitidos por alimentos con alto potencial patogénico en humanos, debido al amplio espectro de inhibición sobre microorganismos Gram positivos y Gram negativos (Saldarriaga *et al.*, 2010), por lo que puede ser utilizado para mejorar la inocuidad y tiempo de vida útil de productos alimenticios. La cantidad de aceite esencial en esta planta incrementa cuando en el terreno de cultivo se bioinoculan rizobacterias como *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens*, ya que éstas actúan como fertilizantes permitiendo alcanzar mayor peso y longitud de la planta, lo cual ocasiona un aumento en la relación hojas/planta hasta en 100 %, promoviéndose en 65 % la producción de aceites esenciales (Kannan y Ponmurugan, 2010).

El aceite esencial de salvia tiene actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, logrando un efecto bactericida mayor que el de los conservadores químicos convencionales utilizados en la industria de alimentos, así que los aceites esenciales pueden convertirse en una excelente alternativa para mejorar la inocuidad y el tiempo de vida útil de los alimentos, teniendo en

cuenta la baja actividad de conservantes químicos como: ácido ascórbico, ácido benzoico, benzoato de sodio y sorbato de potasio y nisina, evaluados sobre este tipo de microorganismos; por lo que permiten dar respuesta a las necesidades de la industria alimentaria en lo referente al uso de conservadores de origen natural y sin riesgo para la salud de los consumidores (López *et al.*, 2013).

Los aceites esenciales obtenidos mediante hidro-destilación de hojas de salvia en concentraciones de 0.5 % y 1 %, dan lugar a la reducción en la viabilidad superior a 5 y 4 unidades (log/ml) para bacterias estándar y hongos presentes en los alimentos, dentro de un tiempo de contacto de 5 min y mediante el uso de un aspersor de aire y un dispensador de aroma de AE se puede reducir el recuento microbiano total después de una residencia de 1, 6 y 24 h. Esto apoya el uso del aceite esencial de salvia como desinfectante ecológico para gestionar los microbios transportados por el aire (Baricevic *et al.*, 2009). De este modo el AE de salvia puede ser un recurso valioso a nivel mundial para los agricultores que exportan esta aromática, debido a que los aceites esenciales de esta planta son mezclas complejas que pueden poseer actividades antioxidantes y anti-inflamatorias de interés en las industrias alimentaria y cosmética, así como en el campo de la salud humana.

4.4.5 EXTRACTOS NATURALES

Los extractos de salvia se utilizan desde la antigüedad para la cura de múltiples enfermedades. Se obtienen mediante la separación de porciones

biológicamente activas presentes en los tejidos de la planta, con el uso de un solvente (alcohol, agua o la mezcla de estos u otro solvente selectivo) y un proceso de extracción adecuado. Para la industria farmacéutica la salvia es una fuente de nuevas moléculas que permiten obtener productos farmacéuticos con menores efectos secundarios que satisfacen las necesidades crecientes del uso de productos naturales. Los extractos acuosos son antisépticos y además poseen actividad antioxidante debido a los ácidos fenólicos libres que contienen, especialmente el ácido rosmarínico que ha mostrado una capacidad antioxidante similar al ácido ascórbico (Wang *et al.*, 2008).

Los extractos de etanol a partir de hojas de salvia muestran diferentes efectos antifúngicos contra las células de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*). La mayor capacidad inhibidora de crecimiento se ha encontrado en los extractos obtenidos con etanol al 90 %, que bajo estas condiciones las células de la levadura son más susceptibles a daños metabólicos o estructurales (Farcasanu y Oprea, 2006).

A partir de extractos de salvia obtenidos mediante las técnicas de maceración clásica y ultrasónica, es posible conseguir cantidades considerables de flavonoides por lo que esta planta puede ser utilizada a nivel industrial para conseguir un gran número de estos metabolitos secundarios (Dragan *et al.*, 2007). Por otro lado, mediante destilación es posible detectar varios compuestos químicos a partir del extracto de las hojas frescas de salvia, los cuales tienen efecto inhibitorio en suspensiones de bacterias gram positivas y gram negativas, entre ellas *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Escherichia coli* y

Shigella sonnei, ya que no permitieron que crecieran halos de bacterias en medio de cultivo después de 24 horas (López *et al.*, 2013).

El extracto acuoso tomado de las partes aéreas de salvia (en concentraciones de 6, 12, 25 y 50 %) y agua destilada (testigo) tiene un fuerte efecto alopático sobre la germinación de semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) y verdolaga (*Portulaca oleracea*), de tal manera que la comparación entre tratamientos indica que la reducción del porcentaje de germinación de semillas ocurre en el extracto al 5 % en comparación con el control, por lo que a mayor porcentaje de extracto se tiene una mayor germinación de semillas (Bajalan *et al.*, 2013).

4.4.6 ANTIOXIDANTES

Las reacciones de oxidación observados en los productos alimenticios, aunque no sean catalizadas por enzimas, con frecuencia interfieren sus cualidades nutricionales y organolépticas. Operaciones de procesamiento tales como pelar, cortar y triturar inducen pardeamiento enzimático y aceleran la síntesis de etileno, la respiración, el ablandamiento y la contaminación microbiana, por consiguiente, disminuye la calidad nutricional y la seguridad de los alimentos debido a la formación de compuestos secundarios, potencialmente tóxicos (Newman *et al.*, 2018). Recientemente, varios antioxidantes sintéticos se han utilizado para reducir el deterioro de los alimentos como son los suplementos alimenticios. Sin embargo, se ha demostrado que ejercen varios efectos nocivos en los seres humanos. Por lo tanto, hay una gran demanda de los consumidores de la sustitución de los antioxidantes sintéticos mediante el uso de agentes oxidantes naturales. Es por ello, que la salvia es considerada como

una fuente potencial de antioxidantes naturales debido a su riqueza en compuestos fenólicos y marcada actividad antioxidante (Bichra *et al.*, 2013). En este sentido, el extracto etanólico de salvia (400 mg/g) aplicado en muestras de mayonesa almacenadas permitió tener un efecto antioxidante excelente en la estabilidad de mayonesa, ya que disminuyó el porcentaje de peróxidos y de malonaldehidos después del periodo de almacenamiento, por lo que el extracto de salvia puede ser utilizado como antioxidante natural en la industria alimentaria (Newman *et al.*, 2013).

Los extractos de salvia combinados con diferentes solventes y ultrafiltrados con miliporo, son eficaces en cuanto al flujo y el grado de retención de compuestos bioactivos, lo cual provoca una alta actividad antioxidante que está directamente relacionada con los compuestos fenólicos, lo que permite contribuir con la actividad de captación de radicales libres, por lo que se puede considerar como un recurso para algunas aplicaciones en la medicina tradicional (Paun *et al.*, 2009).

En los últimos años, los extractos de salvia han aparecido en el mercado como antioxidantes para la industria alimentaria. En particular, la familia Labiatae a la que pertenece esta planta es bien conocida por sus propiedades antioxidantes. Es por ello que, los extractos metanólicos de salvia analizados mediante HPLC muestran que esta aromática tiene una alta actividad antioxidante debido a la gran cantidad de compuestos fenólicos como son el ácido carnósico, carnosol y carnosato de metilo (Pizzale *et al.*, 2012).

La salvia ha sido utilizada en la medicina tradicional por sus propiedades antioxidantes y es considerada una planta quimiopreventiva, ya que el uso del extracto acuoso en animales de experimentación (ratas albinas Wistar) ha permitido evaluar su efecto ante el estrés oxidativo y la genotoxicidad, al dosificar a las ratas oralmente con el extracto (50, 100 y 150 mg / kg de peso corporal) durante 7 días antes de la administración de una sola dosis intraperitoneal de ciclofosfamida (CYP) (40 mg / kg de peso corporal). De esta manera, se reveló que todas las dosis del extracto probado presentan actividad genotóxica; además, las dosis más altas restauran los marcadores de estrés oxidativo en ratas tratadas con CYP. En relación con estos hallazgos, el extracto de la planta exhibió alta capacidad antioxidante. Estos aspectos sugieren que el extracto metanólico de *Salvia officinalis* tiene una protección efectiva contra el estrés oxidativo inducido por el CYP y la genotoxicidad a través de su propiedad antioxidante (Üstün *et al.*, 2012).

4.5 CONCLUSIONES

Se han encontrado progresos recientes en el área de la medicina y fisiología vegetal, así como de los mecanismos de acción de los compuestos activos de plantas como la salvia, especialmente a partir del año 2000, cuando aparecen publicados estudios relacionados con el uso medicinal, el efecto de extractos y aceites esenciales desde el punto de vista biológico y como producto para combatir algunas enfermedades, así como su actividad antioxidante ante los procesos oxidativos no sólo en humanos sino en la planta. Sin embargo, aún los resultados son insuficientes para la comprensión a gran escala del papel de

todos los compuestos antes mencionados en la salvia. En particular, las limitaciones que se han encontrado hasta la fecha, en México, para conocer a fondo el potencial para combatir problemas crónicos en los humanos, animales y en algunos agentes patógenos como son bacterias y hongos presentes en otros productos, sugieren la necesidad de utilizar nuevas herramientas para la mejor caracterización, la realización de extractos con fines medicinales, el uso de aceites esenciales como control biológico de patógenos para prolongar la vida útil de alimentos y su efecto antioxidante en el sector salud.

4.6 LITERATURA CITADA

BARICEVIC D, SOSA S, DELLA-LOGGIA R, TUBARO A, SIMONOVSKA B, KRASNA A, ZUPANCIC A. 2009. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. J Ethnopharmacol. 75(2-3):125-32.

BAJALAN, I.; ZAND, M.; SHAHRAM, R. 2013. Allelopathic Effects of Aqueous Extract from *Salvia officinalis* L. on Seed Germination of Barley and Purslane. Intl J Agri Crop Sci. 5(7): 802-805.

BICHRA, M.; EL-MODAFAR, C.; EL-ABBASSI, A.; BOUAMAMA, H.; BENKHALTI, F. 2013. Antioxidant activities and phenolic profile of six moroccan selected herbs. Food Sciences. 2 (4): 2320-2338

BLUMENTHAL, M. 2008. The Complete German Commission E Monographs. Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Austin: American Botanical Council. 198 p.

BOZIN B, MIMICA-DUKIC N, SAMOJLIK I, JOVIN E. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*) essential oils. *J Agric Food Chem.* 55(19): 7879-7885.

DAVUT, K.; MENSURE, ÖZGÜVEN. 2011. Determination of qualitative and quantitative of Sage (*Salvia officinalis* L.) essential oils. *Pakistan journal of Biological Science*, 4(1): 41-43.

CORONADO, K.; UGAS, R. 2006. Estudio de la densidad de siembra y la altura de corte en el cultivo de salvia (*Salvia officinalis* L.) para la industria del liofilizado. Universidad Nacional Agraria La Molina. XIV Congreso Peruano de Horticultura. Perú. 20 p.

DE LEO, V; LANZETTA, D, CAZZAVACCA, R; MORGANTE, G. 2008. Treatment of neurovegetative menopausal symptoms with a phytotherapeutic agent. *Minerva Ginecol.* 50(5):207-11.

DRAGAN, T. V.; MILENA T. N.; IVANCHEVA, S.V.; STOJANOVI, J.B.; VELJKOVI, V.B. 2007. Extraction of flavonoids from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage by ultrasonic and classical maceration. *J. Serb. Chem. Soc.* 72 (1) 73–80.

KANNAN, T. y PONMURUGAN, P. 2010 Estudio sobre la influencia de la inoculación de las rizobacterias *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* sobre el desarrollo morfológico y el contenido de aceites esenciales en las especies aromáticas *Ocimum basilicum* var. Genovesse, *Ocimum basilicum* var. *mínimum*, *Petroselinum sativum* var. Lisa y *Salvia officinalis*. Plant Physiology. 2(6):8-13.

LÓPEZ, Á.L.M.; CASTAÑO, P.H.I.; MEJÍA, G.C.E. 2013. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Salvia officinalis* L. sobre microorganismos patógenos transmitidos por alimentos. *Actual Biol* 35 (98): 77-83.

MARIE, P. J. 2009. Cultivo de plantas aromáticas. Edit. Omega. Barcelona, España. 95 p.

MENDIOLA, U.M.A. y MONTALBÁN, M.J. 2009. Plantas aromáticas gastronómicas. Edit. Mundi-Prensa. Madrid, España. 91 p.

MUTTALIB, L.Y.; NAQISHBANDI, A. M. 2012. Antibacterial and Phytochemical Study of Iraqi *Salvia officinalis* Leave Extracts. *Iraqi J Pharm Sci*. 21(1):93-97.

NEWALL CA, ANDERSON LA, PHILLIPSON JD. 2006. Herbal Medicines. A Guide for Healthcare Professionals. London: The Pharmaceutical Press. pp. 231-232.

NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M., SNADER M. K. 2013. Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, 66:1022-1037.

ORTEGA, H.A.T.; CARRETERO, A. M. E.; VILLAR, F. Á.M. 2012. Salvia Fitoquímica, farmacología y terapéutica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. UCM. FARMACIA PROFESIONAL. 16 (7):60-63.

ÖZAN F, AKIN Z, TEPE B, ER K. 2008. Influence of storage media containing *Salvia officinalis* on survival of periodontal ligament cells. *The Journal of Contemporary Dental Practice (J Contemp Dent Pract)*. 9(5): 263-266

PAUN, G.R.; NEAGU, E. LUCIAN, R.G. 2009. antiradical activities of salvia officinalis and viscum album l. extracts concentrated by ultrafiltration process. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*. 8(3): 47-58.

PALACIO, G.L. 2010. Las plantas medicinales y aromáticas. Una alternativa de futuro para el desarrollo rural. Boletín económico del Centro de Asistencia Técnica e Inspección de Comercio Exterior (CATICE) No. 2652. Madrid, España. pp. 29-40.

PIERRE, A. M.; GALLOUIN, F. 2007. Especies aromatizantes y condimentos. Edit. Mundi-Prensa. Madrid, España. 413 p.

PIZZALE, L.; BORTOLOMEAZZI, R.; VICHI, S., BEREGGER, E.; CONTE, S. L.. 2012. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound content *J Sci Food Agric* 82:1645–1651.

REINHARD, MAX. 2012. Extracto de flores de *Salvia officinalis*, procedimiento para su preparacion y su uso. Convenio de Patentes Europeas. 133(2): 53-57.

SAGARPA, SIAP. 2013. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F.
www.siap.gob.mx/agricultura-produccion-anual/

SALDARRIAGA, C.L.F; SÁNCHEZ, M.M.G.; BONILLA, C.C.R.; SÁNCHEZ, O.M.S.; TORRES, C.H.G. 2010. Agroindustrial evaluation of essential oils of *Artemisia dracuncullos* L., *Franseria artemisioides* Wild., *Salvia officinalis* L., *Lippia dulcis* Frev., and *Occimum americanum* L. in conditions of the Cauca Valle. Acta Agronómica. 59 (3):293-302

SANTOS, P.C, FERNÁNDES, M. 2007. Organ and season-dependent variation in the essentialoil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. J AgricFood Chem. 49(6):2908-16.

SHENG-JI, P. 2006. Ethnobotanical approaches of traditional medicine studies: Some experiences from Asia. Pharmaceutical Biology, 39(1):74-79.

TODOROV S, PHILIANOS S, PETKOV V, HARVALA C, ZAMFIROVA R, OLIMPIOU H. 2007. Experimental pharmacological study of three species from genus *Salvia*. Acta Physiol Pharmacol Bulg. 10(2):13-20.

ÜSTÜN, A.F.; ESEN G.F. L.; ATE, A. Ş.; ÖZYÜREK, M.; GÜÇLÜ, K.; ALTUN, M. 2012. Protective effects of *Salvia officinalis* extract against cyclophosphamide-induced genotoxicity and oxidative stress in rats. Turk. J. Vet. Anim. Sci.; 36(6): 646-654

VALENZUELA MELGAREJO R, HILLERNS IBIETA C, NARVÁEZ CG 2011. Efectividad del uso tópico de *Salvia officinalis* en la disminución del índice

gingival en sujetos con gingivitis. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. 4(3):110-113.

WANG, M.F.; LI, J. G.; RANGARAJAN, M.; SHAO, Y.; LA VOIE, E. J.; HUANG, T. C.; Ho, C. T. 2008. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). J. Agr. Food Chem. 46:4869-4873.

5. CONCLUSIONES GENERALES

El almacenamiento bajo refrigeración permitió prolongar la vida poscosecha de la salvia. La refrigeración a 0°C fue la mejor, ya que preservó las características fisicoquímicas, fisiológicas, bioquímicas y sensoriales de la salvia por 15 días de almacenamiento; contrario al tratamiento a 23°C (temperatura ambiente) en donde la calidad de la planta sólo se mantuvo durante 6 días de almacenamiento. La capacidad antioxidante bajo refrigeración presentó un decremento después de que disminuyó el contenido de fenoles totales, esto sugiere que probablemente la capacidad antioxidante depende del contenido fenólico total, sin embargo, aumentó la actividad enzimática de la catalasa y disminuyó la actividad de la superóxido dismutasa. La actividad de la peroxidasa y de la polifenoloxidasas disminuyó durante el almacenamiento en refrigeración.

6. LITERATURA CITADA GENERAL

ARIVUCHELVAN, A.; MURUGESAN, S.; MEKALA, P. 2012. Antioxidant properties of *Ocimum sanctum* in broilers treated with high doses of gentamicin. Indian Journal of Drugs and Diseases 1(6): 143-146.

BAILEY, S.J.; MITTLER, R. 2006. The Roles of Reactive Oxygen Species in Plant Cells. Plant Physiology, 141: 308-311.

BALOUCI, Z.; PEYVAST, G.A.; GHASEMNEZHAD, M.; SAADATIAN, M. 2011. Changes of antioxidant compounds of broccoli (*Brassica oleracea* L.var. *italica*) during storage at low and high temperatures. South west J Hortic Biol Environ, 2:193-212.

CANET P., W.; ÁLVAREZ T., M. D. 2006. Quality and safety of frozen vegetables. In: WD. Sun. (ed.). Handbook of frozen food processing and packaging. Taylor & Francis Group. LLC. Florida, USA. pp. 377-410.

CANTWELL, M. I.; REID, M. 2007. Sistemas de manejo postcosecha: hierbas frescas, pp. 475-486. In: Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas.

FARCASANU I.C.; OPREA ELIZA. 2006. Ethanol extracts of *Salvia officinalis* exhibit antifungal properties against *Saccharomyces cerevisiae* cells. Analele Universităţii din Bucureşti - Chimie, Anul XV, 1: 51-55.

HASSANPOUR, H.; KHAVARI N, N.A.; NIKMAN, V.; NAJAFI, F.; RAZAVI, K. 2012. Effects of penconazole and water deficit stress on physiological and

antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulgium* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 34:1537-1549.

KADER A., A. 2007. Tecnología Postcosecha de cultivos hortofrutícolas. Tercera edición, Univ. Calif. Peer Reviewed. 299 p.

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.

NEWALL CA, ANDERSON LA, PHILLIPSON JD. 2006. Herbal Medicines.A Guide for Healthcare Professionals. London:The Pharmaceutical Press, 231 p.

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, C.N.; PEDRAZA C.J. 2005. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educación Química*, 17:164-173.

RODRÍGUEZ, V.M.J.; TOMASSINI, S.L.R.; MANCADE, N.M.C.; STRASSER DE S.A.M. 2010. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. *Food Control*, 21:779-785.

SAGARPA, SIAP. 2013. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F. www.siap.gob.mx/agricultura-produccion-anual/

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.

TODOROV S, PHILIANOS S, PETKOV V, HARVALA C, ZAMFIROVA R, OLIMPIOU H. 2007. Experimental pharmacological study of three species from genus Salvia. Acta Physiol Pharmacol Bulg. 10(2):13-20.

7. ANEXOS

Cuadro 1A. Estadístico To de la evaluación hedónica en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6 y 23°C.

DDA	CV	ECV	AM	ABH	P
3	9.0	5.0**	1.0*	0	0
6	8.66	5.0**	1.0*	0	0
9	8.0**	4.66**	1.0*	4.0*	1.0*
12	6.0**	3.33*	1.66*	4.0*	1.0*
15	5.33**	3.0*	1.66*	3.66*	1.0*
18	4.66**	3.0*	2.33*	3.0*	2.33*
21	4.66**	3.0*	2.33*	2.33*	1.66*

DDA: días de almacenamiento; AV: apariencia visual; ECV: escala de color visual, AM: amarillamiento, ABH: abscisión de hojas, P: pudriciones.

*: significativo a una $P \leq 0.05$ y **: significativo a una $P \leq 0.01$.

Cuadro 2A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisiológicas evaluadas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6°C y 23°C.

FV	GL	PP (%)	GL	TR (mlCO ₂ ·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	PE (μlC ₂ H ₄ ·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)
3 días de almacenamiento					
T	2	4.52**		17.18NS	0.00011*
Error	9	4.70		2378.5	0.0017
Total	11				
Media		2.33		18.16	0.005
CV (%)		31.0		28.2	2.47
6 días de almacenamiento					
T	2	36.7 ^{NS}		47.3 ^{NS}	0.00040*
Error	9	10.0		72.5	0.0092
Total	11				
Media		3.81		17.8	0.005
CV (%)		27.6		15.9	1.90
9 días de almacenamiento					
T	2	93.4 ^{NS}		13.1 ^{NS}	0.0032*
Error	9	17.9		87.7	0.0013
Total	11				
Media		5.92		19.0	0.004
CV (%)		23.8		16.4	2.71
12 días de almacenamiento					
T	2	293.7NS		155.6NS	0.0084*
Error	9	41.4		19.6	0.0052
Total	11				
Media		8.61		21.8	0.004
CV (%)		24.9		6.75	1.82
15 días de almacenamiento					
T	2	470.4NS		411.9NS	0.0016*
Error	9	37.7		71.2	0.0013
Total	11				
Media		12.2		20.3	0.003
CV (%)		16.7		13.8	3.41
18 días de almacenamiento					
T		804.3 ^{NS}	1	34.8NS	0.0014*
Error		26.2	6	1.82	0.0018
Total			7		
Media		14.9		23.7	0.003
CV (%)		11.4		2.32	1.59
21 días de almacenamiento					
T		6.7 ^{NS}	1	7.44**	0.0020*
Error		31.3	6	1.86	0.0016
Total			7		
Media		16.0		22.2	0.003
CV(%)		11.6		2.49	1.65

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad, PP: pérdida de peso, TR: tasa de respiración, PE: producción de etileno, T: tratamientos; CV: coeficiente de variación (%), *· significativo a una P≤0.05 y **· significativo a una P≤0.01; NS: no significativo.

Cuadro 3A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisicoquímicas evaluadas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6°C y 23°C.

F.V.	GL	SST	AT	GL	*L	*C	°h
3 días de almacenamiento							
T	2	0.20*	2.83*	2	9.2 ^{NS}	1.05*	5.66**
Error	45	21.9	0.81	9	4.52	17.7	9.46
Total	47			11			
Media		7.37	0.59		41.1	19.7	111.2
CV (%)		9.47	22.6		1.72	7.13	0.92
6 días de almacenamiento							
T	2	0.04*	0.09*	2	0.40*	0.32*	6.93**
Error	45	23.7	0.30	9	3.65	21.7	9.91
Total	47			11			
Media		7.30	0.57		41.1	19.3	110.0
CV (%)		9.93	14.4		1.54	8.03	0.95
9 días de almacenamiento							
T	2	0.01*	0.007*	2	12.4 ^{NS}	2.74*	15.4 ^{NS}
Error	45	6.89	0.19	9	9.07	17.1	19.7
Total	47			11			
Media		7.22	0.53		41.3	18.8	109.4
CV (%)		5.41	12.2		2.42	7.30	1.35
12 días de almacenamiento							
T	2	0.005*	0.37*	2	3.51*	6.36**	26.3 ^{NS}
Error	45	3.92	0.12	9	4.03	17.0	34.7
Total	47			11			
Media		7.18	0.52		41.7	19.3	109.1
CV (%)		4.11	10.2		1.60	7.11	1.79
15 días de almacenamiento							
T	2	0.45*	0.094*	2	3.18*	8.98 ^{NS}	58.5 ^{NS}
Error	45	4.66	0.080	9	3.31	14.1	15.8
Total	47			11			
Media		6.64	0.41		41.9	19.6	108.4
CV (%)		4.84	10.2		1.44	6.39	1.22
18 días de almacenamiento							
T	1	0.19*	0.021*	2	0.45*	2.88*	0.08*
Error	30	1.49	0.047	9	1.00	1.68	2.33
Total	31			11			
Media		6.43	0.32		41.4	18.3	109.4
CV (%)		3.47	0.30		0.98	2.88	0.57
21 días de almacenamiento							
T	1	0.001*	0.00005*	2	0.04*	4.96**	0.005*
Error	30	0.59	0.036	9	1.55	2.90	2.95
Total	31			11			
Media		6.19	0.29		42.0	20.1	106.9
CV (%)		2.27	11.8		1.20	3.44	0.65

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad, SST: sólidos solubles totales, AT: acidez titulable, *L: Brillantez, *C: cromaticidad, °h: tonalidad. T: tratamientos; CV: coeficiente de variación (%), *; significativo a una $P \leq 0.05$ y **; significativo a una $P \leq 0.01$; NS: no significativo.

Cuadro 4A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables bioquímicas evaluadas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6°C y 23°C.

FV	GL	CLT	ViC
3 días de almacenamiento			
T	2	0.000005*	8009.8 ^{NS}
Error	45	0.0001	624.1
Total	47		
Media		0.02	59.4
CV (%)		7.4	6.2
6 días de almacenamiento			
T	2	0.0001*	9.96 ^{NS}
Error	45	0.0001	212.9
Total	47		
Media		0.02	53.1
CV (%)		5.5	4.0
9 días de almacenamiento			
T	2	0.0004*	35.1 ^{NS}
Error	45	0.0008	250.0
Total	47		
Media		0.015	51.7
CV (%)		27.3	4.5
12 días de almacenamiento			
T	2	0.00008*	35.8 ^{NS}
Error	45	0.00008	174.6
Total	47		
Media		0.01	42.9
CV (%)		12.6	4.5
15 días de almacenamiento			
T	2	0.00009*	428.2 ^{NS}
Error	45	0.00008	388.6
Total	47		
Media		0.01	36.2
CV (%)		12.0	8.3
18 días de almacenamiento			
T	1	0.00005*	17.5 ^{NS}
Error	30	0.0002	87.3
Total	31		
Media		0.01	29.0
CV (%)		22.8	5.8
21 días de almacenamiento			
T	1	0.0004*	16.0 ^{NS}
Error	30	0.0002	441.3
Total	31		
Media		0.01	23.5
CV(%)		20.2	16.3

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad, CLT: clorofila total, ViC: vitamina C, T: tratamientos; CV: coeficiente de variación (%), * : significativo a una $P \leq 0.05$ y ** : significativo a una $P \leq 0.01$; NS: no significativo.

Cuadro 5A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de fenoles totales y capacidad antioxidante en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6°C y 23°C.

FV	GL	FT	CA
3 días de almacenamiento			
T	2	0.022*	0.22*
Error	45	0.090	1.51
Total	47		
Media		0.17	2.01
CV (%)		25.0	9.1
6 días de almacenamiento			
T	2	0.027*	2.87*
Error	45	0.23	4.41
Total	47		
Media		0.2	2.09
CV (%)		32.3	14.9
9 días de almacenamiento			
T	2	0.042*	0.59*
Error	45	0.079	4.34
Total	47		
Media		0.19	1.77
CV (%)		21.8	17.5
12 días de almacenamiento			
T	2	0.008*	0.63*
Error	45	0.17	2.18
Total	47		
Media		0.27	2.31
CV (%)		22.5	9.5
15 días de almacenamiento			
T	2	0.012*	0.66*
Error	45	0.26	2.15
Total	47		
Media		0.26	2.65
CV (%)		29.3	8.2
18 días de almacenamiento			
T	1	0.006*	0.03*
Error	30	0.16	1.15
Total	31		
Media		0.26	2.71
CV (%)		28.1	7.1
21 días de almacenamiento			
T	1	0.004*	0.11*
Error	30	0.082	1.48
Total	31		
Media		0.26	2.65
CV(%)		26.2	8.3

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad, FT: fenoles totales, CA: capacidad antioxidante, T: tratamientos; CV: coeficiente de variación (%), * : significativo a una $P \leq 0.05$ y ** : significativo a una $P \leq 0.01$; NS: no significativo

Cuadro 6A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las actividades enzimáticas evaluadas en salvia almacenada durante 21 días a 0, 6°C y 23°C.

FV	GL	SOD	CAT	POD	PFO
3 días de almacenamiento					
T	2	8.3*	9.0 ^{NS}	1122.2*	624.6**
Error	45	14.4	120.2	2211.7	812.3
Total	47				
Media		20.2	125.3	3333.9	1436.9
CV (%)		13.5	17.4	32.1	30.7
6 días de almacenamiento					
T	2	3.2 ^{NS}	167.7**	760.5**	1218.4**
Error	45	7.1	103.2	1153.7	326.2
Total	47				
Media		7.7	272.1	19142	1544.6
CV (%)		11.3	15.3	18.4	19.3
9 días de almacenamiento					
T	2	0.9 ^{NS}	77.5**	1325.2**	1322.5**
Error	45	5.8	63.0	1672.5	214.2
Total	47				
Media		6.0	143.2	2997.7	15367
CV (%)		10.4	15.8	28.6	15.4
12 días de almacenamiento					
T	2	6.6**	120.3**	507.3**	528.3**
Error	45	7.2	86.2	1211.6	745.4
Total	47				
Media		9.0	211.5	1718.9	12737
CV (%)		12.1	18.0	21.4	20.5
15 días de almacenamiento					
T	2	15.7**	325.3	2445.3**	1122.3**
Error	45	11.3	89.7	2126.1	852.5
Total	47				
Media		19.6	420.1	9571.4	1974.8
CV (%)		10.4	21.4	10.6	12.2
18 días de almacenamiento					
T	1	7.0*	118.6**	1022.4**	1352.2 ^{NS}
Error	30	11.2	90.3	2320.5	1017.1
Total	31				
Media		15.4	211.4	3342.9	2369.3
CV (%)		13.5	21.6	23.2	18.2
21 días de almacenamiento					
T	1	0.6 ^{NS}	25.3*	8874.3*	742.3*
Error	30	8.2	42.7	1322.6	1021.2
Total	31				
Media		8.2	70.3	10196.9	17635
CV (%)		13.4	16.2	11.4	35.2

FV: Factor de variación; GL: Grados de libertad, SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa, POD: peroxidasa, PFO: polifenoloxidasas, T: tratamientos; CV: coeficiente de variación (%), *: significativo a una $P \leq 0.05$ y **: significativo a una $P \leq 0.01$; NS: no significativo.