



Enseñar la explotación de la tierra,
no la del hombre

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ENZIMÁTICA
EN LA CALIDAD POSCOSECHA DE
ALBAHACA 'NUFAR' (*Ocimum basilicum* L.)
EN FRIGOCONSERVACIÓN**

TESIS

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

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

EDUARDO LÓPEZ BLANCAS

DICIEMBRE DE 2013

Chapingo, Estado de México



DIRECCION GENERAL ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES



Instituto de Horticultura

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ENZIMÁTICA EN LA CALIDAD POSCOSECHA DE ALBAHACA 'NUFAR' (*Ocimum basilicum* L.) EN FRIGOCONSERVACIÓN

Tesis realizada por **Eduardo López Blancas** 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:



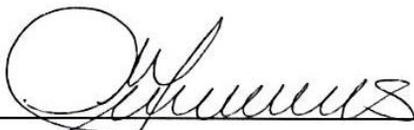
Dra. María Teresa Martínez Damián

ASESOR:



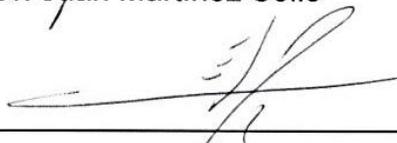
Dra. María Teresa Colinas León

ASESOR:



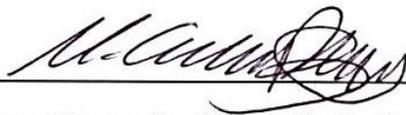
Dr. Juan Martínez Solís

ASESOR:



Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

LECTOR EXTERNO:



Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

AGRADECIMIENTOS

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

Al **Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT)** por la beca para tesis de posgrado otorgada para la finalización de la presente tesis.

A la **Universidad Autónoma Chapingo (UACH)** por brindarme la oportunidad de culminar mi formación académica.

A la Directora de tesis: **Dra. María Teresa Martínez Damián** por sus conocimientos impartidos y su oportuna orientación en la presente tesis, así como por su generoso apoyo en la conclusión de mis metas.

Al Comité asesor: **Dra. María Teresa Colinas León; Dr. Juan Martínez Solís; Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez; Dra. Margarita Gisela Peña Ortega**, por sus acertadas observaciones y recomendaciones en la presente investigación.

Al **Q. A. Cecilio Bautista Bañuelos**, por su invaluable asesoría e incondicional apoyo durante el desarrollo y culminación de la presente tesis.

A la **M. C. Rosa Lidia Hernández Álvarez**, por sus prontas y oportunas observaciones en la tesis.

A la empresa **Glezte S.P.R. de R.L.**, de Axochiapan, Morelos, en particular a la **M. C. Verónica Núñez López**, por las facilidades brindadas y *a toda persona que colaboró directa o indirectamente en la realización de este trabajo.*

DEDICATORIAS

A mis Padres y Hermanos...

por todo su apoyo, cariño, paciencia y ánimos que me han brindado en este tiempo para culminar mi formación personal y académica.

A Mis Amores:

☺ *Andrea & Arlette* ☺

A los Dres.:

Dora Alicia Ortega y Héctor Cabrera

por las invaluable enseñanzas para cimentar la pauta en el arduo mundo de la investigación...GRACIAS.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor de la presente investigación, Q. A. Eduardo López Blancas, nació en la Ciudad de Orizaba, Veracruz. Cursó sus estudios de licenciatura en la Facultad de Ciencias Químicas perteneciente a la Universidad Veracruzana, donde obtuvo el grado de Químico Agrícola en el año de 2006. En el Campo Experimental Cotaxtla perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias se desempeñó como técnico laboratorista y asistente de investigación en diversos trabajos de investigación referentes a Calidad postcosecha e Inocuidad alimentaria y Entomología, durante los años de 2004 a 2007. En la Universidad Autónoma Chapingo cursó estudios de posgrado, en Maestría en Ciencias en Horticultura y Doctorado en Ciencias en Horticultura, con orientación a Fruticultura, durante los años de 2008 a 2009 y 2010 a 2014, respectivamente.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ENZIMÁTICA EN LA CALIDAD POSCOSECHA DE ALBAHACA 'NUFAR' (*Ocimum basilicum* L.) EN FRIGOCONSERVACIÓN

ANTIOXIDANT AND ENZYMATICAL ACTIVITIES IN POSTHARVEST QUALITY OF BASIL 'NUFAR' (*Ocimum basilicum* L.) UNDER REFRIGERATED CONDITIONS

Eduardo López Blancas¹ y María Teresa Martínez Damián²

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la frigoconservación sobre la calidad poscosecha, actividad antioxidante y enzimática en albahaca 'Nufar'. Para lo cual manojos de planta, con calidad de exportación, se almacenaron a 5, 10 y 20 °C, por 18 días. Los resultados indicaron que en los tratamientos de refrigeración las características fisicoquímicas de la albahaca 'Nufar' se conservaron durante mayor tiempo. Asimismo, se observó que a menores temperaturas hubo menor pérdida de peso y producción de etileno, aunque la tasa respiratoria se incrementó; las bajas temperaturas también preservaron el contenido de clorofilas, carotenoides y vitamina C (sólo durante 4 días). La apariencia visual fue muy buena hasta los 10 días de almacenamiento (DDA); la capacidad antioxidante no dependió completamente del contenido fenólico, puesto que éste presentó una disminución antes que el contenido de fenoles totales, a los 8 y 10 DDA, respectivamente; el contenido de proteína se incrementó durante el almacenamiento. Con respecto a la actividad de la catalasa, ésta se incrementó por el almacenamiento en frío (14.3 U·mg⁻¹ de P). En contraste, la actividad de la superóxido dismutasa, peroxidasa (POD) y polifenoloxidasas (PFO) disminuyeron a temperaturas bajas, solo en POD y PFO se observó un aumento a los 10 DDA, de 57.6 y 31.8 U·mg⁻¹ de P, respectivamente. Por lo anterior, se puede concluir que el almacenamiento en frigoconservación a 5 y 10 °C prolongó la calidad poscosecha de albahaca 'Nufar' durante 10 y 14 DDA, respectivamente.

Palabras clave: fisicoquímicas, evaluación hedónica, catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa, polifenoloxidasas.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of cold storage on postharvest quality and antioxidant and enzyme activities in basil 'Nufar'. Plant bundles, export quality, were stored at 5, 10 and 20 °C, for 18 days. The results indicated that cooling treatments retain physicochemical characteristics of basil 'Nufar' for a longer time. It was also noted that at low temperatures, there was less weight loss and lower ethylene production, although they increased respiratory rate; also cool treatments preserved chlorophyll, carotenoids and vitamin C contents (only 4 days). There was a very good visual appearance up to 10 days of storage (DDA); the antioxidant capacity was not completely dependent on the phenolic content, since it showed lower values than the total phenolic content at 8 and 10 DDA, respectively. Regarding to catalase activities, this was increased by cold storage (14.3 U·mg⁻¹ P). In contrast, the activity of superoxide dismutase, peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) decreased at low temperatures, only POD and PPO showed an increase at 10 DDA, 57.6 and 31.8 U·mg⁻¹ P, respectively. Therefore, cold storage at 5 and 10 °C prolongs postharvest quality basil 'Nufar' for 10 and 14 DAA, respectively. Therefore, it can be concluded that storage in cold at 5 and 10 °C conditions maintained postharvest quality basil 'Nufar' for 10 and 14 DDA, respectively.

Key words: physicochemical, hedonic evaluation, catalase, superoxide dismutase, peroxidase, polyphenol oxidase.

¹ Tesista

² Director

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
DATOS BIOGRÁFICOS.....	v
RESUMEN GENERAL.....	vi
TABLA DE CONTENIDO.....	vii
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE.....	x
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. CALIDAD POSCOSECHA DE ALBAHACA 'NUFAR' (<i>Ocimum basilicum</i> L.) EN CONDICIONES DE 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.....	25
2.7. Literatura citada.....	26

3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ENZIMÁTICA DE ALBAHACA 'NUFAR' (<i>Ocimum basilicum</i> L.) EN FRIGOCONSERVACIÓN.....	32
3.1. Resumen.....	33
3.2. Abstract.....	34
3.3. Introducción.....	35
3.4. Materiales y Métodos.....	38
3.5. Resultados y Discusión.....	42
3.6. Conclusiones.....	52
3.7. Literatura citada.....	53
4. CONCLUSIONES GENERALES.....	60
5. LITERATURA CITADA GENERAL.....	61
6. APÉNDICE.....	63

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Pág.
CAPÍTULO 2.	
1. Color en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	15
2. Sólidos solubles totales y acidez titulable de albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	16
3. Variables fisiológicas de albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	19
4. Variables bioquímicas de albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	22
5. Evaluación hedónica en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.	25
CAPÍTULO 3.	
1. Fenoles totales, capacidad antioxidante y proteína en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.	47
2. Actividad enzimática de catalasa y superóxido dismutasa en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C...	49
3. Actividad enzimática de peroxidasa y polifenoloxidasa en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C...	52

LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro	Pág.
1A. Valores de referencia inicial de variables analizadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	63
2A. Estadístico To de la evaluación hedónica en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.	63
3A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisicoquímicas evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	64
4A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisiológicas evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	65
5A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables bioquímicas evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	66
6A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de fenoles totales, capacidad antioxidante y proteína evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C...	67
7A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de actividades enzimáticas evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.....	68

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantas aromáticas son vegetales de hoja utilizados para mejorar el sabor en alimentos, las más comunes son el perejil, la menta, la albahaca, la salvia y el orégano; su comercialización se realiza como producto seco, sin embargo, en la actualidad se requieren en fresco, por su mejor sabor (Cantwell y Reid, 2007). Entre la gran diversidad de hierbas aromáticas que se cultivan en México, en el 2012, las de mayor producción fueron albahaca (4,047.9 T), salvia (166.7 T), orégano (117.3 T), mejorana (103.6 T) y menta (102.1 T). En este mismo año, los principales estados productores de albahaca fueron Baja California Sur (2,486 T), Nayarit (675.3 T), Baja California Norte (364.7 T), Puebla (270 T) y Morelos (252 T) (Anónimo, 2013).

Las hierbas frescas presentan un rápido deterioro después de la cosecha, ya que la producción de etileno y la degradación de enzimas y proteínas, causan el incremento en la tasa respiratoria, igualmente hay pérdida de agua durante su almacenamiento (Forney y Jordan, 1999). Debido a esto, las condiciones recomendables de almacenamiento de dichas plantas son 0 °C y 95 % de HR; sin embargo, la albahaca presenta una reducción en su calidad cuando se mantiene a 0 °C, ya que es sensible al daño por frío por lo cual su transportación se realiza a una temperatura intermedia, entre 5 y 10 °C (Cantwell y Reid, 2007).

La acción de las enzimas que intervienen en los daños por frío, son de gran importancia en el manejo, transporte y almacenamiento de las hierbas; debido a que las lesiones, golpes, heridas, cortes y otros daños mecánicos, activan los sistemas enzimáticos, al sufrir cualquier daño en el tejido que ponen a las enzimas en contacto con el oxígeno del aire (Anónimo, 1987); lo cual origina un pardeamiento enzimático, en éste se ven involucradas enzimas como la polifenoloxidasas (E.C. 1.14.18.1) y peroxidasa (E.C. 1.11.1.7). La primera, se caracteriza por la oxidación de fenoles, esto desarrolla pigmentos oscuros, negros o rojos, llamados melaninas, los cuales son responsables de la pérdida de la calidad visual y nutricional del producto (Gil *et al.*, 2005); la segunda, se encarga de oxidar diferentes dadores de hidrógeno, reacciones que generan compuestos que modifican el sabor de los productos vegetales y favorecen el pardeamiento (Billot, 2001). Entre los compuestos que han demostrado la inhibición del pardeamiento se encuentran sulfitos, ácido ascórbico y sus derivados: ácido oxálico y ácido cítrico (Altunkaya y Gökmen, 2008).

Actualmente se ha prestado especial atención a las plantas comestibles ricas en metabolitos secundarios (con frecuencia llamados fitoquímicos), asimismo existe un interés creciente en la actividad antioxidante de estos fitoquímicos presentes en la dieta (Ahmed y Beigh, 2009). Este interés por el papel de los antioxidantes en la salud humana ha promovido la investigación en el campo de la ciencia de los alimentos para evaluar los antioxidantes presentes en frutas y verduras, así como determinar su contenido y actividad, e incluso se pretende mejorar a través de prácticas culturales y prácticas de poscosecha y almacenamiento (Ayala, 2004).

Los radicales libres, como uno de los productos finales de hidroperóxidos inestables, tienen el potencial de degradar clorofilas y dañar células de la planta; asimismo el medio ambiente puede inducir la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Atkinson, 2005; Yamauchi y Watada, 1991). Para prevenir el daño oxidativo en las células, generado por ERO, las plantas contienen diferentes compuestos antioxidantes, tales como vitamina C, vitamina E, ácido ascórbico, α -tocoferoles y carotenoides, aunque, estos compuestos no son los únicos que contribuyen en la actividad antioxidante (García *et al.*, 2004; Sharma, 2008). También los glicósidos son capaces de liberar compuestos volátiles por hidrólisis ácida o enzimática, considerándose precursores de sustancias antioxidantes (Arcila *et al.*, 2004); recientemente, los compuestos fenólicos especialmente los ácidos fenólicos y flavonoides, han recibido mucha atención puesto que diversos estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de alimentos ricos en fenoles se asocia con un riesgo reducido de enfermedades cardiovasculares, enfermedades cerebrovasculares y ciertas formas de cáncer (Kaur y Kapoor, 2001). Estos efectos benéficos observados, en parte se atribuye a sus propiedades antioxidantes (Ghasemnezhad *et al.*, 2011). La albahaca santa (*Ocimum sanctum* L.) es una planta medicinal en India, la cual tiene usos como hepatoprotector, antihiperlipidémico, salvamento del miocardio por su efecto inmunoestimulante en el hombre y en animales (Arivulchelvan *et al.*, 2012).

Para hacer frente a los radicales libres, la planta está equipada con un sistema de defensa eficaz, que incluye varias enzimas y compuestos antioxidantes de alto y bajo peso molecular (Kaur y Kapoor, 2001). En espinaca, se encontró que

los radicales libres probablemente fueron eliminados por el β -caroteno y ácido ascórbico, que están presentes en el cloroplasto (Yamauchi y Watada, 1991). En extractos de orégano, el potencial antioxidante se determinó por su capacidad para inhibir la peroxidación lipídica, con los métodos de captura del peróxido de hidrógeno y del ácido hipocloroso y por la prueba de la rancidez (Arcila *et al.*, 2004). Normalmente, el medio más efectivo para eliminar o disminuir la acción de los radicales libres, que causan el estrés oxidativo, es el mecanismo de defensa antioxidante (Arivulchelvan *et al.*, 2012).

Por lo anterior, el efecto de la refrigeración y el contenido y nivel de actividad antioxidante y enzimática son muy importantes para determinar la calidad de albahaca; cabe resaltar que la mayoría de los estudios realizados en plantas aromáticas se enfocan a los aspectos fitoquímicos y terapéuticos, desestimando la vida de anaquel en fresco. Por lo que, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la frigoconservación a 5 y 10 °C (y temperatura ambiente) sobre la calidad poscosecha, actividad antioxidante y enzimática en los procesos de estrés oxidativo y estrés por frío en la prolongación de la vida poscosecha de albahaca 'Nufar'.

**2. CALIDAD POSCOSECHA DE ALBAHACA 'NUFAR' (*Ocimum basilicum*
L.) EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN¹**

¹López, B., E.; M. T. Martínez D.; M. T. Colinas L.; J. Martínez S.; J. E. Rodríguez P. Enviado a la Revista Chapingo Serie Horticultura, 07/09/13.

2.1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la refrigeración en la calidad poscosecha de albahaca 'Nufar'. Para lo cual empaques de albahaca con calidad de exportación se almacenaron a 5, 10 y 20 °C, por 18 días. Durante el período de almacenamiento se evaluaron cada dos días las variables: color (L, C, °h), sólidos solubles totales, acidez titulable, pérdida de peso, tasa de respiración, producción de etileno, clorofilas totales, carotenoides totales y vitamina C; mediante evaluación hedónica se determinó apariencia visual, turgencia, pudrición y aroma. Los resultados indicaron que los tratamientos de refrigeración conservaron el color hasta los 12 días de almacenamiento (DDA); el contenido de azúcares permaneció a los 10 y 14 DDA a 10 y 5 °C, respectivamente; mientras que la acidez titulable fue menor a bajas temperaturas. Se observó que a menor temperatura, menor pérdida de peso y mayor tasa respiratoria, la producción de etileno fue baja hasta los 12 DDA; así mismo, las bajas temperaturas preservaron el contenido de clorofilas y carotenoides, aunque la vitamina C sólo permaneció hasta los 4 DDA. La apariencia visual y turgencia fue muy buena hasta los 10 y 12 DDA, respectivamente; las pudriciones se presentaron en más del 10 % después de 10 DDA y el aroma fue imperceptible después de los 14 DDA en los tres tratamientos. El almacenamiento a 5 y 10 °C, prolongó la calidad poscosecha de albahaca 'Nufar' durante 10 y 14 DDA, respectivamente; a 20 °C, ésta sólo se mantuvo por 4 DDA.

Palabras clave adicionales: almacenamiento, fisicoquímicas, fisiológicas, bioquímicas, evaluación hedónica, nutrición.

2.2. ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of cooling on postharvest quality of basil 'Nufar'. Basil bundles of export quality were stored at 5, 10 and 20 ° C, for 18 days. During the storage period, every two days these variables were assessed: color (L, C, °h), total soluble solids, titratable acidity, weight loss, respiration rate, ethylene production, total chlorophyll content, total carotenoids content, and vitamin C content. By hedonic evaluation determinations were made for: visual appearance, turgor, rottenness degree and aroma. The obtained results indicated that cooling treatments kept the color up to 12 days of storage (DDA), sugar content last for at 10 and 14 DAA when 10 and 5 ° C storage temperatures made used, respectively; while titratable acidity was lower at low temperatures. It was observed that low temperatures produced, less weight loss, and increased respiratory rate, ethylene production was low until 12 DDA. Low temperatures maintained high of chlorophylls and carotenoids contents, although vitamin C content were kept until 4 DDA, visual appearance and turgor were very good until the 10 and 12 DAA, respectively, rotted tissue higher than 10 % appeared after 10 DAA, the aroma was noticeable after 14 DDA in all three treatments. The storage at 5 and 10 ° C, prolonged postharvest quality of basil 'Nufar' for 10 and 14 DAA, respectively, while for at 20 ° C treatment it only remained for 4 DDA.

Additional key words: storage, physicochemical, physiological, biochemical, hedonic evaluation, nutrition.

2.3. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una de las hierbas culinarias más populares (Kopsell *et al.*, 2005) utilizada para contribuir al aroma y gusto de los alimentos (Cantwell y Reid, 2007); se ha cultivado desde hace siglos por sus cualidades de sabor y propiedades terapéuticas, se usan las hojas frescas o secas, al igual que sus aceites esenciales y semillas (Kopsell, 2005); en la medicina tradicional se emplea en la elaboración de fitofármacos (Hernández y Rodríguez, 2001). En México, es la hierba aromática de mayor producción (Anónimo, 2013).

Las hierbas frescas son cada vez más demandadas, debido a su sabor intenso cuando están recién cosechadas (Cantwell y Reid, 2007); no obstante, al igual que otras hierbas de hoja, la albahaca no puede mantenerse durante mucho tiempo después de la cosecha ya que su calidad tiende a disminuir (Da Silva *et al.*, 2005); aun así, es posible prolongar su vida de anaquel al reducir su metabolismo y deshidratación (Martínez *et al.*, 2007), para lo cual se recomienda que su transportación y almacenamiento se realice en condiciones de refrigeración (Cantwell y Reid, 2007). Sin embargo, la albahaca presenta daños por frío si se almacena a temperaturas menores de 5 °C por un periodo mayor de tres días y se reduce considerablemente su aroma; no obstante, cuando se almacena por 12 días a 15 °C o por 8 días a 5 °C, su calidad se

mantiene en condiciones óptimas (Lange y Cameron, 1994; Cantwell y Reid, 2007; Núñez *et al.*, 2012).

Por otra parte, el empaque en películas plásticas evita la pérdida de agua y además provee una atmósfera donde las hierbas frescas responden favorablemente a la reducción de O₂ e incremento en las concentraciones de CO₂ (Cantwell y Reid, 2007).

En la actualidad, un tema de interés es la conservación de la salud, por lo que se recomienda el consumo de plantas frescas como fuente de antioxidantes, ya que, estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de alimentos ricos en estos compuestos puede reducir el riesgo de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Urquiaga *et al.*, 1999). Lo anterior, ha motivado cambios en las tendencias y hábitos de alimentación que han favorecido un incremento en la producción y consumo de productos que presentan compuestos terapéuticos o fitoquímicos nutricionalmente valiosos a la dieta que contribuyen en la prevención de algún padecimiento (Kopsell *et al.*, 2005; Lewers *et al.*, 2012). A su vez, el uso de antioxidantes de origen natural se ha incrementado, reemplazando así a los sintéticos, debido a las restricciones de carcinogenicidad que éstos presentan para ser usados en alimentos (Zheng y Wang, 2001).

La presencia de antioxidantes naturales retarda el daño oxidativo que afecta a lípidos y proteínas de las plantas, también ayuda a mantener las cualidades de color, sabor y aroma, caracteres de gran importancia que influyen en la vida poscosecha del producto y su valor comercial (Speisky *et al.*, 2006). Las hierbas y especias son una fuente potencial de vitamina C y de otros compuestos

antioxidantes como los carotenoides (Arcila *et al.*, 2004); asimismo, un alimento puede ser considerado como nutracéutico y funcional debido a las propiedades antioxidantes de la vitamina C y carotenoides (Franke *et al.*, 2004; Sahlin *et al.*, 2004). En este contexto, el contenido de ácido ascórbico puede ser utilizado como indicador de la calidad nutricional de los alimentos (Borges *et al.*, 2004), mientras que los carotenoides actúan como potentes antioxidantes que protegen a las células de los efectos de radicales libres y ayudan a reducir la sensibilidad de la piel provocada por los rayos ultravioleta (Moser, 2006).

Debido a que la temperatura de almacenamiento es uno de los factores más importantes para determinar la calidad de albahaca, al ser susceptible a daños por frío (Cantwell y Reid, 2007), el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la refrigeración a 5 y 10 °C sobre características fisicoquímicas (color, sólidos solubles totales, acidez titulable), fisiológicas (pérdida de peso, tasa de respiración, producción de etileno), bioquímicas (clorofilas totales, carotenoides totales, vitamina C) y sensoriales (apariencia visual, pérdida de turgencia, pudrición, presencia de aroma) en la prolongación de la vida poscosecha de albahaca 'Nufar'.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. El material vegetal fue albahaca 'Nufar', con calidad de exportación, proporcionado por la empresa Glezte S.P.R. de R.L., localizada en Axochiapan, Morelos. La planta se empacó en bolsas de polietileno de baja densidad de 40 x 60 cm con 6 perforaciones de 0.5 cm de diámetro por lado, con un peso de 250 g de albahaca cada una.

Ubicación del experimento y tratamientos. El experimento y análisis de variables se realizó en el Laboratorio de Usos Múltiples de la Universidad Autónoma Chapingo. Los empaques de albahaca se colocaron en dos cámaras frigoríficas a temperaturas de 5 y 10 °C y a temperatura ambiente (20 ±2 °C); cada dos días se realizó la medición de las variables por un periodo de 18 días de almacenamiento. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar; con cuatro repeticiones por tratamiento (en cada día de evaluación), donde la unidad experimental consistió de un empaque de 250 g.

Variables fisicoquímicas: Color: se determinó brillantez, pureza del color y ángulo de tono, los valores se obtuvieron directamente con un espectrofotómetro (X-Rite SP62); las lecturas se tomaron en el haz de tres hojas maduras de tres ramas. Sólidos solubles totales, evaluados según Anónimo (1990), con un refractómetro digital (ATAGO Pal-1), en el cual se colocaron de 3 a 4 gotas del jugo de 5 g de hojas maceradas con homogeneizador. Acidez titulable, valorada por titulación, de acuerdo con Anónimo (1990), se licuaron 5 g de hoja 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. **Variables fisiológicas:** Pérdida de peso, se evaluó con una balanza digital (OHAUS); los datos de porcentaje de pérdida de peso se obtuvieron por diferencia entre el peso inicial y final 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 a través de un sistema cerrado con 50 g de planta, del cual después de una hora se tomó 1 ml del espacio de cabeza; la muestra se inyectó, con una aguja hipodérmica, en

un cromatógrafo de gases (VARIAN-3400) acondicionado con una columna Porapak $^{80}/_{100}$ de 2 mm x $1/8$ " y con 2 detectores, para CO₂ el detector de conductividad térmica (TCD) y para etileno el detector 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 y con 32.3 ml min⁻¹ del flujo de He como gas acarreador. Como estándar se utilizó CO₂ (399 mg·litro⁻¹) y etileno (103 mg·litro⁻¹) (INFRA).

Variables bioquímicas: las lecturas de estas variables se realizaron en un espectrofotómetro Génesis (10-UV): Clorofilas totales y carotenoides totales, se determinaron por el método de Lichtenthaler (1987), 0.5 ml de extracto de acetona (2 g de hojas·10 ml de acetona⁻¹), se diluyeron en 20 ml de acetona pura, las lecturas se realizaron a 662, 645 y 470 nm. Las concentraciones se calcularon con las siguientes fórmulas: Clorofila a = $11.24A_{661.6} - 2.04A_{644.8}$; Clorofila b = $20.13A_{644.8} - 4.19A_{661.6}$; Clorofila total = $7.05A_{661.6} + 18.09A_{644.8}$; Carotenos = $(1000 A_{470} - 1.90 C_a - 63.14 C_b)/(214)$. Vitamina C, se determinó por el método del ácido metafosfórico (Anónimo, 1990), 0.2 ml de extracto de ácido metafosfórico (2 g de hojas·4 ml⁻¹), se diluyeron en 1.3 ml de agua destilada y se adicionaron 5 ml de DCFIF, las lecturas se realizaron a 515 nm, posteriormente se adicionaron de dos a tres cristales de ácido ascórbico puro y nuevamente se tomó la lectura.

Evaluación hedónica: se realizó mediante una escala hedónica, la cual consiste en evaluar ciertas características cualitativas de la planta, asignando valores en una escala determinada, la medición se realizó por observación con el apoyo de una fotografía inicial de la muestra para distinguir las diferencias durante el tiempo de almacenamiento; las variables fueron aparición visual y

pérdida de turgencia (1=mala, 2=regular, 3=buena, 4=muy buena, 5=excelente), pudrición (0=0, 1=10, 2=20, 3=30, 4=40, 5=50 %) y presencia de aroma (1=con, 2=sin) (Núñez *et al.*, 2012).

Los datos obtenidos se sometieron a ANAVA y prueba de medias de Tukey ($\alpha=0.05$) con el programa SAS[®] (Statistical Analysis System, ver. 9.0) (SAS, 2002). Los resultados de la evaluación hedónica se analizaron por medio de la prueba de Kruskal-Wallis, con el programa InfoStat[®] (ver. 2013e) (Di Rienzo *et al.*, 2008).

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables fisicoquímicas. Color. El factor más importante en la calidad de las hierbas frescas además de la frescura, es el color verde de sus hojas (Aharoni *et al.*, 1989), ya que este atributo influye en el comportamiento de percepción, elección y compra del producto (Pathare *et al.*, 2013). A los 6 y 8 días de almacenamiento (DDA), en la brillantez (L) se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos de 5 °C (40.3) con los de 10 y 20 °C (42.1 y 42.5, respectivamente) (estos últimos estadísticamente iguales) (Cuadro 1); este comportamiento implicó que a menor temperatura se encontró menor brillantez, lo que indicó un oscurecimiento en las hojas; como en hongos comestibles, donde la disminución de brillantez indica el oscurecimiento de los mismos (Campo y Gélvez, 2011). De la misma manera y haciendo alusión al comportamiento anterior a los 10 DDA, los valores en los tratamientos de refrigeración disminuyeron (40.2 y 40.4) con respecto al de 20 °C (42.2), presentando diferencia estadística significativa. Este decremento de los valores

de L en los tratamientos de refrigeración durante el almacenamiento, no concuerda con estudios realizados en cilantro y espinaca por Loaiza y Cantwell (1997) y Martínez y Cantwell (2002), respectivamente, en los cuales la luminosidad se incrementa al disminuir la temperatura, probablemente debido al uso de atmósferas controladas. Por otra parte, Pathare *et al.* (2013) mencionan que la variedad de índices utilizados para caracterizar el color de alimentos frescos hace difícil la comparación de resultados incluso para el mismo tipo de producto. En el caso de la pureza del color (C), de los 2 a los 12 DDA los tratamientos de refrigeración (con tendencia a descender en los DDA) fueron estadísticamente iguales entre ellos y estadísticamente diferentes con respecto al de 20 °C; el cual, presentó los mayores valores que fueron en aumento durante los DDA, esto implicó una mayor intensidad del color en este tratamiento, puesto que, cuando los valores de croma son altos, mayor es la intensidad del color de las muestras en la percepción por los seres humanos (Pathare *et al.*, 2013). Posteriormente, a los 14 y 16 DDA, los tratamientos de 5 y 10 °C fueron estadísticamente diferentes entre ellos (Cuadro 1). Los valores del Ángulo de tono (°h), permanecieron constantes hasta los 8 DDA en los tratamientos de 5 y 10 °C, éste último presentó los mayores valores durante el almacenamiento. De los 8 a 12 DDA, hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos de refrigeración con respecto al de 20 °C, el cual presentó durante los DDA los menores valores (Cuadro 1). A los 14, 16 y 18 DDA los valores disminuyeron en los tratamientos de refrigeración y hubo diferencias estadísticas entre los mismos. El decremento observado en el °h durante el almacenamiento, coincide con el comportamiento de hierbas frescas culinarias

como berros, cebollín, acelga, eneldo y perejil (Aharoni *et al.*, 1989; Apeland, 1971).

CUADRO 1. Color en albahaca ‘Nufar’ almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Brillantez (*L)									
5	42.4a ^z	41.4a	40.3b	40.3b	40.2b	40.1a	39.6a	37.8a	35.5a
10	42.8a	42.8a	42.1a	42.1a	40.4b	40.1a	40.1a	38.7a	37.0a
20	43.4a	42.9a	42.5a	42.5a	42.2a	41.9a			
DMSH	1.5	1.6	1.3	1.9	1.7	1.9	1.4	2.3	2.9
Pureza del color (*C)									
5	20.0b	18.9b	18.3b	18.2b	18.3b	18.1b	17.4b	17.3b	17.6a
10	20.0b	19.1b	18.8b	18.8b	18.4b	18.5b	19.0a	18.9a	18.1a
20	22.8a	22.9a	23.8a	24.6a	25.1a	24.3a			
DMSH	2.1	2.5	2.2	2.3	2.3	2.2	1.5	1.5	2.3
Ángulo de tono (°h)									
5	114.7a	114.6a	114.0a	113.9a	112.3a	110.9a	109.9b	106.7b	103.9b
10	115.4a	115.4a	114.4a	114.2a	113.3a	112.2a	111.2a	110.0a	108.1a
20	114.1a	113.8a	112.8a	111.2b	109.8b	108.7b			
DMSH	1.9	1.9	1.9	2.2	2.1	2.0	1.1	1.9	1.8

^zMedias con la misma letra, dentro de columnas, son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEM: Temperatura de almacenamiento.

Sólidos solubles totales. En lo que respecta al contenido de sólidos solubles totales (SST), a los 8 y 10 DDA hubo diferencia estadística entre los tratamientos de refrigeración, en donde se presentaron valores inferiores de °Brix, con respecto al de 20 °C (Cuadro 2); esta disminución en los tratamientos de refrigeración, pudo deberse a que los azúcares son el principal sustrato consumido en el metabolismo respiratorio (Nei *et al.*, 2005) y dichos tratamientos presentaron una mayor tasa respiratoria (Cuadro 4). A los 12 DDA,

se incrementaron los valores en el tratamiento de 10 °C y hubo diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos (Cuadro 2); sin embargo, los valores en el tratamiento de 5°C disminuyeron hasta los 14 DDA, descenso que probablemente se debió a que la senescencia es un proceso oxidativo, en el cual se degradan los pocos azúcares y ácidos que se encuentran contenidos en las hojas (Shewfelt y Ruckner, 2003), y particularmente por que la albahaca es una hierba suculenta que no posee tejidos de reserva que permitan la acumulación de azúcares (Cantwell y Reid, 1993) como en el caso de los frutos, puesto que en las hojas de albahaca solo se cuenta con el almidón como principal carbohidrato de almacenamiento (Büchi *et al.*, 1998). Por otra parte, el incremento en el contenido de °Brix a los 8, 12 y 16 DDA en los tratamientos de 20, 10 y 5 °C, respectivamente, posiblemente se debe a que los valores de SST tienden a aumentar durante el almacenamiento, debido a que las plantas pierden humedad en un gradiente mayor con respecto al desdoblamiento del azúcar en la respiración (Ryugo, 1993).

Acidez titulable. La acidez titulable (AT) fue en aumento durante el almacenamiento y sólo a los 14 a 18 DDA hubo diferencia estadística entre los tratamientos de 5 y 10 °C, éste último con la mayor AT (Cuadro 2), lo anterior debido a que las bajas temperaturas reducen el desdoblamiento de los ácidos, conservando y aumentando los porcentajes de acidez, lo cual es importante para resistir el estrés por frío (Wills *et al.*, 1998). Cabe mencionar que durante los DDA, el comportamiento de disminución e incremento de los SST y la AT, respectivamente, coincidieron con Ávila *et al.* (2007) y Núñez *et al.* (2012).

CUADRO 2. Sólidos solubles totales y acidez titulable de albahaca ‘Nufar’ almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Sólidos solubles totales (°Brix)									
5	7.6a ²	7.4a	7.0a	6.4b	6.2b	5.4c	5.3b	5.9 b	6.8b
10	8.0a	7.6a	7.4a	6.4b	6.1b	6.9b	7.0a	7.2a	8.9a
20	8.0a	7.7a	7.4a	8.0a	8.1a	8.4a			
DMSH	0.8	1.2	1.1	1.0	1.1	1.2	0.9	0.7	0.8
Acidez titulable (mg·100 g⁻¹)									
5	0.74a	0.76a	0.87a	0.96a	0.97a	0.99a	0.99b	1.04b	1.38b
10	0.68a	0.71a	0.84a	0.93a	0.94a	0.98a	1.12a	1.27a	1.57a
20	0.81a	0.84a	0.85a	0.86a	0.90a	1.08a			
DMSH	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1

²Medias con la misma letra, dentro de columnas, son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEM: Temperatura de almacenamiento.

Variables fisiológicas. Pérdida de peso. El componente más abundante en los vegetales es el agua, el cual puede ser de más del 90 % del peso total (Vicente *et al.*, 2009). Cuando las pérdidas de agua son altas, se expresan como pérdidas de peso (PP) en el transcurso del tiempo (Ben y Rodov, 2003). En el presente estudio, el mayor porcentaje de PP se presentó en el tratamiento de 20 °C, y de los 6 a los 12 DDA hubo diferencia estadística con respecto a los tratamientos de refrigeración (los cuales fueron estadísticamente iguales), periodo en que el tratamiento de 20 °C presentó valores de 10.7 % de PP a los 8 DDA, mientras que el tratamiento de 10 °C mostró el mismo valor a los 12 DDA, y el de 5°C fue de 6.9 % de PP. Posteriormente, de los 14 a 18 DDA hubo diferencia estadística entre los tratamientos de 5 y 10 °C (Cuadro 3). De acuerdo con Burg (2004), la mayoría de las especies pierden su frescura cuando transpiran alrededor del 3 al 10 % de su peso fresco, lo que genera que

el producto se marchite debido a la baja humedad (Thompson, 2007). El beneficio principal de utilizar películas plásticas es reducir la pérdida de agua y proveer atmósferas benéficas (Cantwell y Reid, 2007), beneficios que se mostraron en el tratamiento de 5 °C al presentar valores por debajo del 10 % de PP durante los DDA.

Tasa de respiración. En la tasa de respiración (TR) a los 2 DDA se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de refrigeración y el de 20 °C, al igual que, de los 4 a los 12 DDA entre los tres tratamientos, siendo el de 5 °C en el cual se presentaron los mayores valores, lo que pudo deberse a que la tasa de respiración se ve afectada directamente por la temperatura (Smith *et al.*, 2003). Por otra parte, a los 8 DDA en los tratamientos de 5 y 10 °C se observó un ligero incremento en la TR (48.1 y 32.9 ml CO₂·kg⁻¹·h⁻¹), mientras que a los 16 DDA se presentaron los valores más altos (59.8 y 50.4 ml CO₂·kg⁻¹·h⁻¹). El incremento en la TR, generalmente es asociado al incremento en la producción de etileno, observado a los 6 y 14 DDA (Cuadro 3) el cual brevemente precede o acompaña el aumento en la producción de CO₂ (Brady y Speirs, 1991). Por su parte, Cantwell y Reid (2007) destacan que las atmósferas altas en CO₂ mantienen el color verde y reducen la pudrición en hierbas como perejil y cilantro, pero sin beneficios en albahaca.

Producción de etileno. En los tratamientos de refrigeración a los 6 DDA se observó un incremento en la producción de etileno (PE) (0.08 µl C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹); sin embargo, no hubo diferencia estadística entre los tres tratamientos, ni durante todo el almacenamiento (Cuadro 4); no obstante, a los 14 y 16 DDA los valores se incrementaron en los tratamientos de refrigeración, donde fueron

visibles síntomas descritos por Cantwell y Reid (2007), como el amarillamiento, caída de hojas y epinastia (encurvamiento del pecíolo), debido a que las hierbas culinarias se ven afectadas negativamente por el etileno. Por otra parte, los tratamientos de 5 y 10 °C presentaron los menores valores de PE a los 2, 4, 8, 10 y 12 DDA, que puede deberse a que las temperaturas bajas durante el almacenamiento pueden minimizar la PE (Cantwell y Reid, 2007). Los valores obtenidos en la TR y PE se encuentran dentro de los rangos referidos por Cantwell y Reid (2006) para hierbas frescas culinarias almacenadas en refrigeración de 10 °C, en TR (25 – 80 ml CO₂·kg⁻¹·h⁻¹) y en PE (0.10 – 0.57 µl C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹).

Cuadro 3. Variables fisiológicas de albahaca ‘Nufar’ almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
	Pérdida de Peso (%)								
5	2.7a ^z	3.0a	3.3b	5.9b	6.6b	6.9b	8.3b	8.8b	9.1b
10	2.9a	3.3a	3.3b	4.7b	4.9b	10.7b	12.8a	13.4a	21.5a
20	3.7a	3.9a	9.2a	10.7a	23.3a	33.9a			
DMSH	2.1	3.1	4.9	4.2	4.4	5.0	4.3	2.2	2.7
	Tasa de respiración (ml CO₂·kg⁻¹·h⁻¹)								
5	50.1a ^z	44.9a	43.6a	48.1a	37.5a	37.8a	25.7a	59.8a	47.2a
10	42.4a	30.3b	31.7b	32.9b	27.1b	27.6b	21.5a	50.4a	44.3a
20	30.0b	20.4c	21.4c	19.5c	15.7c	7.0c			
DMSH	10.0	6.5	5.7	9.0	6.6	5.4	5.7	21.3	11.1
	Producción de etileno (µl C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹)								
5	0.04a	0.04a	0.08a	0.03a	0.02a	0.04a	0.19a	0.20a	0.12a
10	0.04a	0.04a	0.09a	0.03a	0.03a	0.03a	0.22a	0.23a	0.17a
20	0.06a	0.07a	0.06a	0.06a	0.06a	0.07a			
DMSH	0.03	0.05	0.07	0.04	0.06	0.06	0.07	0.18	0.14

^zMedias con la misma letra, dentro de columnas, son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEM: Temperatura de almacenamiento.

Variables bioquímicas. Clorofilas. En el contenido de clorofilas, sólo a los 10 y 12 DDA se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos de refrigeración, con respecto al de 20 °C (Cuadro 4), siendo en éste último donde el contenido de clorofila fue menor durante todo el almacenamiento, esto probablemente a que la clorofila se degrada por factores ambientales como luz y temperatura (Wills *et al.*, 1998), así como radicales libres, productos finales de hidroperóxidos inestables (Yamauchi y Watada, 1991). Por otra parte, el comportamiento presentado en el contenido de clorofila, concuerda con estudios realizados en albahaca en refrigeración (Hassan y Mahfouz, 2010; Núñez *et al.*, 2012; Da Silva *et al.*, 2005), donde el contenido de clorofila disminuía de forma gradual durante el periodo de almacenamiento y en menor proporción comparado con la albahaca almacenada a temperatura ambiente.

Carotenoides totales. Los carotenoides totales presentaron diferencia estadística de los 6 a 12 DDA, entre los tratamientos de refrigeración y el tratamiento de 20 °C (Cuadro 4), en el cual se mantuvieron los valores más bajos durante el almacenamiento, lo anterior concuerda con Núñez *et al.* (2012) quienes reportan el mayor contenido de carotenoides en albahaca almacenada en refrigeración, contrario a lo observado en espinaca refrigerada en atmósferas controladas, en donde a menor temperatura menor contenido de este pigmento (Martínez y Cantwell, 2002); según Tanaka *et al.* (2008), el mecanismo que controla la acumulación de carotenoides es en gran parte desconocido, ya que la cantidad de estos compuestos en los tejidos no se atribuye exclusivamente a la capacidad de sintetizar carotenoides, debido a que algunos tejidos sólo acumulan una pequeña cantidad de carotenoides. De los 14 y 16 DDA, los

tratamientos de 5 y 10 °C fueron estadísticamente diferentes entre sí. En la senescencia de vegetales de hoja se origina la pérdida de verdor dada por la degradación de la clorofila y la biosíntesis de carotenoides (Yamauchi y Watada, 1991), puesto que al degradarse la molécula de clorofila se generan compuestos no coloreados, y esto permite que se expresen los carotenos, los cuales, varían de una coloración desde amarilla hasta púrpura (Borovsky y Paran, 2008); y la temperatura se considera el factor más influyente en esta tasa de degradación (Yamauchi y Watada, 1993).

Vitamina C. La pérdida de vitamina C durante el almacenamiento puede influir en los índices de calidad nutricional de las plantas (Kader, 2007; Soto *et al.*, 2012; Tavarini, 2008), puesto que el ácido ascórbico confiere propiedades antioxidantes (Majchrzak *et al.*, 2004). En este estudio, a los 2 DDA el contenido de ácido ascórbico fue mayor en el tratamiento de 5 °C y estadísticamente diferente a los de 10 y 20 °C (los cuales fueron estadísticamente iguales); sin embargo, a los 4 DDA los tratamientos de refrigeración fueron estadísticamente iguales y diferentes al de 20 °C, en el cual se tuvieron condiciones favorables para la pérdida de agua, lo que resulta en una rápida disminución de vitamina C por temperaturas elevadas especialmente en vegetales de hoja (Lee y Kader, 2000), como espinacas y poros (Kevers *et al.*, 2007). A los 6 DDA, se presentó diferencia estadística entre los tres tratamientos (Cuadro 4), siendo el de 5 °C en el que hubo mayor contenido de vitamina C; lo anterior indica que el almacenamiento a bajas temperaturas, por un periodo determinado, mantiene las características nutricionales, pues la temperatura es el factor que tiene la mayor influencia sobre la degradación de la vitamina C (Rapisarda, 2008;

Tavarini, 2008). De los 14 a 16 DDA, se presentó el menor contenido en el tratamiento de 5 °C, esto probablemente a que algunos cultivos son sensibles a la congelación, como la albahaca, que muestra más pérdida de vitamina C a temperaturas bajas y periodos de almacenamiento prolongado (Lee y Kader, 2000). Por otra parte, cuando se inicia la senescencia de hojas el contenido de vitamina C disminuye, a la par de la degradación de los tejidos (Kalt, 2005).

Cuadro 4. Variables bioquímicas de albahaca ‘Nufar’ almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Clorofilas totales (mg·100 g⁻¹)									
5	1.31a ^z	1.31a	1.30a	1.26a	1.25a	1.24a	1.24a	1.24a	1.23a
10	1.31a	1.31a	1.28a	1.23a	1.22a	1.19a	1.19a	1.17a	1.17a
20	1.22a	1.23a	1.15a	1.14a	1.09b	0.98b			
DMSH	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1
Carotenoides totales (mg·100 g⁻¹)									
5	76.5a	77.1a	106.4a	104.4a	103.2a	103.6a	104.9a	108.0a	108.2a
10	76.8a	77.7a	102.2a	102.1a	101.4a	98.7a	99.0b	99.1b	99.9b
20	73.2a	74.7a	81.1b	88.0b	88.4b	89.1b			
DMSH	17.1	10.7	6.3	11.7	8.7	9.4	3.3	5.3	4.8
Vitamina C (mg·100g⁻¹)									
5	10.33a	9.03a	4.07a	3.60a	3.02a	2.87a	1.46a	1.25a	1.22a
10	9.52b	9.01a	3.36b	3.34a	3.02a	2.83a	1.68a	1.78a	1.65a
20	9.50b	3.28b	2.66c	2.66a	2.75a	2.46a			
DMSH	0.1	0.8	0.7	1.0	0.9	0.8	0.6	0.5	0.5

^zMedias con la misma letra, dentro de columnas, son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEM: Temperatura de almacenamiento.

Evaluación hedónica. Entre las muchas características sensoriales de las hortalizas frescas, la apariencia es de primordial importancia, aunado a las cualidades nutricionales que hoy en día son cada vez más relevantes para los consumidores (Kevers, 2007). En este sentido, en apariencia visual se encontró que de los 8 a 12 DDA, los tratamientos de refrigeración fueron estadísticamente diferentes con respecto al de 20 °C, en el cual sólo hasta los 6 DDA se tuvo una buena apariencia, debido a que la calidad visual declina linealmente con el incremento en los días de almacenamiento y temperatura (López y Runkle, 2008). Los tratamientos bajo refrigeración tuvieron una buena apariencia hasta los 14 DDA, donde el tratamiento de 10 °C presentó la mejor apariencia en dicho día y durante todo el almacenamiento; los resultados obtenidos se asemejan a reportes en albahaca almacenada en condiciones experimentales de refrigeración a 10 °C por 10 días de almacenamiento, donde la calidad visual fue excelente y aún después de cuatro semanas (Cantwell y Reid, 1993). Por esta razón, la temperatura es el factor más importante en la vida de las hierbas frescas, al igual que en otros productos perecederos (Cantwell y Reid, 2007).

En lo que respecta a la pérdida de turgencia, a los 4 y 12 DDA las diferencias estadísticas se presentaron entre los tratamientos de refrigeración con el de 20 °C; sin embargo, de los 6 a 10 DDA, sólo hubo diferencias estadísticas entre el tratamiento de 5°C con el de 20 °C, éste último fue estadísticamente igual al de 10 °C. En este contexto, resalta el tratamiento de 5°C, en el cual se presentó la mejor turgencia durante los DDA; estos resultados concuerdan con Núñez *et al.*

(2012) quienes reportaron que la turgencia en albahaca sin acolchar, almacenada en refrigeración de 5 °C se mantuvo hasta los 12 DDA.

Por otra parte, en pudrición sólo hubo diferencias estadísticas a los 10 y 12 DDA donde la mayor pudrición se presentó en el almacenamiento a 20 °C. La disminución de la pudrición en los tratamientos de refrigeración probablemente se debió a que los microorganismos causantes de las pudriciones, reducen su actividad metabólica cuando se exponen a bajas temperaturas y a humedades cercanas al punto de saturación (Namesny, 1993).

En el aroma, no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos durante los DDA, no obstante, en los tres tratamientos, éste permaneció hasta los 6 DDA y después de los 14 DDA ya no fue perceptible, probablemente debido a una pérdida de compuestos del tipo bencenoides (Klimánková *et al.*, 2008), por el efecto de la refrigeración y el tiempo de almacenamiento, ya que la producción de compuestos volátiles es responsable del aroma, el cual es muy importante para la calidad comestible (Kader, 2007). Por su parte, de los 8 a 12 DDA, los tratamientos de refrigeración presentaron más aroma que el de 20 °C, aunque ésta percepción fue tan poca que no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos, ya que el olor debe poseer ciertas propiedades moleculares con el fin de producir una impresión sensorial y debe ocurrir en una concentración suficientemente alta para tener la capacidad de interactuar con uno o más de los receptores olfativos (Schwab, 2008).

Cuadro 5. Evaluación hedónica en albahaca ‘Nufar’ almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Apariencia visual									
5	5.0a ^z	5.0a	4.0a	4.0a	4.0a	3.5a	2.8a	1.3a	1.0a
10	5.0a	5.0a	4.0a	4.0a	4.0a	3.8a	3.0a	1.8a	1.3a
20	5.0a	4.3a	3.3a	2.8b	1.5b	1.0b			
Pérdida de turgencia									
5	5.0a	5.0a	5.0a	5.0a	5.0a	4.0a	3.0a	1.5a	1.5a
10	5.0a	5.0a	4.8ab	4.0ab	4.0ab	3.8a	3.0a	1.5a	1.3a
20	5.0a	4.0b	4.0b	3.3b	2.3b	1.0b			
Pudrición									
5	0.0a	0.0a	0.8a	1.0a	1.8b	2.0b	2.0a	2.8a	3.5a
10	0.0a	0.0a	0.8a	1.0a	2.0b	2.0b	2.0a	2.0a	3.0a
20	0.0a	0.0a	1.0a	1.3a	3.0a	4.0a			
Presencia de aroma									
5	1.0a	1.0a	1.0a	1.3a	1.5a	1.8a	2.0a	2.0a	2.0a
10	1.0a	1.0a	1.0a	1.3a	1.5a	1.8a	2.0a	2.0a	2.0a
20	1.0a	1.0a	1.0a	1.5a	1.8a	2.0a			

^zMedias con la misma letra, dentro de columnas, son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de comparaciones de medias de rangos de Kruskal-Wallis a una $P \leq 0.05$. TEM: Temperatura de almacenamiento.

2.6. CONCLUSIONES

El almacenamiento en refrigeración logró prolongar la vida poscosecha de la albahaca ‘Nufar’. En el tratamiento de 5 °C, se conservó una buena calidad hasta los 10 días. La refrigeración a 10 °C fue la mejor, ya que preservó las características fisicoquímicas, fisiológicas, bioquímicas y sensoriales de la albahaca por 14 días de almacenamiento; contrario al tratamiento de temperatura ambiente (20 °C) en donde la calidad de la albahaca ‘Nufar’ sólo se mantuvo durante 4 días.

2.7. LITERATURA CITADA

- AHARONI, N.; REUVENI, A.; DVIR, O. 1989. Modified atmospheres in film packages delay senescence and decay of fresh herbs. *Acta Hort.* 258: 255-262.
- ANÓNIMO. 1990. Official Methods and Analysis. Official Analytical Chemists (AOAC). SIDNEY, W. (Ed). Washington, D. C. USA. 1094 p.
- ANÓNIMO. 2013. Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). México, [en línea]. Disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx> (Consultado el 16 de mayo del 2013).
- APELAND, J. 1971. Factors affecting respiration and colour during storage of parsley. *Acta Hort. (ISHS)* 20: 43-52.
- ARCILA L., C. C.; LOARCA P., G.; LECONA U., S.; GONZÁLEZ M., E. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *ALAN.* 54(1): 100-111.
- ÁVILA R., H. G.; CUSPOCA R., J. A.; FISCHER, G.; LIGARRETO M., G. A.; QUICAZÁN C., M. C. 2007. Caracterización fisicoquímica y organoléptica del fruto de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) almacenado a 2 °C. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 60(2): 4179-4193.
- BEN Y., 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.
- BORGES M., R. M.; VON A., M. C.; MACHADO P. S., M. E. 2004. Análisis sensorial y ácido ascórbico de hortalizas en fresco y ultracongeladas. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 4(4): 240-245.
- BOROVSKY, Y.; PARAN, I. 2008. Chlorophyll breakdown during pepper fruit ripening in the chlorophyll retainer mutation is impaired at the homolog of the senescence inducible stay-green gene. *Theoretical and Applied Genetics* 117: 235–240.
- BRADY, C. J.; SPEIRS, J. 1991. Ethylene in fruit ontogeny and abscission, pp. 235-258. *In: The Plant Hormone Ethylene.* MATTOO, A. K.; SUTTLE, J. C. (eds.). CRC Press. USA.

- BÜCHI, R.; BACHMANN, M.; KELLER, F. 1998. Carbohydrate metabolism in source leaves of sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.), a starch-storing and stachyose-translocating labiate. *J. Plant Physiol.* 153: 308-315.
- BURG, S. P. 2004. *Postharvest Physiology and Hypobaric Storage of Fresh Products*. CABI Publishing, Wallingford UK. 654 p.
- CAMPO V., Y.; GÉLVEZ O., V. M. 2011. Efecto de la termosonicación sobre las propiedades fisicoquímicas del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) fresco empacado al vacío. *Bistua* 9(2): 55-63.
- CANTWELL, M. I.; REID, M. S. 1993. Postharvest physiology and handling of fresh culinary herbs. *Journal Herbs Spices and Medicinal Plants* 1(3): 93-127.
- CANTWELL, M. I.; REID, M. S. 2006. Hierbas: (Hierbas frescas culinarias). *Postharvest Technology Research Information Center*. University of California, Davis, USA. 3 p.
- CANTWELL, M. I.; REID, M. S. 2007. Sistemas de manejo postcosecha: hierbas frescas, pp. 367-372. *In: Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas*. KADER, A. A. (ed.). Series de Horticultura Poscosecha No. 24. University of California, Davis, USA.
- DA SILVA, F.; SILVA S., R. H.; DE ANDRADE, N. J.; ALMEIDA B., L. C.; DIAS C., V. W.; DE LIMA, R. R.; DE MELO P., R. V. 2005. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. *Pesq. Agropec. Bras.* 40(4): 323-328.
- DI RIENZO, J. A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M. G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C. W. 2008. *InfoStat, versión 2008*, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- FRANKE, A. A.; CUSTER, L. J.; ARAKAKI, C.; MURPHY, S. P. 2004. Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis* 17(1): 1-35.
- HASSAN, F. A. S.; MAHFOUZ, S. A. 2010. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on sweet Basil leaf senescence and ethylene production during shelf-life. *Postharvest Biology and Technology* 55: 61-65.
- HERNÁNDEZ D., L.; RODRÍGUEZ J., M. 2001. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Rev. Cubana Plant. Med.* 2: 44-7.

- KADER, A. A. 2007. Biología y tecnología postcosecha: un panorama, pp. 43-53. *In: Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas*. KADER, A. A. (ed.). Series de Horticultura Poscosecha No. 24. University of California, Davis, USA.
- KALT, W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science* 70: 11–19.
- 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(21): 8596–8603.
- KLIMANKOVA, E.; HOLADOVA, K.; HAJŠLOVA, J.; CAJKA, T.; POUŠTKA, J.; KOUDELA, M. 2008. Aroma profiles of five Basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. *Food Chemistry* 107: 464–472.
- KOPSELL, D. A.; KOPSELL, D. E.; CURRAN, J. C. 2005. Carotenoid and chlorophyll pigments in Sweet Basil grown in the field and greenhouse. *HortScience* 40(5): 1230-1233.
- LANGE, D. D.; CAMERON, A. C. 1994. Postharvest shelf life of sweet Basil (*Ocimum basilicum*). *HortScience* 29(2): 102–103.
- LEE, S. L.; KADER, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology* 20: 207–220.
- LEWERS, S. K.; LUO, Y.; VINYARD, T. B. 2012. Evaluation strawberry breeding selections for postharvest fruits decay. *Euphytica* 186(2): 539-555.
- LICHTENTHALER, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids, pigments of photosynthetic biomembranes, pp. 351-379. *In: Methods in Enzymology*. PACKER, L.; DONCE, R. (eds.). Academic Press Inc. New York, USA.
- LOAIZA, J.; CANTWELL, M. I. 1997. Postharvest physiology and quality of cilantro (*Coriandrum sativum* L.). *HortScience* 32(1): 104-107.
- LÓPEZ, G. R.; RUNKLE, S. E. 2008. Low-temperature storage influences morphological and physiological characteristics of nonrooted cuttings of New Guinea impatiens (*Impatiens hawkeri*). *Postharvest biology and Technology* 50(1): 95-102.

- MAJCHRZAK, D.; MITTER, S.; ELMADFA, I. 2004. The effect of ascorbic acid on total antioxidant activity of black and green teas. *Food Chemistry* 88: 447–451.
- MARTÍNEZ D., M. T.; CANTWELL, M. I. 2002. Cambios de calidad en espinaca almacenada en atmosferas controladas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 8(1): 49-62.
- MARTÍNEZ, R. D.; BAILEN, G.; SERRANO, M.; GUILLÉN, F.; VALVERDE, J.; ZAPATA, P.; CASTILLO, S.; 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.
- MOSER, U. 2006. Vitaminas, ácidos grasos, carotenoides y la salud. *Revista Indualimentos* 9(42): 18-22.
- NAMESNY, V. A. 1993. Post-recolección de Hortalizas. Ediciones de Horticultura, S. L. Barcelona, España. 330 p.
- NEI, D.; UCHINO, T.; SAKAI, N.; TANAKA, S. I. 2005. Effect of high temperature on the apparent activation energy of respiration of fresh produce. *Postharvest Biology and Technology* 37(3): 213-22.
- NÚÑEZ L., V.; MARTÍNEZ D., M. T.; COLINAS L., M. T. 2012. Fisiología poscosecha de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con y sin acolchado. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 18(3): 307-315.
- 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.
- RAPISARDA, P.; LO BIANCO, M.; PANNUZZO, P.; TIMPANARO, N. 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biology and Technology* 49: 348–354.
- RYUGO, K. 1993. Fruticultura: ciencia y arte. AGT Editor, México. 460 p.
- SAHLIN, E.; SAVAGE, G. P.; LISTER, C. E. 2004. Investigation of antioxidant properties of tomatoes after processing. *Journal Food Composition and Analysis* 17(5): 635-647.

- SAS. 2002. SAS/STAT users guide: Statics, Ver. 9.00. SAS Institute Inc. Cary, North Caroline, USA. 1503 p.
- SCHWAB, W.; DAVIDOVICH R., R.; LEWINSOHN, E. 2008. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The Plant Journal* 54: 712–732.
- SHEWFELT, R. L.; RÜCKNER, B. 2003. Fruit and vegetable quality. Technomic Publishing Company Inc. Pensilvania, USA. 330 p.
- SMITH, P. J.; RAMASWAMY, H. S.; RANGANNA, B.; VIJAYA, R. G. S. 2003. Packaging of fruits and vegetable, pp. 539-554. *In: Handbook of Postharvest Technology*. CHAKRAVERTY, A.; MUJUMDA, R. S. A.; RAGHAVAN, S. G. V.; RAMASWAMY, H. S. (eds.). Marcel Dekker Inc. New York, USA.
- 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.
- SPEISKY, H.; ROCCO, C.; CARRASCO C., LISSI, E. A.; LÓPEZ A., C. 2006. Antioxidant screening of medicinal herbal teas. *Phytother. Res.* 20(6): 462-467.
- TANAKA, Y; SASAKI, N.; OHMIYA, A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* 54: 733–749.
- TAVARINI, S.; DEGL I., 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, J. E. 2007. Sistemas de almacenamiento, pp. 131-148. *In: Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas*. KADER, A. A. (ed.). Series de Horticultura Poscosecha No. 24. University of California, Davis, USA.
- URQUIAGA, I.; URZÚA, U.; LEIGHTON, F. 1999. Antioxidantes Naturales. Impacto en la Salud. VIII Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites. Santiago de Chile. 24-27 Octubre.
- VICENTE, A. R.; MANGANARIS, G. A.; SOZZI, G. O.; CRISOSTO, C. H. 2009. Nutritional quality of fruits and vegetables, pp. 58-106. *In: Postharvest Handling: A System Approach*. FLORKOWSKI, W. J.; SHEWFELT, R. L.;

BRUECKNER, B.; PRUSSIA, S. E. (eds.). Elsevier Inc. Academic Press. USA.

WILLS, R. B.; MCGLASSON, W. B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. 1998. Postharvest. CAB International. Wallingford, Uk. 262 p.

YAMAUCHI, N.; WATADA, A. E. 1991. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(1): 58-62.

YAMAUCHI, N.; WATADA, A. E. 1993. Pigments changes in Parsley leaves during storage in controlled or ethylene containing atmosphere. Journal of Food Science 58(3): 616-618.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J. Agric. Food Chem. 49: 5165-5170.

**3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ENZIMÁTICA DE ALBAHACA ‘NUFAR’
(*Ocimum basilicum* L.) EN FRIGOCONSERVACIÓN²**

²López, B., E.; M. T. Martínez D.; M. T. Colinas L.; C. Bautista B.; J. Martínez S.; J. E. Rodríguez P. Enviado a la Revista Agronomía Mesoamericana, 07/11/13.

3.1. RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la frigoconservación sobre la capacidad antioxidante y actividad enzimática en albahaca 'Nufar'. Para lo cual, manojos de esta planta previamente empacados en película plástica se almacenaron a 5, 10 y 20 °C, por 18 días. Cada dos días, se determinaron fenoles totales (FET) y capacidad antioxidante (CAP), mediante extracto de acetona; proteína (PRO) y la actividad de las enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa (POD) y polifenoloxidasas (PFO) a partir de polvo de acetona. En los tratamientos de 5 y 10 °C se incrementó el contenido de FET (4.2 mg·kg⁻¹ de PF) hasta los 10 días de almacenamiento (DDA); en el tratamiento de 10 °C la CAP presentó los mayores valores a los 8 DDA (79.1 mg VCEAC·g⁻¹ de PF); el contenido de PRO se incrementó durante el almacenamiento. La refrigeración aumentó la actividad de CAT, con respecto al testigo, aunque durante el almacenamiento fue en decremento. Por su parte, la actividad de la SOD disminuyó considerablemente en los tratamientos de refrigeración a los 6 DDA (1.6 U·mg⁻¹ de P). Con respecto al testigo, la refrigeración disminuyó la actividad de la POD y PFO durante el almacenamiento, no obstante, a los 10 DDA se presentó la mayor actividad de estas enzimas en los tres tratamientos. Con la refrigeración disminuyó el contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante y la actividad enzimática de la POD; asimismo aumentó la actividad de la PFO, CAT y SOD.

Palabras clave adicionales: conservación, estrés oxidativo, daños por frío.

3.2. ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of cold storage on the antioxidant capacity and enzymatic activity in basil 'Nufar'. Bunches of this plant, pre-packaged in plastic film, were stored at 5, 10 and 20 °C for 18 days. Every other day, total phenolics were determined (FET) and antioxidant capacity (CAP) using acetone extract, protein (PRO) and the activity of the enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and polyphenol (PFO) from acetone powder. In treatments 5 and 10 °C was increased FET content ($4.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ PF}$) up to 10 days of storage (DDA), in the treatment of 10 °C, showed the highest values CAP at 8 DDA ($79.1 \text{ mg VCEAC}\cdot\text{g}^{-1} \text{ PF}$), PRO content increased during storage. Cooling temperatures increased CAT activity relative to the control, (room temperatures) but it decreased as time of storage increased. For its part, the activity of SOD significantly decreased in the cooling treatment after 6 DDA ($1.6 \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ P}$). Cooling temperatures decreased the activity of POD and PFO during storage, compared to the control; however, the 10 DDA presented increased activity levels of these enzymes for the three treatments. Cooling temperatures decreased the total phenolic content, antioxidant capacity and POD enzymatic activity, and increased the activity of the PFO, CAT and SOD.

Additional key words: conservation, oxidative stress, cold damage.

3.3. INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas y vegetales es de gran importancia en la protección y prevención del envejecimiento, cáncer, enfermedades cardiovasculares y crónico-degenerativas, causadas por el estrés oxidativo, que origina la liberación de radicales libres de oxígeno en el cuerpo. Dichos radicales son controlados por el contenido y capacidad de compuestos antioxidantes que protegen a las células (Kaur y Kapoor, 2001; Arcila *et al.*, 2004; Soto *et al.*, 2012) mediante la donación de uno de sus propios electrones (Kaur y Kapoor, 2001).

Los radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ERO) son moléculas que reaccionan rápidamente con otros compuestos, tratando de capturar electrones necesarios para ganar estabilidad (Kaur y Kapoor, 2001); entre los derivados del oxígeno se incluyen los radicales: superóxido (O_2^-), hidroxilo (OH^\cdot), hidroperoxilo (HOO^\cdot), peroxilo (ROO^\cdot) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Prior y Cao, 2000; Rodríguez *et al.*, 2006).

Generalmente las plantas con alta capacidad antioxidante contienen más antioxidantes, la mayoría de ellos son compuestos fenólicos (Wang *et al.*, 1996; Connor *et al.*, 2002). En plantas aromáticas este efecto antioxidante se debe a la presencia de grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos (Shahidi *et al.*, 1992); en el caso de albahaca se ha evidenciado que contiene altos niveles de ácidos fenólicos que contribuyen a su fuerte capacidad antioxidante (Zheng y Wang, 2001). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes

reductores, donantes de hidrógeno y extintores del oxígeno singlete (Javanmardi *et al.*, 2003).

Otro mecanismo de control para prevenir el estrés oxidativo en las células, debido a la generación de ERO, es la acción de enzimas tales como la catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) (Sharma *et al.*, 2008); la CAT convierte al H_2O_2 , potencialmente peligroso, en oxígeno molecular y agua, mientras que la SOD cataliza la conversión de los superóxidos a H_2O_2 y O_2 (Hammer, 1993; Oueslati *et al.*, 2010).

Por otro parte, un tema de interés en nutrición es el de proveer sustancias antioxidantes mediante la dieta diaria para evitar efectos nocivos en la salud (Rodríguez *et al.*, 2006), por lo cual, las plantas aromáticas se han estudiado ampliamente, para buscar antioxidantes naturales y así reemplazar a los de origen sintético, debido a la preocupación de los consumidores sobre la seguridad de éstos (Kirca y Arslan, 2008).

Con relación a esto, para conservar la frescura y propiedades naturales de las hierbas aromáticas se recomienda que su almacenamiento sea en refrigeración (Cantwell y Reid, 2007). Para el caso de la albahaca no debe ser a temperaturas menores de 5 °C puesto que presenta daños por frío (Lange y Cameron, 1994; Núñez *et al.*, 2012).

Los daños por frío pueden ocasionar oscurecimiento en vegetales, siendo una de las principales causas de pérdida poscosecha (Salveit y Morris, 1990; Balois *et al.*, 2008). Este pardeamiento es consecuencia de la oxidación de compuestos fenólicos; una vez que las paredes y membranas celulares pierden su integridad, la oxidación enzimática se inicia rápidamente, siendo visible la

coloración marrón, que afecta la apariencia (Pathare *et al.*, 2013). En este contexto, las enzimas polifenoloxidasa y peroxidasa catalizan la oxidación de fenoles a quinonas, las cuales al reaccionar con proteínas y otros compuestos generan colores pardos y reducen las propiedades sensoriales de textura, color y sabor, disminuyendo la calidad nutricional del alimento (Martínez y Muñoz, 2001; Stewart *et al.*, 2001; Ortega *et al.*, 2010).

El contenido de antioxidantes es cada vez más importante con respecto a su funcionalidad en la salud y calidad en hortalizas; por lo cual, es de gran interés evaluar los cambios del contenido antioxidante durante el almacenamiento poscosecha (Kaur y Kapoor, 2001; Ayala *et al.*, 2004). De igual forma, la actividad enzimática ha servido en frutos como indicador de alteraciones metabólicas intrínsecas, manifestadas como desordenes fisiológicos externos (Pérez *et al.*, 1999). Lo anterior hace conveniente cuantificar la actividad de enzimas como CAT y SOD, las cuales catalizan las reacciones que disminuyen las concentraciones de ERO que en algunas plantas se incrementan por el frío durante el almacenamiento (Sala y Lafuente, 2000; Aquino y Mercado, 2004).

Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la frigoconservación a 5 y 10 °C; y 20 °C (temperatura ambiente) sobre la capacidad antioxidante y actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa y polifenoloxidasa involucradas en los procesos de estrés oxidativo y daños por frío en albahaca 'Nufar'.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. El material vegetal fue albahaca 'Nufar', del ciclo primavera-verano de 2012, con calidad de exportación, proporcionado por la empresa Glezte S.P.R. de R.L., localizada en Axochiapan, Morelos. Una vez cosechada la planta se pre-enfrió por 24 hrs a 10 °C; posteriormente se elaboraron empaques, con un peso de 250 g de albahaca cada uno, en bolsas de polietileno de baja densidad de 40 x 60 cm con 6 perforaciones de 0.5 cm de diámetro por lado.

Ubicación del experimento y tratamientos. El experimento y análisis de variables se realizó en el Laboratorio de Usos Múltiples de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en Texcoco, Estado de México, México. La albahaca empacada se almacenó durante 18 días a 5 y 10 °C (en cámaras frigoríficas), así como a temperatura ambiente (20 ± 2 °C); cada dos días, las muestras se transfirieron a un ultracongelador (-20 °C), para su posterior procesamiento. Las variables evaluadas fueron fenoles totales y capacidad antioxidante, mediante extracto de acetona; mientras que proteína y las enzimas catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa y polifenoloxidasas se determinaron a partir de polvo de acetona. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar; la unidad experimental consistió de un empaque de 250 g, con cuatro repeticiones por tratamiento (cada repetición con cuatro sub-repeticiones), por día de evaluación.

Polvo de acetona. Concluido el período de almacenamiento, se preparó polvo de acetona (PAC) con las muestras congeladas (Alia *et al.*, 2005), a partir de 25

g de hojas (sin peciolo) más 50 mL de acetona en congelación (-15 °C), los cuales se homogenizaron en licuadora por 25 s y se filtró al vacío; después de realizar en nueve ocasiones este procedimiento, el extracto de acetona (EAc) colectado de las filtraciones se guardó en refrigeración (4±2 °C), mientras que el PAc se dejó secar a temperatura ambiente (20±2 °C), después de 15 min se pesó y almacenó en un ultracongelador (-20 °C). El peso del PAc se determinó en función de la relación peso fresco de hojas maceradas entre peso del polvo seco.

Todas las homogeneizaciones mencionadas en la metodología se realizaron en baño de hielo, mediante un homogeneizador de tejidos (IKA-T25) a 12000 rpm. Las lecturas de las muestras se realizaron en un espectrofotómetro (Genesis-10UV). Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente del laboratorio (24±2 °C) y los resultados de la actividad de las enzimas se reportaron en unidades de actividad enzimática por mg de proteína (U·mg⁻¹ de P).

Fenoles totales. Se cuantificaron por el método de Folin y Ciocalteu (Waterman y Mole, 1994). A 0.1 mL de EAc se adicionó 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 2 h en oscuridad; después las muestras se leyeron en absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro. Por medio de una curva patrón de ácido tánico, los resultados se reportaron en mg·kg⁻¹ de peso fresco (mg·kg⁻¹ de PF).

Capacidad antioxidante. Se determinó de acuerdo con el método ABTS [2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)] (Rice *et al.*, 1997) modificada

por Ozgen *et al.* (2006). Una solución de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM) se reservó en oscuridad durante 24 h a temperatura ambiente; posteriormente, la solución se diluyó con amortiguador fosfato (pH 7.4) hasta obtener un valor en absorbancia de 0.700 nm \pm 0.02 en espectrofotómetro calibrado a 734 nm. El ensayo de las muestras se realizó con 3.9 mL de solución de ABTS (a 700 nm) y 0.1 mL de extracto etanólico de PAc (0.05 g de PAc en 5 mL de etanol, homogeneizados con 24 hrs de reposo), después de 2 hrs, la lectura se realizó a 734 nm. La cuantificación se realizó mediante curva de calibración con ácido ascórbico, los valores se reportaron en actividad antioxidante equivalente a vitamina C (VCEAC).

Proteína. Para su cuantificación se empleó el método de Bradford (1976). Para lo cual, se homogeneizaron por 10 s, 0.05 g de PAc con 5 mL de Tris-HCl (0.1 M, pH 7.1) el cual tenía 1 % de polivinilpirrolidona (PVP). La mezcla se centrifugó a 12000 x g por 40 min a 4 °C. Se tomaron 0.2 mL del sobrenadante y se le adicionaron 5 mL de solución Coomassie Blue, se agitó y después de 12 min se registró la absorbancia a 595 nm. La cuantificación se hizo mediante una curva de calibración con albúmina de bovino y se reportó en mg de proteína·kg⁻¹ de PF.

Catalasa (EC. 1.11.1.6; CAT). La CAT se extrajo de 0.05 g de PAc, éste se homogeneizó con 5 mL de Tris-HCl (0.1 M, pH 8.5) que contenía 1 % de PVP. La mezcla se centrifugó a 12000 x g por 40 min a 4 °C, se conservó el sobrenadante. La actividad de CAT se determinó por el método descrito por Lück (citado 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, se observó el cambio en absorbancia a 240 nm, tomando lecturas a los 15 y 180 s.

Superóxido dismutasa (EC. 1.15.1.1; SOD). La extracción de esta enzima se realizó de 0.05 g de PAc, al cual, se le adicionaron 5 mL de amortiguador (0.1 M, pH 7.8) y se homogeneizaron por 20 s; la mezcla se centrifugó a 12000 x g por 30 min a 4 °C, se guardó el sobrenadante para el ensayo enzimático, en el que se empleó la metodología propuesta por Beyer y Fridovich (1987); donde se mezclan 27 mL de amortiguador fosfato (0.05 M, pH 7.8), que contenía 0.1 mM de EDTA, 1.5 mL de L-metionina (30 mg·mL⁻¹), 1 mL de nitro blue tetrazolium (1.41 mg·mL⁻¹) 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⁻¹); la mezcla se agitó e iluminó por 7 min con luz fluorescente, posteriormente las lecturas se hicieron en absorbancia a 560 nm.

El incremento en absorbancia debido a la formación de Nitro Blue Tetrazolium formazán por unidad de tiempo, equivale a la velocidad de reacción, y la absorbancia en ausencia de SOD y en presencia de varias cantidades de SOD es usada para determinar el número de unidades·ml⁻¹ de SOD en la solución (Stauffer, 1989). Una unidad de SOD es igual a la cantidad de sobrenadante que foto-inhibe el 50 % de la formación de Nitro Blue Tetrazolium formazán (Giannopolitis y Ries, 1977).

Peroxidasa (EC. 1.11.1.7; POD). La POD se extrajo de 0.05 g de PAc que se homogeneizaron por 10 s, con 5 mL de Tris-HCl (0.1 M, pH 7.1) el cual tenía 1 % de PVP, la mezcla se centrifugó a 12000 x g por 40 min a 4 °C, se conservó el sobrenadante. La actividad de la enzima se evaluó de acuerdo con 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 de ensayo, con un volumen total de 3 mL, se determinó el cambio de absorbancia a 470 nm y las lecturas se realizaron a los 30 y 120 s.

Polifenoloxidasas (EC. 1.14.18.1; PFO). Esta enzima se extrajo con el procedimiento utilizado en la extracción de la POD. La actividad enzimática de la PFO se evaluó mediante el método propuesto por Lamikanra (1995) en el cual se emplearon 3 mL de catecol (60 mM) disuelto en amortiguador Tris-HCl (0.1 M, pH 7.1) y 0.2 mL del sobrenadante, con esta mezcla se evaluó el cambio de absorbancia a 420 nm, tomando las lecturas a los 10 y 60 s.

Los datos obtenidos se sometieron a ANAVA y prueba de medias de Tukey ($\alpha=0.05$) con el programa estadístico SAS® (Statistical Analysis System, ver. 9.0) (SAS, 2002).

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fenoles totales. La preservación del contenido fenólico tiene un gran impacto en la calidad debido a que la contribución de los fenoles no sólo afecta las reacciones de pardeamiento enzimático, sino también influye sobre el valor nutricional del producto (Kevers *et al.*, 2007). Éste contenido, de los 4 a 10 DDA se incrementó en los tratamientos de refrigeración y fueron estadísticamente iguales entre ellos, pero diferentes al de 20 °C, el cual presentó los valores más altos después de 4 DDA y durante el almacenamiento. Según Kevers *et al.*

(2007) el contenido de compuestos fenólicos es constante en el almacenamiento, sin embargo en casos como ciruela, tomate, brócoli, o uva negra (lisán) se presentó un breve aumento de los compuestos fenólicos durante unos pocos días; también en raíces de jícama en condiciones de frío se ha reportado el incremento en el contenido de fenoles (Cantwell *et al.*, 2002). Asimismo, en fresas almacenadas a 5°C y 10 °C, se observó un incremento continuo en el contenido de fenoles totales (FET), aunque en almacenamiento a 0 °C, él contenido presentó un valor constante durante el almacenamiento, esto sugiere que la temperatura y tiempo de almacenamiento tienen un efecto sobre compuestos fenólicos (Ayala *et al.*, 2004). Entre algunos cultivares de albahaca se ha reportado diferencias en las concentraciones de FET; es el caso de las variedades Spice Blue y Gecofure los cuales presentaron niveles más altos de FET, que los cultivares Limón Sweet Dani y Nufar (Kwee y Niemeyer, 2011). A 12 DDA, hubo diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos, donde el testigo presentó el mayor valor (4.9 mg·kg⁻¹ de PF); mientras que los tratamientos de refrigeración presentaron una disminución del contenido de FET. Al respecto, Kalt (2005) comenta que los niveles de antioxidantes fenólicos parecen ser más sensibles a las condiciones ambientales pre y poscosecha, aunque el contenido de ciertos compuestos fenólicos en realidad puede aumentar durante las condiciones adecuadas de almacenamiento. Posteriormente, en los tratamientos de refrigeración a 16 y 18 DDA, nuevamente se incrementó el contenido de FET y el tratamiento de 10 °C presentó los valores más altos, siendo estadísticamente diferente al de 5 °C. Esto probablemente se debió a que en el almacenamiento prolongado los

fenoles presentan un estado de oxidación intermedio, con mayor actividad captadora de radicales, por lo cual promueven o mejoran la oxidación enzimática (Kaur y Kapoor, 2001).

Capacidad antioxidante. Ésta se incrementó de 2 a 8 DDA en los tratamientos de 5 y 10 °C los cuales fueron estadísticamente diferentes al de 20 °C, éste último con los valores más altos durante todo el almacenamiento. En algunos casos se ha observado un aumento de la capacidad antioxidante (CAP) cuando los productos agrícolas se almacenan a temperatura ambiente o en refrigeración; este aumento transitorio se observó en pimiento amarillo, espárragos y ciruela, sin embargo, disminuyó durante el almacenamiento de albaricoque, espinacas, plátano, brócoli y puerros (Kevers *et al.*, 2007). En frutos de fresa se ha observado que la CAP y el contenido de FET aumentan cuando la temperatura de almacenamiento es elevada, resultados observados en fresas almacenadas a 10 °C, las cuales presentaron alta actividad antioxidante, en comparación con las almacenadas a temperaturas de 0 a 5 °C (Ayala *et al.*, 2004; Jin *et al.*, 2011). A los 8 y 10 DDA los tratamientos a 10 y 20 °C, presentaron los mayores valores (79.9 mg VCEAC·g⁻¹ de PF), y a los 12 DDA hubo diferencia estadística entre los tres tratamientos, siendo el de 20 °C el de mayor CAP (87.4 mg VCEAC·g⁻¹ de PF). Dada la relativa actividad antioxidante de albahaca, se sugiere que ésta puede constituir una fuente de compuestos fenólicos antioxidantes en la dieta (Juliani y Simon, 2002), además se considera que cada hierba generalmente contiene diferentes compuestos fenólicos, y cada uno de estos compuestos posee diferentes cantidades de

actividad antioxidante (Javanmardi *et al.*, 2003; García *et al.*, 2004). Puesto que diversos factores tienen un efecto directo sobre la presencia de antioxidantes individuales, tales como el cultivar, temporada de cosecha, factores genéticos o ambientales (Oboh, 2004), sistemas culturales, temperaturas de almacenamiento (Jin *et al.*, 2011), y grado de madurez (Ahmed y Hussain, 2009; Ghasemnezhad *et al.*, 2011). Para el caso de *O. basilicum*, el ciclo de cultivo afectó la CAP de sus aceites esenciales, puesto que éstos, obtenidos a partir de cultivos de primavera e invierno mostraron una mayor actividad antioxidante que las cosechadas durante el otoño y verano (Hussain *et al.*, 2008). De los 10 a 18 DDA hubo una disminución en la CAP en los tratamientos de refrigeración y a los 14 DDA, hubo diferencia estadística entre los tratamientos de 5 y 10 °C, siendo éste último el que presentó los mayores valores (65.7 mg VCEAC·g⁻¹ de PF). Algunos autores mencionan que la alta actividad antioxidante depende del contenido fenólico total (Ahmed y Hussain, 2009), encontrando correlación directa entre los valores de fenoles y los de VCEAC (Kuskoski *et al.*, 2005). No obstante, estas inferencias deben interpretarse con cautela, ya que se han obtenido usando el método de Folin-Ciocalteu, el cual es ampliamente aceptado, aunque no es muy específico, ya que, los compuestos fenólicos y otros compuestos reductores son cuantificados simultáneamente (Santos y Scalbert, 2000). Esto sugiere que la actividad antioxidante no está limitada a los compuestos fenólicos y puede provenir de la presencia de otros metabolitos secundarios antioxidantes, tales como aceites volátiles, carotenoides, vitaminas (Javanmardi *et al.*, 2003); o flavonoides en albahacas verdes y antocianinas en albahacas moradas (Juliani y Simon, 2002).

La capacidad de la albahaca como antioxidante natural puede deberse a la alta prevalencia de compuestos fenólicos, siendo el ácido rosmarínico, el principal componente activo que se encuentra en *O. basilicum*, se ha comprobado que tiene valor medicinal y su actividad antioxidante es superior a la vitamina E (R-tocoferol) (Jayasinghe *et al.*, 2003). En *O. sanctum* sus constituyentes interrumpen la cadena de los radicales libres de oxidación mediante la donación de hidrógeno del grupo hidroxilo del fenol, formando de este modo radicales libres estables, evitando así el posterior pardeamiento (Tabassum *et al.*, 2009).

Proteína. A los 8 DDA se presentó un incremento en el contenido de proteína en los tres tratamientos, siendo el de mayor concentración el de 10 °C (4.04 mg·g⁻¹ de PF), que fue estadísticamente diferente al de 5 y 20 °C. Según Tucker (1993) éste incremento en la síntesis de proteínas probablemente se da por varios cambios en las rutas metabólicas de la maduración. Posteriormente se observó un decremento hasta los 12 DDA, donde los tres tratamientos fueron estadísticamente diferentes, siendo el testigo el de mayor contenido (3.96 mg·g⁻¹ de PF). Después de los 12 DDA y hasta los 18 DDA, el contenido de proteína aumentó en los tratamientos de 5 y 10 °C, siendo éste último el de mayor cantidad y diferente estadísticamente al de 5 °C. Asimismo, en frutos como zapote y manzana se ha observado un incremento en proteína soluble en la etapa de madurez fisiológica y posteriormente en la senescencia (Lu *et al.*, 1992; Alia *et al.*, 2005).

Cuadro 1. Fenoles totales, capacidad antioxidante y proteína en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Fenoles Totales (mg·kg⁻¹ de PF)									
5	3.57a ^z	3.74b	3.78b	3.98b	4.21b	3.71c	3.14b	3.52b	4.48b
10	3.66a	3.81b	3.88b	4.07b	4.24b	4.08b	3.97a	4.33a	5.00a
20	3.48a	4.19a	4.28a	4.37a	4.56a	4.97a			
DMSH	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2
Capacidad Antioxidante (mg VCEAC·g⁻¹ de PF)									
5	46.97b	58.78b	60.49b	71.11b	57.01b	56.93c	56.19b	56.32a	49.12a
10	47.51b	62.02b	64.29b	79.06a	75.69a	71.74b	65.66a	62.76a	53.28a
20	62.80a	67.23a	72.75a	78.55a	79.93a	87.44a			
DMSH	6.4	4.9	5.8	4.3	4.7	5.4	6.0	5.1	4.9
Proteína (mg·g⁻¹ de PF)									
5	1.99b	2.85a	2.46b	3.58b	2.91b	2.24c	2.40b	2.61b	2.52b
10	2.40a	2.82a	2.75a	4.04a	3.49a	3.01b	3.35a	3.44a	3.99a
20	2.42a	2.62a	2.76a	3.46b	2.70b	3.96a			
DMSH	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.4	0.4	0.2	0.2

^zMedias con igual letra dentro de la misma columna son estadísticamente iguales según Tukey (p≤0.05). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEM: Temperatura de almacenamiento.

Catalasa. En lo que respecta a la actividad de catalasa (CAT), a los 4 y 8 DDA, los tres tratamientos fueron estadísticamente diferentes, siendo el de 5 °C el que presentó la mayor actividad (14.3 y 11.1 U·mg⁻¹ de P, respectivamente) en estos días y durante el almacenamiento; este incremento de CAT en el tratamiento de 5 °C probablemente se debió a que dicha enzima participa en el mecanismo de defensa contra el estrés por frío (Sala y Lafuente, 2000). A los 6, 10 y 12 DDA hubo diferencia entre los tratamientos de refrigeración con respecto al de 20 °C, tratamiento que reportó los menores valores durante el almacenamiento. Inicialmente en los tratamientos de refrigeración se presentó un incremento en la actividad hasta los 4 DDA, con una posterior disminución hasta los 16 DDA; esto concuerda con Trujillo *et al.* (2006) quienes observaron

en flores de 'Duela', un incremento en la actividad de CAT durante los primeros 10 días, para posteriormente disminuir hasta el día 30. Por su parte, Sala y Lafuente (2000) determinaron en mandarina almacenada a 2 °C, una disminución de CAT de 8.1 a 6.5 U·mg⁻¹ de P, después de dos semanas de almacenamiento. A los 14 DDA hubo diferencia estadística entre los tratamientos de 5 y 10 °C, los cuales disminuyeron a los 16 DDA y se incrementaron a los 18 DDA; este incremento en plantas senescentes sugiere que la producción en forma natural de altos niveles de radicales libres en tejido senescente, promueve una respuesta antioxidante, incrementando la actividad de CAT (Liang *et al.*, 2003).

Superóxido dismutasa. El estrés ambiental puede inducir una mayor producción de superóxidos dentro de los tejidos de la planta; y para la desintoxicación de las especies reactivas de oxígeno, la planta depende de la enzima superóxido dismutasa (SOD) (Kliebenstein *et al.*, 1998); la cual presentó su actividad en mayor proporción a los 2 y 4 DDA en los tratamientos de 5 y 10 °C (2.9 y 2.4 U·mg⁻¹ de P, respectivamente), que fueron estadísticamente diferentes entre sí, y con el de 20 °C (2.0 U·mg⁻¹ de P); estos resultados coinciden con los encontrados en hojas maduras de nuez vómica (*Strychnos nux-vomica*) donde se observó la actividad más alta de la enzima SOD (5.3 U·mg⁻¹ de P) a bajas temperaturas (Vijayakumar *et al.*, 2009). Posteriormente, esta actividad disminuyó hasta los 6 DDA y a partir de los 8 DDA se incrementó hasta el final del almacenamiento, en donde el tratamiento de 5 °C presentó los valores más altos de actividad y únicamente en 16 y 18 DDA fue estadísticamente diferente al de 10 °C. Los resultados concuerdan con un

estudio celular en chicharos donde la actividad de SOD disminuyó con el tiempo, y en la etapa de senescencia esta actividad mostró un aumento considerable (Palma *et al.*, 2006). A 10 DDA, los tratamientos de refrigeración fueron estadísticamente diferentes al de 20 °C, quien presentó un incremento en la actividad (2.7 U·mg⁻¹ de P), igualmente se reportó en extractos de *Ocimum sanctum* un aumento en el nivel de la SOD impidiendo el incremento de los niveles de peroxidación lipídica, lo que atenúa la formación excesiva de especies reactivas de oxígeno (Arivulchelvan *et al.*, 2012). Diversos autores han observado un aumento en la actividad de SOD durante la senescencia, como fue el caso de pera almacenada a 5 °C a los 28 días de almacenamiento (Ding *et al.*, 2009); en pimiento morrón almacenado a 5 °C a los 21 días (Cuadra y Del Amor, 2010); y en manzana almacenada a 0 °C, lo cual sugiere un papel de protección en la senescencia contra radicales libres (Du y Bramlage, 1994).

Cuadro 2. Actividad enzimática de catalasa y superóxido dismutasa en albahaca ‘Nufar’ almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Catalasa (U·mg⁻¹ de P)									
5	11.9a ^z	14.3a	11.0a	11.1a	10.6a	10.2a	9.5a	7.0a	9.8a
10	11.9a	12.6b	11.2a	9.7b	9.6a	8.9a	7.6b	7.5a	11.8a
20	11.2a	9.5c	8.1b	7.0c	4.4b	6.1b			
DMSH	1.5	1.5	1.3	1.3	1.4	1.4	0.9	1.4	2.2
Superóxido dismutasa (U·mg⁻¹ de P)									
5	2.9a	2.8a	1.7a	2.0a	2.2b	2.3a	2.3a	2.4a	3.0a
10	2.4b	2.3b	1.6a	1.7a	2.0b	2.1a	2.0a	2.1b	2.3b
20	2.0c	1.7c	1.7a	1.9a	2.7a	2.0a			
DMSH	0.4	0.4	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3

^zMedias con igual letra dentro de la misma columna son estadísticamente iguales según Tukey (p≤0.05). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEM: Temperatura de almacenamiento

Peroxidasa. Esta enzima se encuentra en la mayoría de los tejidos de la planta y tiene varias funciones relacionadas con la maduración de la fruta, incluyendo la síntesis de la pared celular, los cambios en la plasticidad de la pared celular y lignificación (Zolfaghari *et al.*, 2010). Su actividad se observó a 2, 4, 8 y 12 DDA, con diferencia estadística entre los tratamientos de refrigeración con respecto al testigo, el cual presentó los mayores valores, excepto a los 2 DDA. En los primeros días se observó una ligera disminución en la actividad de la peroxidasa (POD), la cual aumentó posteriormente, esto concuerda con lo observado en flores de gerbera de las variedades Richard y Synphonie, en las cuales se detectó una disminución en la actividad de POD durante los primeros seis días y posteriormente un incremento de la actividad de esta enzima (Amariutei *et al.*, 1986). A 6 y 10 DDA, los tres tratamientos fueron estadísticamente diferentes entre sí, siendo el de 20 °C el que a los 10 DDA presentó la mayor actividad (68.3 U·mg⁻¹ de P), de manera semejante la actividad de POD en flores de gerbera presentó una tendencia a incrementar su actividad durante los primeros 10 días (Trujillo *et al.*, 2006). También en frutos de zapote mamey almacenados a 20 °C se observó que la actividad de POD aumentó durante la maduración (Pérez *et al.* 1999; Alia *et al.*, 2005). A partir de 12 DDA se observó una disminución en la actividad, y a 16 DDA ésta aumentó en los tratamientos de refrigeración particularmente a 5 °C (45.0 U·mg⁻¹ de P). Este decremento e incremento observados en la actividad de la POD concuerdan con los resultados en cultivares de kiwi almacenados en frío a 1 °C, en donde la actividad de la POD aumentó inicialmente y luego disminuyó en la semana 18 de almacenamiento (Zolfaghari *et al.*, 2010).

Polifenoloxidasas. Esta enzima se encuentra ampliamente distribuida en las hojas de las plantas y sus cambios durante la maduración, probablemente se relacionan con la protección de la planta contra el estrés biótico y abiótico (Ortega *et al.*, 2010). En relación a la actividad de la polifenoloxidasas (PFO), a 2 y 10 DDA los tratamientos de refrigeración diferencia estadística significativa con el de 20 °C, el cual presentó los valores más altos de actividad (18.6 y 41.7 U·mg⁻¹ de P). Resultados similares se encontraron en las hojas y durante la maduración del olivo, ya que se observó un incremento significativo y exponencial de la actividad de PFO (Ortega *et al.*, 2010); a la par en frutos de melocotón almacenado a 10 °C también se encontró un aumento gradual en la actividad de PFO en el almacenamiento (Ding *et al.*, 2009). A los 4 y 6 DDA, hubo diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos, siendo el de 5 °C el que presentó los menores valores en estos días (10.9 y 10.4 U·mg⁻¹ de P); probablemente debido a que la enzima fue más estable a temperaturas bajas, pero inestable a temperaturas altas (Kavrayan y Aydemir, 2001). De igual forma en frutos de berenjena almacenados a temperatura ambiente, la actividad de PFO aumentó durante el almacenamiento, mientras que en fruta almacenada a 10 °C, la actividad de esta enzima disminuyó (Mishra *et al.*, 2013). A los 8 y 12 DDA, el tratamiento de 20 °C fue estadísticamente igual al de 10 °C, pero diferente al de 5 °C, el cual presentó los menores valores de actividad en dichos días (16.6 y 18.0 U·mg⁻¹ de P, respectivamente). Después de 12 DDA, la actividad disminuyó en los tratamientos de refrigeración; en un estudio en el que se evaluaron ocho variedades de albahaca también se

encontraron muy bajos niveles de actividad de PFO después de un periodo de almacenamiento de dos meses bajo refrigeración (Venere *et al.*, 2002).

Cuadro 3. Actividad enzimática de peroxidasa y polifenoloxidasas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

TEM (°C)	Días de almacenamiento								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Peroxidasa (U·mg⁻¹ de P)									
5	29.6a ^z	22.2b	25.2b	31.2b	57.6b	49.9b	33.9a	45.0a	74.9a
10	25.1a	20.7b	16.9c	32.2b	49.0c	48.0b	36.7a	33.7b	39.2b
20	17.3b	30.4a	35.0a	38.6a	68.3a	68.0a			
DMSH	7.2	4.6	6.9	6.1	5.7	15.1	5.6	7.4	5.1
Polifenoloxidasas (U·mg⁻¹ de P)									
5	10.9b	10.9c	10.4c	16.6b	31.0b	18.0b	11.4b	14.8a	15.3b
10	11.7b	18.6b	18.7b	25.1a	31.8b	30.1a	20.8a	18.7a	18.9a
20	18.6a	24.8a	25.7a	24.7a	41.7a	32.6a			
DMSH	3.4	3.4	2.9	4.2	3.9	4.5	1.8	4.2	3.2

^zMedias con igual letra dentro de la misma columna son estadísticamente iguales según Tukey ($p \leq 0.05$). DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. TEM: Temperatura de almacenamiento

3.6. CONCLUSIONES

La refrigeración disminuyó el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante, no obstante, aumentó el contenido de proteína y la actividad enzimática de la catalasa y de la superóxido dismutasa. Por su parte la actividad de la peroxidasa y polifenoloxidasas, disminuyó durante el almacenamiento en refrigeración, con relación al testigo a temperatura ambiente.

3.7. LITERATURA CITADA

- AHMED, S.; HUSSAIN B., S. 2009. Ascorbic acid, carotenoids, total phenolic content and antioxidant activity of various genotypes of *Brassica Oleracea* Encephala. J. of Med. and Biol. Sci. 3(1): 1-8.
- 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 and Stearn) II: Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. Revista Fitotecnia Mexicana 28(1): 25-32.
- AMĂRIUTEI, A.; BURZO, I.; ALEXE, C. 1986. Researches concerning some metabolism aspects of cut gerbera flowers. Acta Horticulturae 181: 331-337.
- AQUINO B., E. N.; MERCADO S., E. 2004. Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. Postharvest Biol. Tech. 33: 275-283.
- ARCILA L., C. C.; LOARCA P., G.; LECONA U., S.; GONZÁLEZ M., E. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. ALAN 54(1): 100-111.
- 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.
- AYALA Z., J. F.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; GONZÁLEZ A., G. A. 2004. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. Food Science and Technology 37(7): 687-695.
- BALOIS M. R.; COLINAS L., M. T.; PEÑA V., C. B.; CHÁVEZ F., S. H.; ALIA T., I. 2008. Sistema enzimático antisenescencia catalasa-superóxido dismutasa, de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenados con frío. Revista Chapingo Serie Horticultura 14(3): 295-299.
- BEYER, F. W.; FRIDOVICH, I. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Analytical Biochemistry 161: 559-566.
- BLACKWELL, R. D.; MURRAY, A. J. S.; LEA, P. J. 1990. Enzymes of photorespiratory carbon pathway, pp 129-144. In: Methods in Plant Biochemistry. LEA, P. J. (ed.). Academic Press. USA.

- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analit. Biochem.* 72: 248-254.
- CANTWELL, M. I.; PEISER, G; MERCADO S., E. 2002. Induction of chilling injury in jicama (*Pachyrhizus erosus*) roots: changes in texture, color and phenolics. *Postharvest Biology and Technology* 25: 311-320.
- CANTWELL, M. I.; REID, M. S. 2007. Sistemas de manejo postcosecha: hierbas frescas, pp. 367-372. *In: Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas.* KADER, A. A. (ed.). Series de Horticultura Poscosecha No. 24. University of California, Davis, USA.
- CONNOR, A. M.; LUBY, J. J.; HANCOCK, J. F.; BERKHEIMER, S.; HANSON, E. J. 2002. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 893-898.
- 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(15): 2716-2722.
- DING, Z.; TIAN, S.; MENG, X.; XU, Y. 2009. Hydrogen peroxide is correlated with browning in peach fruit stored at low temperature. *Front. Chem. Eng. China* 3(4): 363-374.
- DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. 1994. Superoxide dismutase activities in senescing apple fruit (*Malus domestica* Borkh.). *J. Food Sci.* 59: 581-584.
- FLURKEY, W. H.; JEN, J. 1978. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in developing peaches. *Journal of Food Science* 43: 1828-1831.
- GARCÍA A. M.; DE PASCUAL T. S.; SANTOS B., C.; RIVAS G., J. C. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84: 13-18.
- GHASEMNEZHAD, M.; SHERAFATI, M.; PAYVAST, G. A. 2011. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods* 3: 44-49.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. 1977. Superoxide dismutases. *Plant Physiology* 59: 309-314.

- HAMMER, E. F. 1993. Oxidoreductases, pp. 221-247. *In: Enzymes in Food Processing*. NAGODAWHITANA, T. (ed). Academic Press. USA.
- HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; HUSSAIN S., S. T.; PRZYBYLSKI, R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry* 108: 986-995.
- JAVANMARDI, J.; STUSHNOFFB, C.; LOCKEB, E.; VIVANCOB, J. M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*. 83:547-550.
- JAYASINGHE, CH.; GOTOH, N.; AOKI, T.; WADA, S. 2003. Phenolics Composition and Antioxidant Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) *J. Agric. Food Chem.* 51: 4442-4449.
- JIN, P.; WANG, S. Y.; WANGA, CH. Y.; ZHENG, Y. 2011. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. *Food Chemistry* 124: 262–270.
- JULIANI, H. R.; SIMON, J. E. 2002. Antioxidant Activity of Basil, pp. 575-579. Reprinted from: *Trends in new crops and new uses*. JANICK, J.; WHIPKEY A. (eds.). ASHS Press, Alexandria, VA.
- KALT, W. 2005. Effects of production and processing factors on mayor fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Foods Science* 70(1): 11-19.
- KAUR, C; KAPOOR, H. C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables: the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology* 36(7): 703-725.
- KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. 2001. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). *Food Chemistry* 74: 147-154.
- KEVERS, C.; FALKOWSKI, M.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J. O.; DOMMES, J.; PINCEMAI L., J. 2007. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(21): 8596–8603.
- 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.

- KLIEBENSTEIN, D. J.; MONDE, R. A.; LAST, R. L. 1998. Superoxide dismutase in Arabidopsis: an eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization. *Plant Physiol.* 118: 637-650.
- KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI F., J.; FETT, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 25(4): 726-732.
- KWEE, E. M.; NIEMEYER, E. D. 2011. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry* 128: 1044–1050.
- LAMIKANRA, O. 1995. Enzymatic browning of muscadine grapes products, pp. 166-177. *In: Enzymatic Browning and its Prevention.* LEE, C. L.; WHITAKER, J. R. (eds.). ACS. Washington DC., USA.
- LANGE, D. D.; CAMERON, A. C. 1994. Postharvest shelf life of sweet Basil (*Ocimum basilicum*). *HortScience* 29(2): 102–103.
- LIANG, Y.; HU, F.; YANG, M.; YU, J. 2003. Antioxidative defenses and water deficit-induced oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.) growing on non-flooded paddy soils with ground mulching. *Plant Soil* 257(2): 407-416.
- LU G.; LIANG, H.; LU, Z. 1992. Metabolism of ribonucleic acid and protein in ripening apple fruits. *J. Plant Physiol.* 139: 569-573.
- MARTÍNEZ P., J.; MUÑOZ, R. 2001. Characterization of betacyanin oxidation catalyzed by a peroxidase from *Beta vulgaris* L. Roots. *J Agric Food Chem.* 49: 4064-4068.
- MISHRA, B. B.; GAUTAM, G.; SHARMA, A. 2013. Free phenolics and polyphenol oxidase (PPO): The factors affecting post-cut browning in eggplant (*Solanum melongena*). *Food Chemistry* 139: 105-114.
- NÚÑEZ L., V.; MARTÍNEZ D., M. T.; COLINAS L., M. T. 2012. Fisiología poscosecha de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con y sin acolchado. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 18(3): 307-315.
- OBOH G, A. 2004. Change in ascorbic acid, total phenol and antioxidant activity of sun dried commonly consumed green leafy vegetables in Nigeria. *Nutr. Health.* 18(1): 29-36.

- ORTEGA G., F.; BLANCO, S.; PEINADO, M. A.; PERAGÓN, J. 2010. Polyphenol Oxidase and *Oleuropein* in Olives and their Changes During Olive Ripening, pp. 233-238. *In: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. PREEDY, V. R. y WATSON, R. R. (eds.). Academic Press. USA.
- OUESLATI, S.; KARRAY B., N.; ATTIA, H.; RABHI, M.; KSOURI, R.; LACHAAL, M. 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiol. Plant.* 32: 289-296.
- OZGEN, M.; REESE, N. R.; TULIO J., 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.
- PALMA, J. M.; JIMÉNEZ, A.; SANDALIO, L. M.; CORPAS, F. J.; LUNDQVIST, M.; GÓMEZ, M.; SEVILLA, F.; DEL RÍO, L. A. 2006. Antioxidative enzymes from chloroplasts, mitochondria, and peroxisomes during leaf senescence of nodulated pea plants. *Journal of Experimental Botany* 57(8): 1747-1758.
- 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.
- PÉREZ T., G. O.; VARGAS A., I.; DÍAZ P., J. C.; TÉLLEZ M., M. A. 1999. Actividad de polifenoloxidasa y peroxidasa en frutos de mamey sapote (*Pouteria sapota*). *Rev. Iberoam. Tecnol. Postcosecha* 1: 120- 125.
- PRIOR, R. L.; CAO, G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *Horticulture Science.* 35: 588-592.
- RICE E., A. C.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2: 152-158.
- RODRÍGUEZ, J. L.; VALDÉS, O.; ALEMÁN, A. 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco hierbas aromáticas. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 16: 30-36.

- SALA, J. M.; LAFUENTE, M. T. 2000. Catalasa enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruits to chilling. *Postharvest Biology and Technology* 20(1): 81-89.
- SALVEIT, M. E.; MORRIS, L. E. 1990. Overview on chilling injury of horticultural crops, pp: 3-15. *In: Chilling Injury of Horticultural Crops*. WANG, C. Y. (ed.). CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.
- SANTOS B., C.; SCALBERT, A. 2000. Proanthocyanidins and tannin- like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food Agriculture* 80: 1094–1117.
- SAS. 2002. SAS/STAT users guide: Statics, Ver. 9.00. SAS Institute Inc. Cary, North Caroline, USA. 1503 p.
- SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32: 67-103.
- SHARMA, R.; KAUR, D.; OBEROI, D.; SOGI, D. 2008. Thermal degradation kinetics of pigments and visual color in watermelon juice. *International Journal of Food Properties* 11(2): 439–449.
- 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.
- STAUFFER, C. E. 1989. Enzyme assays for food scientists. Van Nostrand Reinhold. USA. 317 p.
- STEWART R. J.; SAWYER B., J. B.; BUCHELI, C. S.; ROBINSON, S. P. 2001. Polyphenol oxidase is induced by chilling and wounding in pineapple. *Aust. J. Plant. Physiol.* 28: 181-191.
- TABASSUM, I.; SIDDIQUI, Z. N.; RIZVI, S. J. 2009. Protective effect of *Ocimum sanctum* on lipid peroxidation, nucleic acids and protein against restraint stress in male albino rats. *Biol. Med.* 1(2): 42-53.
- TRUJILLO V., B. A.; ZAVALETA M., H. A.; MORA H., M. E.; LÓPEZ D., H. A. 2006. Efecto del CaCl₂ sobre la actividad enzimática antioxidante durante la vida florero de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolux Ex Hook F.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12(2): 203-209.

- TUCKER, G. A. 1993. Introduction, pp: 1-55. *In*: Biochemistry of Fruit Ripening. SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (eds.). Chapman & Hall. London.
- VENERE, D. D.; SERGIO, L.; LINSALATA, V.; DE MASTRO, G. 2002. Biochemical assessment of basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars for processing. *Acta Hort.* 576: 177-179.
- VIJAYAKUMAR, R.; ZHAO, C. X.; GOPAL, R.; JALEEL, C. A. 2009. Non-enzymatic and enzymatic antioxidant variations in tender and mature leaves of *Strychnos nux-vomica* L. (Family: Loganiaceae). *Comptes Rendus. Biologies* 332(1): 52-57.
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 701–705.
- WATERMAN, P. G.; MOLE, S. 1994. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. UK. 238 p.
- ZHENG, W.; WANG, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5165-5170.
- ZOLFAGHARI, M.; SAHARI, M. A.; BARZEGAR, M.; SAMADLOIY, H. 2010. Physicochemical and enzymatic properties of five kiwifruit cultivars during cold storage. *Food Bioprocess Technol.* 3: 239-246.

4. CONCLUSIONES GENERALES

El almacenamiento en refrigeración permitió prolongar la vida poscosecha de la albahaca 'Nufar'. En el tratamiento a 5 °C, se conservó una buena calidad hasta los 10 días de almacenamiento. Por su parte, la refrigeración a 10 °C fue la mejor, ya que preservó las características fisicoquímicas, fisiológicas, bioquímicas y sensoriales de la albahaca por 14 días de almacenamiento; contrario al tratamiento de temperatura ambiente (20 °C) en donde la calidad de la albahaca 'Nufar' sólo se mantuvo durante 4 días de almacenamiento. Por otra parte, bajo refrigeración la capacidad antioxidante presentó una disminución de los valores antes que disminuyera el contenido de fenoles totales, esto sugiere que probablemente la capacidad antioxidante no depende completamente del contenido fenólico total, puesto que no se encontró relación directa entre los valores de estas variables; no obstante, aumentó la actividad enzimática de la catalasa y disminuyó la actividad de la superóxido dismutasa. Por su parte, la actividad de la peroxidasa y de la polifenoloxidasas disminuyó durante el almacenamiento en refrigeración.

5. LITERATURA CITADA GENERAL

- AHMED, S.; HUSSAIN, B. 2009. Ascorbic acid, carotenoids, total phenolic content and antioxidant activity of various genotypes of *Brassica Oleracea encephala*. J. of Medical and Biological Sciences 3(1): 1-8.
- ALTUNKAYA, A.; GÖKMEN, V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). Food Chemistry 107: 1173–1179.
- ANÓNIMO. 1987. Tecnología del Manejo Postcosecha de Frutas y Hortalizas. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Bogotá, Colombia. 242 p.
- ANÓNIMO. 2013. Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). México, [en línea]. Disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx> (Consultado el 16 de mayo del 2013).
- ARCILA L., C. C.; LOARCA P., G.; LECONA U., S.; GONZÁLEZ M., E. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. ALAN. 54(1): 100-111.
- 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.
- ATKINSON, C. J.; NESTBY, R.; FORD, Y. Y.; DODDS P., A. A. 2005. Enhancing beneficial antioxidants in fruits: A plant physiological perspective. BioFactors 23: 229–234.
- AYALA Z., J. F.; WANGB, S. Y.; WANGA, Ch. Y.; GONZÁLEZ A., G. A. 2004. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. Technol. 37: 687-695.
- BILLOT, J. 2001. El pardeamiento enzimático, pp. 233-255. In: Tecnología de las Hortalizas. TIRILLY, Y.; BOURGEOIS, C. M. (eds.). Traducido al

español por APARICIO T., P. M.; LAMSFUS A., C. Acribia S. A. Zaragoza, España.

- CANTWELL, M. I.; REID, M. 2007. Sistemas de manejo postcosecha: hierbas frescas, pp. 475-486. *In: Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas*. KADER, A. A. (ed.). Series de Horticultura Poscosecha No. 24. University of California, Davis, USA.
- FORNEY, F. C.; JORDAN, M. A. 1999. Stress-induced ethanol production. *In: Fresh fruits and vegetables*. HortScience 31(4): 635 p.
- GARCÍA A., M.; PASCUAL T., S.; SANTOS B., C.; RIVAS G., J. C. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84: 13–18.
- GHASEMNEZHAD, M.; SHERAFATI, M.; PAYVAST, G. A. 2011. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods*. 3: 44-49.
- GIL, M. I.; TUDELA, J. A.; ESPÍN, J. C. 2005. Pardeamiento, pp. 154-176. *In: Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. GONZÁLEZ A., G. A.; GARDEA, A. A.; CUAMEA N., F. (eds.). Logiprint Digital. Jalisco, México.
- KAUR, C.; KAPOOR, H. C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's Health. *International Journal of Food Science and Technology* 36: 703-725.
- SHARMA, R.; KAUR, D.; OBEROI, D.; SOGI, D. 2008. Thermal degradation kinetics of pigments and visual color in watermelon juice. *International Journal of Food Properties* 11(2): 439-449.
- YAMAUCHI, N.; WATADA, A. E. 1991. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(1): 58-62.

6. APÉNDICE

Cuadro 1A. Valores de referencia inicial de variables analizadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

Fisicoquímicas	Color (*L)	Color (*C)	Color (°h)	SST	AT	
	42.82	19.76	115.03	6.60	0.094	
Fisiológicas	Pérdida de peso		Tasa de respiración	Etileno		
	0.0		45.57	0.022		
Bioquímicas	Clorofilas	Carotenos	VC	Fenoles	CA	PRO
	1.29	72.11	9.96	3.85	77.59	3.1
Organolépticas	Apariencia	Turgencia	Pudrición		Aroma	
	5.0	5.0	0.0		1.0	
Enzimáticas	CAT	POD	PPO	SOD		
	11.8	11.3	9.1	3.0		

*L: luminosidad; *C: croma; °h: ángulo hue; SST: sólidos solubles totales; AT: acidez titulable; VC: vitamina C; CA: capacidad antioxidante; PRO: proteína; CAT: catalasa; POD: peroxidasa; PPO: polifenoloxidasas; SOD: superóxido dismutasa.

Cuadro 2A. Estadístico T_0 de la evaluación hedónica en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

DDA	Apariencia	Turgencia	Pudrición	Aroma
2	0.0	0.0	0.0	0.0
4	0.0545	0.0061*	0.0	0.0
6	0.2727	0.0303*	0.0	0.0
8	0.0061*	0.0009*	>0.9999	>0.9999
10	7.3800*	9.8500*	7.5400*	0.4600
12	0.0061*	0.0061*	0.0061*	0.0
14	0.9143	0.0	0.0	0.0
16	0.4857	>0.9999	0.1429	0.0
18	>0.9999	>0.9999	0.4286	0.0

DDA: Días de almacenamiento; *: significativo al 5 ($p > 0.05$).

Cuadro 3A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisicoquímicas evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

DDA	FV	*L			*C			°h			SST			AT		
		GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S
2	Tr	2	3.8	NS	2	40.6	*	2	7.2	NS	2	0.4	NS	2	0.0003	NS
	E	20	28.1		21	59.6		21	52.9		9	1.4		8	0.0006	
	T	22	31.9		23	100.3		23	60.1		11	1.8		10	0.0009	
	CV		2.8			8.1			1.4			5.0			12.2	
4	Tr	2	10.6	NS	2	81.5	*	2	10.1	NS	2	0.2	NS	2	0.0003	NS
	E	20	31.2		21	84.0		21	48.4		9	3.6		9	0.0025	
	T	22	41.9		23	165.5		23	58.5		11	3.8		11	0.0028	
	CV		2.9			9.8			1.3			8.4			21.5	
6	Tr	2	19.8	*	2	148.4	*	2	10.1	NS	2	0.4	NS	2	0.0000	NS
	E	19	17.1		21	61.7		19	32.9		9	2.8		9	0.0010	
	T	21	36.9		23	210.1		21	42.9		11	3.2		11	0.0010	
	CV		2.3			8.4			1.2			7.7			12.5	
8	Tr	2	18.6	*	2	198.6	*	2	43.2	*	2	6.4	*	2	0.0002	NS
	E	18	49.2		20	65.4		21	64.5		9	2.2		9	0.0021	
	T	20	67.8		22	264.0		23	107.7		11	8.6		11	0.0023	
	CV		4.0			8.8			1.5			7.1			16.9	
10	Tr	2	16.9	*	2	245.9	*	2	52.3	*	2	10.1	*	2	0.0001	NS
	E	19	29.9		21	71.0		21	58.1		9	2.9		9	0.0014	
	T	21	46.8		23	317.0		23	110.4		11	12.9		11	0.0014	
	CV		3.1			8.9			1.5			8.3			13.1	
12	Tr	2	17.3	NS	2	190.8	*	2	39.3	*	2	18.3	*	2	0.0002	NS
	E	21	50.7		21	66.8		19	38.6		9	3.2		9	0.0009	
	T	23	67.9		23	257.5		21	78.0		11	21.5		11	0.0011	
	CV		3.8			8.8			1.3			8.7			9.9	
14	Tr	1	0.8	NS	1	10.8	*	1	5.5	*	1	6.0	*	1	0.0004	*
	E	14	24.9		14	29.2		12	10.5		6	1.8		6	0.0001	
	T	15	25.7		15	40.0		13	16.0		7	7.7		7	0.0005	
	CV		3.3			7.9			0.8			8.9			4.2	
16	Tr	1	3.7	NS	1	7.9	*	1	41.9	*	1	3.5	*	1	0.0011	*
	E	14	64.9		10	13.9		13	36.3		6	1.1		6	0.0006	
	T	15	68.6		11	21.8		14	78.2		7	4.6		7	0.0017	
	CV		5.6			6.5			1.5			6.5			8.7	
18	Tr	1	6.8	NS	1	0.8	NS	1	47.9	*	1	8.8	*	1	0.0007	*
	E	12	75.1		10	32.4		9	15.8		6	1.5		6	0.0004	
	T	13	81.9		11	33.2		10	63.6		7	10.3		7	0.0012	
	CV		6.9			10.1			1.2			6.3			5.6	

DDA: Días de almacenamiento; FV: Fuentes de variación; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; S: Significancia estadística; Tr: Tratamientos; E: Error; T: Total; CV: Coeficiente de variación; *L: luminosidad; *C: Cromo; °h: Ángulo de tono; SST: Sólidos solubles totales; AT: Acidez titulable.

Cuadro 4A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables fisiológicas evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

DDA	FV	Pérdida de peso			Tasa de Respiración			Producción de Etileno		
		GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S
2	Tr	2	2.28	NS	2	827.99	*	2	0.0007	NS
	E	9	9.68		9	232.15		7	0.0014	
	T	11	11.97		11	1060.14		9	0.0022	
	CV		33.1			12.4			33.2	
4	Tr	2	1.72	NS	2	1220.59	*	2	0.0016	NS
	E	9	21.54		9	97.78		8	0.0038	
	T	11	23.27		11	1318.37		10	0.0053	
	CV		45.1			10.3			46.4	
6	Tr	2	94.69	*	2	986.94	*	2	0.0009	NS
	E	9	56.63		8	56.95		7	0.0055	
	Tr	11	151.32		10	1043.89		9	0.0064	
	CV		47.7			8.3			36.0	
8	Tr	2	81.13	*	2	1637.53	*	2	0.0026	NS
	E	9	39.73		8	144.24		9	0.0043	
	T	11	120.86		10	1781.77		11	0.0069	
	CV		29.6			12.7			53.3	
10	Tr	2	797.89	*	2	952.89	*	2	0.0020	NS
	E	8	34.33		9	100.03		3	0.0006	
	T	10	832.22		11	1052.92		5	0.0026	
	CV		17.1			12.5			39.8	
12	Tr	2	1408.02	*	2	1973.97	*	2	0.0028	NS
	E	8	43.97		9	66.30		8	0.0055	
	T	10	1451.99		11	2040.27		10	0.0083	
	CV		15.0			11.2			53.4	
14	Tr	1	30.60	*	1	29.22	NS	1	0.0017	NS
	E	4	14.22		5	41.65		6	0.0090	
	T	5	44.82		6	70.87		7	0.0107	
	CV		17.8			12.1			18.7	
16	Tr	1	41.72	*	1	132.16	NS	1	0.0011	NS
	E	6	9.90		4	354.14		4	0.0244	
	T	7	51.63		5	486.31		5	0.0255	
	CV		11.6			17.1			36.7	
18	Tr	1	305.79	*	1	14.53	NS	1	0.0034	NS
	E	6	14.25		5	159.89		5	0.0268	
	T	7	320.04		6	174.41		6	0.0301	
	CV		10.1			12.4			49.3	

DDA: Días de almacenamiento; FV: Fuentes de variación; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; S: Significancia estadística; Tr: Tratamientos; E: Error; T: Total; CV: Coeficiente de variación.

Cuadro 5A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de las variables bioquímicas evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

DDA	FV	Clorofilas Totales			Carotenos Totales			Vitamina C		
		GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S
2	Tr	2	0.0160	NS	2	22.77	NS	2	6.96	*
	E	7	0.0220		6	258.77		44	29.24	
	T	9	0.0380		8	281.54		46	36.21	
	CV		4.4			8.7			8.3	
4	Tr	2	0.0174	NS	2	20.36	NS	2	346.55	*
	E	7	0.0684		8	203.42		44	35.17	
	T	9	0.0858		10	223.78		46	381.72	
	CV		7.7			6.6			12.7	
6	Tr	2	0.0423	NS	2	1363.49	*	2	15.54	*
	E	8	0.0512		8	69.00		44	27.29	
	Tr	10	0.0935		10	1432.49		46	42.83	
	CV		6.4			3.1			23.3	
8	Tr	2	0.0277	NS	2	485.35	*	2	6.91	NS
	E	8	0.0391		7	180.64		43	56.77	
	T	10	0.0669		9	665.99		45	63.69	
	CV		5.8			5.2			35.6	
10	Tr	2	0.0518	*	2	520.22	*	2	0.78	NS
	E	7	0.0086		9	153.88		43	43.60	
	T	9	0.0604		11	674.10		45	44.38	
	CV		3.0			4.2			34.3	
12	Tr	2	0.1545	*	2	439.43	*	2	1.31	NS
	E	9	0.0484		9	205.96		37	27.08	
	T	11	0.2029		11	645.39		39	28.40	
	CV		6.5			4.9			31.3	
14	Tr	1	0.0036	NS	1	70.21	*	1	0.35	NS
	E	3	0.0087		6	21.50		27	17.92	
	T	4	0.0123		7	91.71		28	18.27	
	CV		4.4			1.9			51.9	
16	Tr	1	0.0071	NS	1	135.79	*	1	1.86	NS
	E	5	0.0657		5	35.88		25	11.01	
	T	6	0.0728		6	171.67		26	12.88	
	CV		9.6			2.6			45.2	
18	Tr	1	0.0086	NS	1	138.61	*	1	1.37	NS
	E	5	0.0103		6	45.95		27	12.47	
	T	6	0.0189		7	184.56		28	13.83	
	CV		3.8			2.7			47.0	

DDA: Días de almacenamiento; FV: Fuentes de variación; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; S: Significancia estadística; Tr: Tratamientos; E: Error; T: Total; CV: Coeficiente de variación.

Cuadro 6A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de fenoles totales, capacidad antioxidante y proteína evaluadas en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

DDA	FV	Fenoles Totales			Capacidad antioxidante			Proteína		
		GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S
2	Tr	2	0.230	NS	2	2446.02	*	2	1.828	*
	E	41	2.239		43	2274.25		41	1.944	
	T	43	2.469		45	4720.27		43	3.772	
	CV		6.5			13.9			9.6	
4	Tr	2	1.508	*	2	470.41	*	2	0.453	NS
	E	38	2.525		35	840.44		39	2.404	
	T	40	4.033		37	1310.85		41	2.856	
	CV		6.6			7.7			9.0	
6	Tr	2	2.033	*	2	1210.64	*	2	0.921	*
	E	41	3.193		43	1884.32		45	4.929	
	T	43	5.226		45	3094.96		47	5.850	
	CV		7.0			10.1			12.5	
8	Tr	2	0.805	*	2	517.38	*	2	2.763	*
	E	34	2.967		36	706.52		39	3.330	
	T	36	3.772		38	1223.89		41	6.093	
	CV		7.2			5.8			7.9	
10	Tr	2	0.948	*	2	4368.92	*	2	5.320	*
	E	40	4.430		38	953.99		44	3.788	
	T	42	5.378		40	5322.91		46	9.108	
	CV		7.7			7.2			9.6	
12	Tr	2	12.073	*	2	7450.42	*	2	19.993	*
	E	40	4.156		44	1678.33		40	6.699	
	T	42	16.229		46	9128.75		42	26.693	
	CV		7.6			8.6			13.1	
14	Tr	1	4.881	*	1	578.46	*	1	6.191	*
	E	27	2.301		24	1305.08		26	7.002	
	T	28	7.182		25	1883.53		27	13.194	
	CV		8.1			12.0			18.5	
16	Tr	1	5.249	*	1	238.71	NS	1	5.470	*
	E	30	3.009		23	951.69		30	3.033	
	T	31	8.258		24	1190.40		31	8.503	
	CV		8.1			10.6			10.5	
18	Tr	1	1.875	*	1	111.29	NS	1	17.170	*
	E	26	2.760		24	891.49		30	1.825	
	T	27	4.635		25	1002.78		31	18.995	
	CV		6.9			11.9			7.6	

DDA: Días de almacenamiento; FV: Fuentes de variación; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; S: Significancia estadística; Tr: Tratamientos; E: Error; T: Total; CV: Coeficiente de variación.

Cuadro 7A. Grados de libertad, suma de cuadrados y significancia estadística de actividad enzimática evaluada en albahaca 'Nufar' almacenada durante 18 días a 5, 10 y 20 °C.

DDA	FV	Catalasa			Peroxidasa			Polifenoloxidasa			Superoxidodismutasa		
		GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S	GL	SC	S
2	Tr	2	5.0	NS	2	1233.4	*	2	581.4	**	2	6.2	*
	E	43	123.4		45	3198.6		45	707.1		43	13.2	
	T	45	128.4		47	4432.1		47	1288.5		45	19.3	
	CV		14.5			35.1			28.9			12.2	
4	Tr	2	170.9	**	2	840.9	**	2	1349.3	**	2	0.7	NS
	E	40	105.4		44	1230.9		39	529.5		33	4.2	
	T	42	276.3		46	2071.8		41	1878.8		35	4.8	
	CV		13.5			21.8			20.0			8.6	
6	Tr	2	79.4	**	2	2618.9	**	2	1405.5	**	2	0.0	NS
	E	36	67.0		45	2972.9		35	328.5		40	5.3	
	Tr	38	146.4		47	5591.8		37	1733.9		42	5.3	
	CV		13.6			31.6			16.8			9.5	
8	Tr	2	125.2	**	2	408.2	*	2	712.4	**	2	2.5	**
	E	40	89.1		34	1319.1		41	904.7		43	3.0	
	T	42	214.3		36	1727.3		43	1617.1		45	5.5	
	CV		16.2			18.3			21.5			8.4	
10	Tr	2	339.6	**	2	2669.4	**	2	1135.1	**	2	12.9	**
	E	40	92.7		45	2014.2		45	926.2		44	7.6	
	T	42	432.3		47	4984.2		47	2061.4		46	20.5	
	CV		19.1			11.5			13.0			10.9	
12	Tr	2	122.9	**	2	3365.5	*	2	1868.3	**	2	4.0	*
	E	39	94.2		42	12046.3		43	1156.3		40	8.2	
	T	41	217.1		44	15411.8		45	3024.6		42	12.1	
	CV		19.1			31.1			19.4			11.2	
14	Tr	1	28.0	*	1	49.0	NS	1	611.0	**	1	0.0	NS
	E	28	44.6		22	950.9		26	132.4		28	6.0	
	T	29	72.6		23	999.9		27	743.4		29	6.0	
	CV		14.6			18.6			14.6			11.4	
16	Tr	1	2.0	NS	1	1023.0	*	1	124.2	NS	1	0.0	NS
	E	28	100.9		30	3135.2		30	1018.3		26	6.5	
	T	29	102.9		31	4158.2		31	1142.5		27	6.5	
	CV		26.4			26.0			34.7			12.0	
18	Tr	1	27.8	NS	1	9871.0	**	1	92.4	*	1	0.1	NS
	E	28	253.2		29	1419.5		27	464.7		25	1.9	
	T	29	280.9		30	11290.5		28	557.0		26	2.0	
	CV		28.0			12.1			24.5			5.3	

DDA: Días de almacenamiento; FV: Fuentes de variación; GL: Grados de libertad; SC: Suma de cuadrados; S: Significancia estadística; Tr: Tratamientos; E: Error; T: Total; CV: Coeficiente de variación.