



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE  $\alpha$ -AMILASA Y PEROXIDASA  
DE JÍCAMA ALMACENADA  
A 20°C Y 10°C.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA**

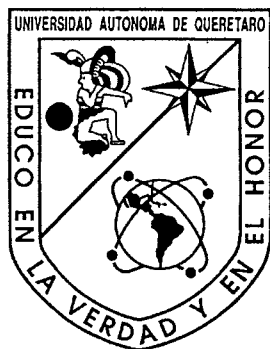
**BERENICE LAZO MENDOZA**

**DIRIGIDA POR**

**DR. EDMUNDO MERCADO SILVA**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2002**

No Adq. H66553  
No. Título TS  
Clas. 664.0285  
L925c  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE  $\alpha$ -AMILASA Y PEROXIDASA  
DE JÍCAMA ALMACENADA  
A 20°C Y 10°C.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

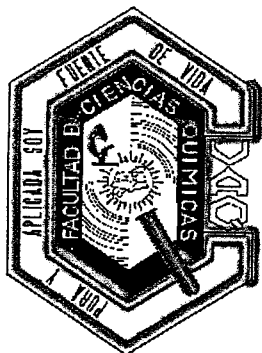
**PRESENTA**

**BERENICE LAZO MENDOZA**

**DIRIGIDA POR**

**DR. EDMUNDO MERCADO SILVA**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2002**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE  $\alpha$ - AMILASA Y  
PEROXIDASA DE JÍCAMA ALMACENADA**

**A 20°C Y 10°C.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA  
BERENICE LAZO MENDOZA**

**DIRIGIDA POR  
DR. EDMUNDO MERCADO SILVA**

**SINODALES**

**DR. EDMUNDO MERCADO SILVA**

**DIRECTOR**

**M.C. ELIA N. AQUINO BOLAÑOS**

**PROPIETARIO**

**M.C. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS**

**PROPIETARIO**

**M.C. JORGE ALVAREZ DOMÍNGUEZ**

**SUPLENTE**

---

---

---

---

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Fisiología y Bioquímica Postcosecha de Frutas y Hortalizas del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Facultad de Química, bajo la asesoría y dirección del Dr. Edmundo Mercado Silva.

# INDICE GENERAL

	<b>Páginas</b>
INDICE GENERAL	i
INDICE DE CUADROS	iv
INDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	
2.1. Descripción botánica	4
2.2. Importancia económica de la jícama	5
2.3. Comparación nutrimental de la jícama con otras raíces	6
2.4. Problemática postcosecha de la jícama y estudios desarrollados	10
2.5. Aspectos generales del daño por frío	13
2.5.1. Síntomas del daño por frío	14
2.6. Endulzamiento por bajas temperaturas	15
2.6.1. Posibles mecanismos del endulzamiento por bajas temperaturas	24
2.7. Importancia del almidón en los vegetales	27
2.7.1. Estructura del almidón	28
2.7.2. Los gránulos de almidón	30
2.7.3. Enzimas relacionadas con la degradación de almidón	30
2.7.4. Reacción del almidón con yodo	33
2.8. El proceso de oscurecimiento enzimático en el daño por frío	33

2.8.1. Los compuestos fenólicos en el proceso de oscurecimiento	35
2.8.2. Acción de la peroxidasa en el proceso de oscurecimiento	36
3. HIPOTESIS	40
4. OBJETIVOS	
4.1. Objetivo General	41
4.2. Objetivos Específicos	41
5. MATERIALES Y METODOS	
5.1. Material Biológico	42
5.2. Procedimiento experimental	42
5.3. Métodos utilizados	43
5.3.1. Pérdida de peso	43
5.3.2. Determinación de materia seca y humedad	43
5.3.3. Determinación del contenido de sólidos solubles totales (°Brix).	46
5.3.4. Color interno	47
5.3.5. Determinación de azúcares	47
5.3.6. Extracción de almidón	50
5.3.7. Cuantificación de almidón	51
5.3.8. Actividad de la enzima $\alpha$ -amilasa en jícama	55
5.3.9. Actividad de peroxidasa	57

6. RESULTADOS Y DISCUSION	
6.1. Pérdida fisiológica de peso	60
6.2. Cambios en el contenido de peso seco	63
6.3. Cambios en el color	66
6.4. Cambios en el contenido de almidón	69
6.5. Cambios en el contenido de sólidos solubles	72
6.6. cambios en el contenido de azúcares totales	74
6.7. Cambios en la actividad de $\alpha$ -amilasa	77
6.8. Cambios en la actividad de peroxidasa	79
7. CONCLUSIONES	83
8. BIBLIOGRAFIA	85



## INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Principales estados productores de jícama.	7
2	Comparación de la composición nutrimental de la jícama con otras raíces.	8
3	Composición de aminoácidos de la jícama.	9
4	Tiempos y temperaturas requeridos para desarrollar síntomas de daño por frío en diferentes frutas y hortalizas.	17
5	Curva de calibración de glucosa.	49
6	Determinación de glucosa.	53
7	Cambios en el contenido de almidón en jícamas almacenadas a diferentes temperaturas.	70

## INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquema simplificado de las respuestas al frío en plantas sensibles.	16
2	Metabolitos mayores y enzimas involucradas en la conversión de almidón a en plantas.	21
3	Representación parcial de las moléculas de amilosa (lineal ) y amilopectina (ramificada ).	29
4	Síntesis del ácido Siquímico.	37
5	Esquema general del procedimiento llevado a cabo en el primer experimento para determinar la actividad de $\alpha$ -amilasa y parámetros relacionados en jícama almacenada a diferentes temperaturas.	44
6	Procedimiento desarrollado en el segundo experimento para seguir los cambios en la actividad peroxidasa en jícama almacenada a diferentes temperaturas.	45
7	Proceso para la extracción del almidón de jícama.	52
8	Pérdida fisiológica de peso en jícama <i>P.erosus</i> almacenada a diferentes temperaturas de refrigeración.	61
9	Cambios en el contenido de peso seco en jícama <i>P.erosus</i> almacenada a diferentes temperaturas de refrigeración.	64
10	Cambios en el color en jícama de Nayarit.	67
11	Cambios en el color en jícama del Bajío.	68
12	Cambios en el contenido de almidón.	71
13	Cambios en el contenido de sólidos solubles.	73
14	Cambios en el contenido de azúcares totales.	75
15	Cambios en la actividad de $\alpha$ -amilasa.	78
16	Cambios en la actividad de peroxidasa.	80

## RESUMEN

La jícama es una raíz originaria de México; en donde se consume principalmente como verdura fresca por su crujiente textura y succulenta pulpa blanca. Sin embargo, la costumbre la ha popularizado como un producto mínimamente procesado al consumirse en rebanadas adicionada con sal y chile.

La refrigeración es un método importante para la conservación de frutas y hortalizas frescas; sin embargo, su aplicación en jícama tiene diferentes problemas debido a que esta es sensible al daño por frío cuando es almacenada a temperaturas por debajo de los 10°C, disminuyendo su calidad y vida poscosecha. El ataque de microorganismos y el oscurecimiento interno son algunas de las manifestaciones de este daño que se hace presente cuando estas raíces se almacenan por periodos de una o dos semanas.

Los tubérculos como la papa pueden almacenarse a bajas temperaturas por periodos cortos; sin embargo debido a su alto contenido de almidón, éste puede degradarse provocando endulzamiento del producto. Dado que la jícama también tiene alto contenido de almidón este producto pudiera presentar el mismo fenómeno, lo cual facilitaría las manifestaciones del daño por frío de éste.

El problema de oscurecimiento interno, se ha enfocado desde el punto de vista de la participación de la enzima polifenol oxidasa sobre los compuestos fenólicos presentes; sin embargo, no se ha explorado adecuadamente la participación de otras enzimas como la peroxidasa sobre el desarrollo del color de los productos.

El presente trabajo se realizó con el objeto de estudiar los pasos primarios de la degradación del almidón contenido en la jícama a través de la medición de la actividad de una de las enzimas hidrolíticas del mismo, la  $\alpha$ -amilasa, durante el almacenamiento a 10°C.

De igual forma el proceso de oscurecimiento interno fue seguido a través de la medición de la actividad de la peroxidasa durante el mismo periodo de almacenamiento.

Se trabajó con jícama de la especie *Pachyrhizus erosus* procedentes de Nayarit y Guanajuato (Bajío), las cuales se almacenaron durante 24 días a 10°C.

Cada cuatro días se tomaron seis jícamas para ser analizadas el día de muestreo y transferidas a 20°C durante cuatro días adicionales para finalmente ser analizadas en forma equivalente.

Los factores de estudio fueron el contenido de azúcares, pérdida fisiológica de peso, peso seco, contenido de sólidos solubles, contenido de almidón, color y cambios en las actividades de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y peroxidasa.

Después de 20 días de almacenamiento, la cantidad de almidón en las jícamas almacenadas a 10°C fue más baja respecto del contenido inicial. Las jícamas almacenadas a 10°C y transferidas a 20°C disminuyeron un 53.68% su contenido de almidón; el tratamiento a 10°C lo hizo en 39.99% y el control un 28.79%. Los primeros ocho días de almacenamiento, la actividad de  $\alpha$ -amilasa fue alta para las muestras mantenidas a 10°C y transferidas a 20°C mostrando un valor máximo de 0.4098 unidades. Sin embargo, el control a 20°C y las muestras mantenidas a 10°C muestran comportamientos similares entre sí con aumentos desde el inicio hasta alcanzar un máximo el día 16 (0.3929 y 0.4231 unidades para 10 y 20°C respectivamente).

La mayor actividad de peroxidasa se presentó en jícamas que fueron almacenadas a 10°C y transferidas a 20°C con un valor de 12.4075  $\Delta$ Abs/min\* g el día 4. El comportamiento de actividad de peroxidasa para las jícamas almacenadas a 20°C fue parecido al de 10°C, el oscurecimiento fue mayor para las jícamas almacenadas a 10°C y transferidas a 20°C.

Estos resultados indican que la jícama presenta el fenómeno de endulzamiento como resultado del daño por frío y que la enzima peroxidasa no explica completamente el desarrollo del oscurecimiento interno de este producto.

# 1. INTRODUCCION

La jícama es originaria de México y América central. En la actualidad se cultiva ampliamente en el Sudeste de Asia. Es una de las pocas raíces leguminosas que se consume como vegetal y comúnmente se ingiere fresca o acompañada con limón, chile y sal, o encurtidas.

En México se cultiva principalmente en los estados de Nayarit, Oaxaca, Guerrero, Chiapas, Morelos, Michoacán, Jalisco, Veracruz y Guanajuato. La producción nacional de jícama en 1999 fue de 107, 827.18 toneladas. Se estima que se pierde aproximadamente el 34 % de la producción nacional debido a problemas parasitológicos que se presentan durante la precosecha; mientras que del 66% cosechado, el 13% se pierde por mal manejo y problemas poscosecha. Esto implica también la pérdida de componentes nutrimentales. Para que estos nutrimentos se conserven es necesario operar con sistemas de manejo y conservación del producto que permitan mantenerlos.

El almacenamiento a bajas temperaturas para la conservación de productos perecederos es una técnica común para alargar su vida poscosecha. Sin embargo, estos resultados no se pueden aplicar indistintamente a todos los productos debido a que muchos de ellos muestran el desorden fisiológico de daño por frío. Este desorden se manifiesta como alteraciones metabólicas que inducen daños fisiológicos que se traducen en pérdida de calidad llegando a ser particularmente agudo en los productos de origen vegetal nativos de áreas tropicales y subtropicales, cuando se someten a temperaturas entre 0°C y 15°C.

Barile y Esguerra (1984) indicaron que la calidad de la jícama se pierde más rápidamente cuando se almacena entre 0 y 10°C durante 15 días en comparación con aquellas mantenidas a temperaturas moderadas de 15°C a 25°C en el mismo tiempo. Paull y Chen (1988) al estudiar los cambios composicionales de estas raíces almacenadas a 22 y 12.5°C durante cinco meses, señalaron que la pérdida

de humedad fue mayor a la temperatura más alta. Sin embargo, la pérdida de almidón y su conversión en sacarosa fue mayor en las jícamas almacenadas a 12.5°C, además que presentaron mayores tasas de respiración durante los dos primeros meses de almacenamiento. Este comportamiento lo asociaron a un probable daño por frío.

Las papas, después de ser almacenadas a temperaturas inferiores a 10°C sufren el fenómeno conocido como endulzamiento, como consecuencia de la conversión de almidón a azúcares simples. Para el caso de esta hortaliza, el endulzamiento es un cambio no deseable debido a que los azúcares liberados en presencia de grupos amino; pueden generar compuestos coloridos cuando los productos elaborados con esta materia prima se procesan industrialmente y se les suministra calor. Es posible que esta manifestación de endulzamiento se presente también durante el almacenamiento refrigerado de la jícama lo cual contribuiría a aumentar la sintomatología de daño por frío.

Se ha descrito que la temperatura óptima de almacenamiento para la jícama es de 13°C por períodos de hasta 4 o 5 meses. Cantwell y *col.* (1992) estudiaron jícamas de la variedad 'Agua dulce' procedentes de Nayarit, México almacenandolas a 0, 5, 10, 12.5 y 20°C por un periodo de 4 semanas. Sus resultados indicaron que las raíces solo podían ser almacenadas de dos a tres semanas a 10°C; ya que después de este tiempo aparecieron síntomas de daño por frío (pudriciones y oscurecimiento interno). Aquellas raíces que se almacenaron a 12.5°C estuvieron en excelentes condiciones durante las cuatro semanas.

Por otro lado, el oscurecimiento interno como una de las manifestaciones del daño por frío en distintos productos, generalmente se ha atribuido a la acción de la polifenol oxidasa la cual oxida a los ortodifenoles a sus respectivas quinonas que a su vez se polimerizan o reaccionan con compuestos amino para generar compuestos generadores de colores oscuros. No obstante, también es posible que

otras enzimas puedan estar involucradas en el proceso contribuyendo a una mejor explicación del fenómeno.

Los objetivos del presente trabajo fueron; analizar la posible generación de endulzamiento de las jícamas almacenadas a 10°C a través de la medición de la actividad la  $\alpha$  amilasa y correlacionarla con la acumulación de azúcares en el proceso y estudiar el papel de la peroxidasa durante la generación del oscurecimiento interno de la jícama almacenada a bajas temperaturas.

## 2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

### 2.1. DESCRIPCION BOTANICA

La jícama es una leguminosa del género *Pachyrhizus*, el cual comprende cinco especies principales: *P. erosus*, *P. ahipa*, *P. panamensis*, *P. tuberosus* y *P. ferrugineus*. De las cuales las tres primeras son de mayor importancia y son cultivadas por su raíz tuberosa, entre los 20° de latitud Norte en México y los 20° de latitud Sur en Bolivia y en el norte de Argentina (Orting y col., 1996).

La planta posee tallos vellosos rastreros o trepadores, que pueden alcanzar una altura de 5 m y que parten de una raíz gruesa, oval o globosa. Las hojas son ligeramente apicioladas, con tres hojuelas (trifoliadas) de forma muy variable, simples o lobuladas, enteras o ligeramente dentadas, miden de 4 a 20 cm de largo por 6 a 22 cm de ancho, ensanchadas hacia la extremidad, deltoides; con estípulas pequeñas y lineares. Las inflorescencias son racimos erectos, de hasta 0.5 m de longitud, axilares, constituidos por una a cinco flores típicamente amariposadas, las cuales son grandes, de aproximadamente 2cm de largo, de color morado, rosa o blanco. Los frutos son vainas lineales, comprimidas de 5 a 15cm de largo, pilosas, contienen de ocho a diez semillas reniformes o cuadradas, con el hilio pequeño, pueden ser negras, marrones o amarillas. Las raíces son grandes y tuberosas; son los órganos de reserva de la planta, con una amplia variabilidad en su forma, desde muy irregulares hasta casi esféricas; los tejidos de reserva son blancos, jugosos y azucarados (INEGI, 1997).

La parte importante de la planta de jícama es la raíz, ya que es comestible para el humano, es rica en azúcares y agua (hasta 90% de su peso total), contiene pequeñas cantidades de calcio y hierro. Las raíces alcanzan su desarrollo óptimo en tres o cuatro meses después de la floración, pero pueden dejarse en el campo



hasta por seis meses. Si se dejan madurar en campo aumentan considerablemente su contenido de almidón (INEGI, 1997).

La raíz se consume principalmente como hortaliza fresca. El producto intacto se pela y se corta en rebanadas y se adereza con sal, limón y chile en polvo. Ocasionalmente se corta en trocitos y se encurte en vinagre junto con otras hortalizas. El follaje de la planta se usa como forraje ya que contiene de un 15 a 20 % de proteínas, mientras las semillas son usadas como materia prima para la elaboración de insecticidas por su alto contenido de rotenona, poderoso inhibidor del transporte de electrones mitocondrial (Pinto-Córtes, 1973).

## **2.2. IMPORTANCIA ECONOMICA DE LA JICAMA**

La producción nacional de jícama para 1999 fue de 107,827.18 toneladas, esta producción se reporta distribuida en diferentes estados, siendo Nayarit, Morelos y Michoacán los principales estados productores (Cuadro 1). Se puede observar que Nayarit aportó para el año 1999 el 44% de la producción nacional; en tanto que Morelos aportó el 18.2%, Michoacán el 14% y Guanajuato aportó el 7.3%, es decir que tres estados de la república concentran  $\frac{3}{4}$  partes de la producción y los cuatro estados aportaron el 83.5%. El historial de esta producción ha ido en aumento ya que para el año de 1991 la producción fue de 75 159 toneladas y para el año de 1995 esta fue de 95 563 toneladas. Aunque Nayarit se mantiene como el principal productor con pocas variaciones en su participación (al rededor del 44%); la participación en su conjunto de los cuatro estados mencionados se ha reducido desde un 90% en el año de 1995 hasta el 83.5% señalado anteriormente. La participación de otros estados en la producción como Guerrero y Puebla han llevado la mencionada disminución (SAGARH, 1999).

El cultivo de jícama puede estar asociado con el de maíz y frijol, permitiendo al campesino obtener productos de autoconsumo antes de efectuarse la cosecha de la jícama. La importancia social de su cultivo radica en que cerca del 50% del total de productores provienen de familias de escasos recursos.

### **2.3. COMPARACION NUTRIMENTAL DE LA JICAMA CON OTRAS RAICES**

El valor nutritivo de la jícama comparada con otras hortalizas de mayor consumo se presenta en el Cuadro 2. La jícama, es un producto que puede aportar menos energía que la papa y zanahoria, pero más que el camote. Contiene 10 veces más proteína que la papa y la zanahoria y es comparable con el camote. Es relevante su contenido de fibra ya que representa del 0.6 al 1.4 % en comparación con el camote que presenta 1%. Las raíces de algunas leguminosas son usadas en varios países de África y Asia, como fuente de carbohidratos, pero si se consume en grandes cantidades, podrían contribuir de forma sustancial en los requerimientos de proteína.

De los pocos estudios que se tienen, la jícama de México contiene un 2.9% y un 3.08% de nitrógeno en base seca y su proteína tiene un perfil de aminoácidos donde sobresale su contenido en aspártico (Cuadro 3).

El aporte de vitaminas y minerales de la jícama en comparación con otras raíces, es relevante; ya que presenta un alto contenido de riboflavina y niacina, así como un alto contenido de ácido ascórbico similar al del camote (Sorensen, 1990/ INN, 1997).

Ramírez-Moreno (1999) estudió los cambios en los nutrientes de distintos materiales genéticos de jícama en la que incluyó dos variedades de jícama: *P. erosus* y *P. ahipa*, así como dos segregantes de un proceso de selección de variedades del INIFAP Celaya. Este estudio indicó que en especies de *P. ahipa* el contenido de materia seca fue alrededor de 17 y 19%, en tanto que en *P. erosus* este contenido fue de 9 %.

**Cuadro 1.** Principales estados productores de jícama

<b>Estados productores de jícama</b>	<b>Toneladas</b>
Aguascalientes	12
Baja California Sur	20
Guanajuato	7827
Guerrero	5637
Jalisco	1256
México	144
Michoacán	15463
Morelos	19610
Nayarit	47596
Puebla	6545
San Luis Potosí	384
Sinaloa	702
Tamaulipas	166
Veracruz	2150
Yucatán	300
Zacatecas	15
<b>Producción total</b>	<b>107827.18 Ton</b>

(SAGARH, 1999).

**Cuadro 2.** Comparación de la composición nutrimental de la jícama con otras raíces (por 100 g de materia húmeda ).

<b>NUTRIMENTOS</b>	<b>JICAMA</b>	<b>CAMOTE</b>	<b>ZANAHORIA</b>	<b>PAPA</b>
ENERGIA (Kcals)	39	103	44	76
HUMEDAD (%)	78-90	70.6	88.2	81
PROTEINA (g)	1.0-1.5	1.0	0.4	1.6
LIPIDOS (g)	0.09-0.8	0.4	0.3	0.1
CARBOHIDRATOS (g)	8-15	24	10.5	17.5
FIBRA (g)	0.6-1.4	1.0	0.9	0.5
VITAMINAS (mg/100g de porción comestible)				
AC. ASCORBICO	14-20	23	19	15
TIAMINA	0.05-0.5	0.09	0.04	0.07
ROBOFLAVINA	2	0.03	0.5	0.03
NIACINA	2	0.6	0.5	1.1
MINERALES (mg/100g de porción comestible)				
CALCIO	13-16	41	26	13
FOSFORO	16	----	----	----
HIERRO	0.5-1.1	1.0	0.6	2.7
COBRE	43	----	----	----

Sorensen, 1990 / INN, 1997.

**Cuadro 3.** Composición de aminoácidos de la jícama (base seca g aminoácido por 100 g de proteína) .

<b>AMINOACIDOS</b>	<b>JICAMA</b> g/100g proteína	<b>FAO (1973)</b>
Aspártico	55-14	
Isoleucina *	2.09	4-0
Treonina *	2.68	4.0
Leucina *	2.91	7.0
Serina	3.28	
Triptofano *	1.71	1.0
Glutamato	5.37	
fenilalanina *	2.31	6.0 ++
Prolina	2.53	
Histidina	2.53	
Glicina	1.86	
Lisina *	3.28	5.5
Alanina	2.46	
Arginina	7.38	
Valina	3.20	5.0
Cisteina	0.45	
Metionina *	0.82	3.5 +

(Evans y col,1977).

\*Aminoácidos esenciales

+ Incluye metionina + cistina

++ Incluye fenilalanina + tirosina

El contenido de azúcares en esta última especie varió entre 3.2 y 3.9%. De acuerdo con los datos reportados por esta autora el contenido de almidón en cada una de estas especies es de aproximadamente 15 y 3.5% para *P. ahipa* y *P. erosus*, respectivamente.

#### **2.4. PROBLEMATICA POSCOSECHA DE LA JICAMA Y ESTUDIOS DESARROLLADOS**

Mercado-Silva y *col.* (1998a) señalaron una diversidad de problemas a los que se enfrenta el manejo de jícama en poscosecha entre los cuales señalan el mal manejo del producto que causa un grave daño mecánico al mismo, la sensibilidad que este tiene al frío y el brotado. Dentro del primer aspecto se indica que éste daño se debe a que el producto es manejado en arpillas de aproximadamente 50-60 Kg o a granel con lo cual se propicia que el peridermo de esta raíz sea fácilmente desprendido ocasionando una grave pérdida de calidad visual del producto; estos autores señalan que los estudios referentes para aliviar este problema eran nulos y aportaron datos en los cuales señalaron que las raíces eran susceptibles de ser curadas para regenerar el peridermo y que una alta humedad relativa (95%) y una temperatura de 20°C eran necesarios para que el tejido se regenerara en una semana.

Bruton (1983), indicó que los principales organismos que atacan a la jícama en poscosecha son en orden de importancia: *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp.* y *Rhizopus stolonifer*, señalan que los dos primeros fueron colonizadores superficiales mientras que el tercero causó pudriciones internas y que el prerrequisito para que las infecciones se dieran fue el daño mecánico puesto que si los cultivos de estos microorganismos eran inoculados en raíces sanas estas no fueron infectadas.

Respecto del segundo aspecto; se ha indicado que la jícama es sensible al daño por frío y su calidad decrece rápidamente después de 12 días de almacenamiento a 10°C. Un síntoma evidente del daño por frío es la sensibilidad al ataque de microorganismos, especialmente de hongos; mientras que el oscurecimiento de la pulpa y la pérdida de su crujencia son los principales síntomas internos (Mercado y col., 1998b).

Barile y Esguerra (1984) encontraron que la calidad de las raíces de jícama se pierde después de 15 días cuando estas son almacenadas entre 0 y 10°C y que la calidad se mantiene mejor cuando estas son almacenadas a temperaturas entre 15 y 25°C.

Bergsma y Brech (1992) encontraron que los síntomas del daño por frío se incrementan cuando las raíces de jícama se transfieren de temperaturas de refrigeración a temperatura ambiente. Los síntomas de daño por frío en jícama incluyen pudriciones externas inducidas por las bajas temperaturas (0-5°C) y oscurecimiento interno inducido por temperaturas moderadas (5-10°C).

Orozco y col. (1990) así como Cantwell y col. (1992), realizaron un estudio sobre los cambios de calidad y cambios fisiológicos de raíces de jícama almacenadas a diferentes temperaturas. Sus resultados indicaron que la tasa de respiración de las raíces mantenidas a 10°C se incrementó conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento y que esta sobrepasó la tasa de respiración encontrada a 20°C. Mientras que las raíces mantenidas a 12.5°C mostraron poco cambio en su tasa de respiración. La calidad visual de las jícamas mantenidas a 12.5°C fue superior y no cambio después de sus transferencias a 20°C, mientras que las jícamas almacenadas a 10°C mostraron un decremento después de tres semanas de almacenamiento. Estos mismos autores señalaron que la permeabilidad de las membranas después de tres semanas, medida como liberación de iones o conductividad, fue dramáticamente alta en las raíces almacenadas a 0, 5 y 10°C.

Mercado y col. (1997) hicieron una comparación de la susceptibilidad al daño por frío de materiales genéticos procedentes de Nayarit y Guanajuato observando que existen diferencias, este reporte indica que son más susceptibles al daño por frío los materiales producidos en la zona del Bajío, ya que se presentaron síntomas de este desorden en un lapso de una semana a 10°C en tanto que los materiales de Nayarit lo presentaron después de tres semanas.

En otro trabajo Mercado-Silva y Cantwell (1998) estudiaron jícamas de la variedad 'Agua Dulce' almacenadas a 5, 10, 13 y 20°C por un periodo de hasta tres semanas encontrando que a 5 y 10°C se incrementaron las tasas de pérdida de agua y que esta fue del doble respecto de la mostrada por las raíces almacenadas a 13 y 20°C. Este estudio sugiere que la tasa de pérdida de agua podría ser un indicador de daño por frío. También señalaron que la pulpa de las raíces almacenadas a 10°C presentó zonas de color café que fue correlacionado adecuadamente por una disminución del valor de color L\*. La textura disminuyó en forma notable en las muestras conservadas a 10°C en tanto que las muestras almacenadas a 13 y 20°C conservaron su crujencia.

Mercado-Silva y col. (1998b) así como García (1998) realizaron un estudio comparativo de cinco variedades de jícama de la zona del Bajío, indicando que todas ellas fueron susceptibles al daño por frío mostrando incrementos de pérdida de peso, aumento en la tasa de respiración, oscurecimiento de la pulpa, disminución de calidad y pérdida de textura.

Ramírez-Martínez (1999) realizó un estudio comparativo de las actividades de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL) y de la polifenol oxidasa (PPO) así como del contenido de fenoles solubles en etanol en dos especies de jícama (*Pachyrhizus erosus* y *P. ahipa*) durante su almacenamiento a 10 y 20°C indicando que *P. ahipa* fue mas tolerante al frío y que la actividad de PAL se incrementó durante el almacenamiento a 10°C en tanto que la actividad de PPO no explicó completamente el fenómeno de oscurecimiento.



Paull y Chen (1988) estudiaron los cambios composicionales de jícamas almacenadas a 12.5 y 22°C en un periodo de cinco meses, encontrando una continua degradación de almidón y sus correspondientes incrementos de sacarosa durante el almacenamiento así como también una pérdida de azúcares reductores. Los cambios fueron mayores a 12.5 que a 20°C.

Toda esta serie de estudios han indicado que la jícama de la especie *P. erosus* es muy susceptible al daño por frío y que este se manifiesta por una mayor susceptibilidad al ataque de microorganismos, oscurecimiento interno, pérdida de textura, incremento en la tasa de pérdida de agua y peso y se sospecha que durante el proceso se presenta un fenómeno de degradación de almidones y su consecuente generación de azúcares. Así mismo se sospecha que pueda existir algún otro tipo de reacción que lleve al oscurecimiento.

## **2.5. ASPECTOS GENERALES DEL DAÑO POR FRIO**

La exposición a bajas temperaturas puede ocasionar alteraciones metabólicas que inducen daños fisiológicos que se traducen en pérdida de calidad de los productos. Este desorden fisiológico se le ha denominado “daño por frío” y llega a ser particularmente agudo en los productos de origen vegetal nativos de áreas tropicales y subtropicales, cuando se someten a temperaturas entre 0 y 15°C (Kader, 1992).

La respuesta fisiológica de los productos al estrés por bajas temperaturas se manifiesta como alteraciones en la biosíntesis de etileno, en la velocidad de respiración, en la inhibición de la corriente citoplasmática, en una mayor pérdida de solutos y en el desacoplamiento en la fosforilación oxidativa, entre otros.

Varias de estas respuestas dan un conjunto de síntomas visuales, que pueden presentarse tanto externa como internamente en el producto. Estos síntomas pueden ser desde pequeños hundimientos en la superficie, desarrollo pobre en

color, hasta pudriciones, ablandamientos y pérdida general de la estructura, lo cual puede causar severas mermas en la calidad del producto en poscosecha.

Generalmente se considera que la respuesta primaria debido a las bajas temperaturas es de naturaleza física. El daño directo por estrés a las bajas temperaturas da como resultado cambios en las propiedades físicas de las membranas celulares; dando una serie de posibles daños indirectos o disfunciones. A esas temperaturas ocurre una transición de fase que afecta la fluidez de la membrana esto además coincide con el umbral de las bajas temperaturas en al menos algunas especies sensibles al frío. Los cambios de fluidez probablemente ocurran en microdominios dentro de la membrana. Alternativamente, las bajas temperaturas pueden tener un efecto directo sobre proteínas clave de rutas metabólicas específicas resultando en un daño total o parcial.

Después de una suficiente exposición a las bajas temperaturas, da como resultado respuestas secundarias, por ejemplo, la pérdida de integridad de la membrana, pérdida de solutos, pérdida de la compartimentalización y cambios en la actividad enzimática. Estos cambios secundarios generan la manifestación eventual de los síntomas del daño por frío (Raison y Orr, 1990). El daño puede expresarse como lesiones en la superficie, inhibición de la maduración, oscurecimiento, inhibición del crecimiento, pudriciones y marchitamiento.

El resultado de las disfunciones de los primeros cambios moleculares inducidos por las bajas temperaturas puede ser reparado y/o reversible en algunas especies cuando el tejido es regresado a condiciones de no daño (Kays, 1991). Después de superar el tiempo crítico el daño es irreversible.

### **2.5.1. SINTOMAS DEL DAÑO POR FRIO**

Las respuestas iniciales a las bajas temperaturas son consideradas como físicas aquellas que incluyen las alteraciones en la membrana y disfunción de

proteínas/enzimas. En segundo lugar se encuentran los cambios fisiológicos (cambios en la biosíntesis de etileno, alteraciones en la velocidad de respiración, inhibición de la corriente protoplasmática) que ocurren con el tiempo, así como la pérdida de la integridad estructural de la membrana y la calidad total (Morris, 1982).

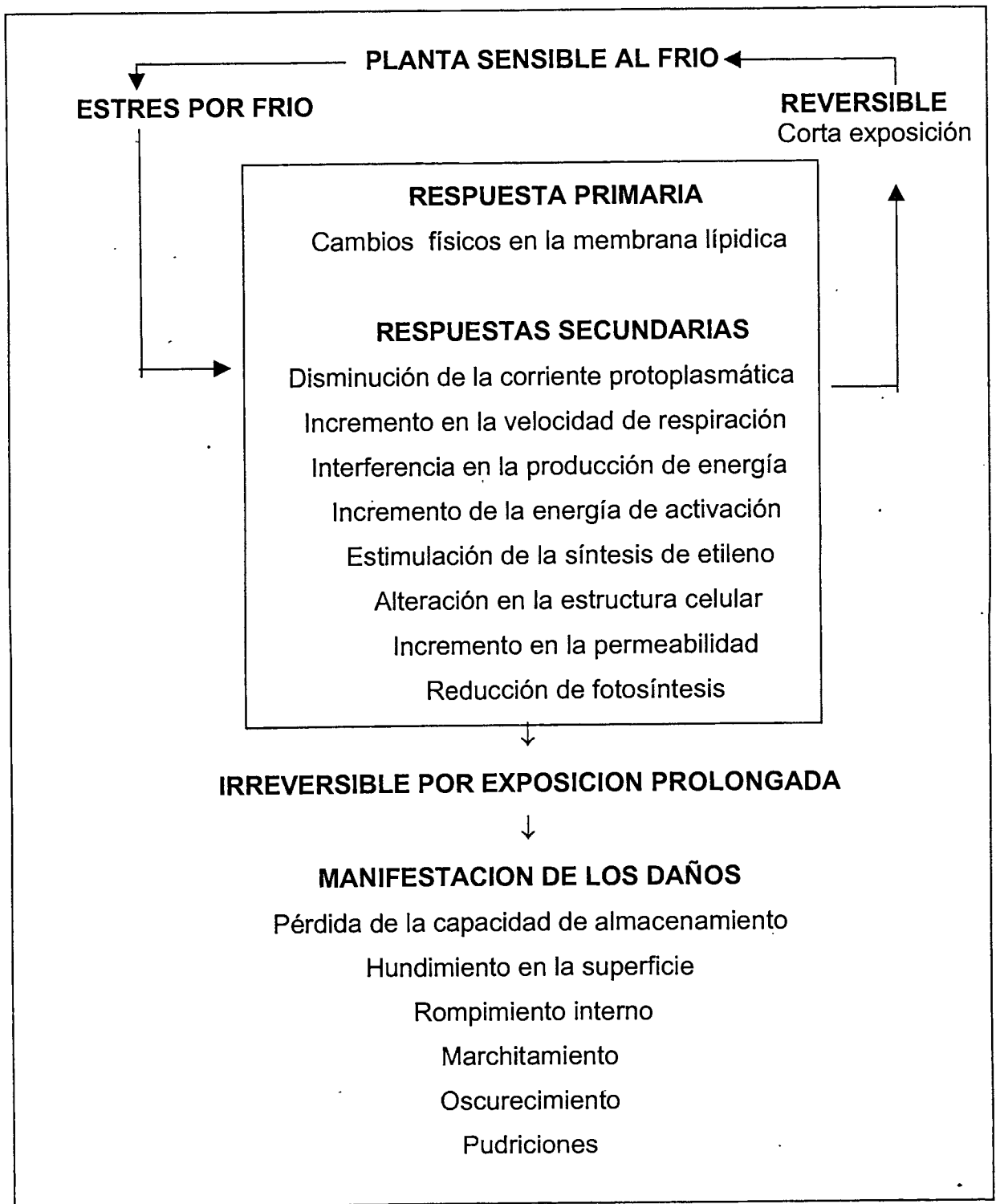
Los síntomas que se presentan después de una exposición a bajas temperaturas no son exclusivos de este estrés, sin embargo, la coincidencia de varios de ellos después de un tratamiento, son indicativos del daño. Su aparición puede ser retardada por la baja temperatura, por lo que generalmente se presentan después de transferir los productos a temperatura ambiente. Por otra parte, la severidad ésta en función del tipo de tejido, el estado de desarrollo de la planta y el tiempo de exposición a las bajas temperaturas (Figura 1).

Las raíces y tubérculos, como las jícamas y papas pueden almacenarse a bajas temperaturas por periodos cortos; sin embargo, debido a su alto contenido de almidón, éste puede degradarse provocando endulzamiento del producto. El endulzamiento y el oscurecimiento de la pulpa son algunos de los síntomas del daño por frío.

En el Cuadro 4 se indican el tiempo y la temperatura requeridos para desarrollar los síntomas del daño por frío en algunas frutas y hortalizas.

## **2.6. ENDULZAMIENTO POR BAJAS TEMPERATURAS**

Kumar y *col.* (2000); han indicado que los tubérculos de papa acumulan azúcares reductores en respuesta a las bajas temperaturas (endulzamiento por bajas temperaturas) y también por envejecimiento de largo término (endulzamiento senescente).



Raison y Orr, 1990

**Figura 1.** Esquema simplificado de las respuestas al frío en plantas sensibles.

**Cuadro 4.** Tiempos y temperaturas requeridos para desarrollar síntomas de daño por frío en diferentes frutas y hortalizas.

Producto	Estado de maduración al enfriamiento	Criterio	Temperatura °C	Tiempo crítico en días
Aguacate (1)	Preclimatérico	A	2	31
	Climatérico	A	2	19
	Postclimatérico	A	2	43
Berenjena (1)	Inmadura	C	1	5
		D	1	8
	Normal	C	1	7
		D	1	5
		C	1	12
Melón (1)	Madurado	A	5	16
	Maduro	A	5	>19
Mango (1)	Cambiante	A	1	<7
	Maduro	A	2	7-14
Papaya (1)	Cambiante	A	2	9
	60% Madura	A	2	18
Piña (1)	Base doblada	C	7.5	3
	Amarillo intenso	C	7.5	7
Plátano (1)	Verde maduro	B	5	5
	Madurado	A	1	<1
		A	2	1
Tomate (1)	Verde maduro	A	0	10
	Madurado	A	0	>30
Toronja (1)	Verde	A	4.5	20
	Amarilla (*)	A	4.5	30
Jícama (2)	Comestible	A	12.5	7

(1) Paull,1990. (2) Cantwell y col.,1992.

A. Síntomas visibles.

B. Maduración fisiológica.

C. Oscurecimiento interno.

D. Hundimientos o picaduras

(\*) Tratada con etileno por 48 horas.

De forma general se conoce que muchas plantas se endulzan en el otoño y principios de invierno y las investigaciones muestran que disminuyendo la temperatura por debajo de 10°C puede apreciarse la acumulación de azúcares en diversos tipos de plantas (ap Rees y *col.*, 1981).

Este fenómeno ha atraído la atención de muchos investigadores desde varios puntos de vista; por ejemplo desde el punto de vista de interés fisiológico, se piensa que este endulzamiento sea parte de las respuestas de las plantas para resistir las heladas o bajas temperaturas a las cuales se someten durante la temporada invernal; para realizar estudios sobre los efectos del frío en el metabolismo, y hasta desde el punto de vista económico, ya que en productos como la papa al almacenarse a bajas temperaturas y presentarse este fenómeno disminuyen grandemente su calidad y tiene un efecto drástico sobre sus características de procesamiento, puesto que se presenta el fenómeno de oscurecimiento no enzimático al reaccionar los grupos amino libres con los azúcares generados durante el almacenamiento. Aunque también se ha indicado que este proceso es reversible si los productos refrigerados se trasladan a temperaturas superiores (Kumar y *col.*, 2000).

Debido a este fenómeno, las ventajas del almacenamiento refrigerado se ven disminuidas ya que se considera que el desarrollo de pudriciones sea debido a la acumulación de azúcares.

La papa y muchas otras plantas y partes de plantas (hojas, tallos, raíces y frutos) presentan este fenómeno que se atribuye a la degradación del almidón a azúcares simples después de la exposición a temperaturas menores de 10°C (O'Donoghue y *col.*, 1995).

El endulzamiento por bajas temperaturas es generalizado, pero no es una característica universal de plantas superiores. Aunque según ap Rees (1981), el fenómeno puede estar más difundido entre las plantas de lo que se cree ya que en

aquellas con altos contenidos de azúcares, es difícil establecer diferencias durante el proceso.

Se ha indicado que los tipos de azúcares acumulados durante el proceso pueden variar dependiendo del tipo de planta pero en general se ha indicado que la sacarosa es el azúcar que se acumula dentro de los tejidos. Aunque también se puede acumular rafinosa, estaquiosa, hexosas y alcoholes de azúcares (Levitt, 1980). Pollock y ap Ress (1975), encontraron que enfriando tubérculos de papa a 2°C después de cinco días se acumuló gran cantidad de sacarosa y en menor cantidad azúcares reductores y que esta acumulación de hexosas estuvo relacionada con la actividad de invertasa; por lo que ellos sugirieron que la acumulación de estas hexosas era debida a la hidrólisis de la sacarosa. No obstante, ap Ress y *col.* (1981), indicó que la cantidad de azúcar acumulado es relativamente pequeño y que esta varía con el tipo de planta y con las condiciones de crecimiento de la misma.

Inicialmente se había pensado que el fenómeno de endulzamiento de ciertas plantas podría estar relacionado con su tolerancia a las heladas. Sin embargo, en otras no existe un paralelismo entre la acumulación de los azúcares y la tolerancia a las heladas y en otras más no existe ninguna correlación; así por ejemplo la papa no presenta tolerancia al frío y la caña de azúcar es muy sensible al frío y en otros casos la tolerancia al frío no está acompañada del endulzamiento (ap Ress y *col.*, 1981). Estos investigadores anotaron que el endulzamiento es una respuesta inevitable del metabolismo de las plantas a las bajas temperaturas y que tal respuesta no tiene nada que ver con la tolerancia la frío.

No se tiene un conocimiento completo del fenómeno de endulzamiento ocasionado por las bajas temperaturas ni tampoco como estas afectan a las rutas metabólicas involucradas. Se sabe que hay síntesis de sacarosa durante el proceso y que de los dos sistemas enzimáticos que la pueden sintetizar (sacarosa sintasa y sacarosa fosfato sintasa seguida de sacarosa fosfato fosfatasa), la segunda es la que opera

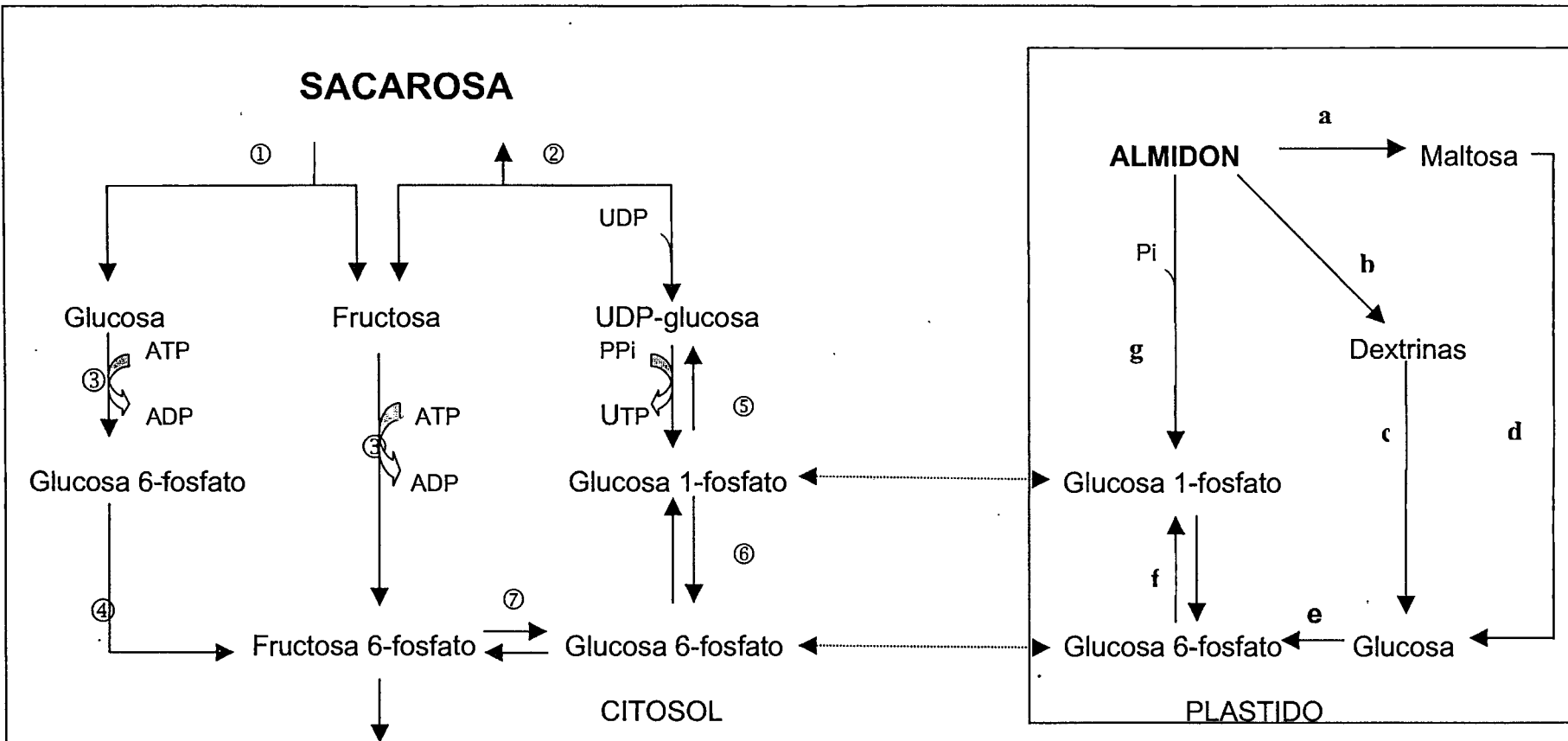
el endulzamiento en papa y que la conversión de sacarosa a hexosa está mediada por una invertasa ácida (Figura 2). Aunque no existen estudios al respecto, se considera que la acumulación de rafinosa y estaquiosa siguen las mismas rutas empleadas por todas las plantas. Es decir, la UDP galactosa se une con el mio inositol por vía enzimática para generar galactinol; el cual en presencia de sacarosa y a través de otra enzima regenera el mio inositol y genera la rafinosa; la cual nuevamente con el galactinol genera la estaquiosa.

Las rutas de síntesis de sacarosa anteriores indican que las hexosas 6 fosfato son la fuente inmediata del azúcar que se acumula por el frío; por lo que se considera que la fuente de estos azúcares se deba a un rompimiento del almidón. Isherwood citado por ap Ress (1981), encontraron que el contenido de almidón disminuía mientras que el de sacarosa aumentaba en forma equivalente lo cual sugirió que el almidón era la principal fuente o quizás la única fuente de carbono para el proceso de endulzamiento.

Existe una amplia distribución de enzimas que pueden llevar a cabo la degradación del almidón entre las que se puede mencionar la  $\alpha$ -glucan fosforilasa,  $\alpha$ -amilasa,  $\beta$ -amilasa y maltasa y por ello se ha indicado que el rompimiento del almidón podría ser fosforolítico o hidrolítico o ambos y aunque existe evidencia que la actividad fosforolítica (almidón fosforilasas) es una de las principales acciones a las que se le atribuye el rompimiento del almidón, ningún trabajo ha mostrado que las enzimas hidrolíticas no estén involucradas.

Respecto de la acción de la almidón fosforilasa, Kumar y *col.* (2000) trabajando con tubérculos de papa almacenados a 4°C por periodos de 2 a 26 meses, indicaron que la almidón fosforilasa parece contribuir más al endulzamiento senescente y en mucho menor medida en el endulzamiento por bajas temperaturas y que es probable que actúe en conjunto con otras enzimas degradadoras o sintetizadoras del almidón.





**Figura 3.** Metabolitos mayores y enzimas involucradas en la conversión de almidón a sacarosa en plantas. ①, Invertasa; ②, Sacarosa sintetasa; ③, Hexoquinasa; ④, Fosfoglucosa isomerasa; ⑤, UDP-glucosa pirofosforilasa; ⑥, Fosfoglucomutasa; ⑦, Fosfoglucosa isomerasa; a, β-amilasa; b, α-amilasa; c, enzima desramificante; d, α-glucosidasa; e, Hexoquinasa; f, fosfo glucoisomerasa; g, almidón fosforilasa;

Bajo otro enfoque Doucette y Pritchard, (1993) trabajando con papas tolerantes al endulzamiento (ND860-2) y sensibles al mismo (Norchip) almacenadas a 4 y 10°C encuentra que asociado a la acumulación de azúcares ocurrió un incremento fuerte del ácido abscísico (ABA) siendo este particularmente alto en el tejido medular y más notable en la papa sensible. Mientras que en un experimento de cultivo de tejido del cultivar ND860-2 adicionado con 10 mM de ABA a 3°C provocó incrementos de fructosa y glucosa; lo cual indica mucho de la participación de este regulador en el proceso aunque estos mismos investigadores indican que falta mayor investigación al respecto para establecer el mecanismo de acción de este compuesto.

Como se puede apreciar, el conocimiento de los mecanismos del endulzamiento por bajas temperaturas es todavía escaso. Se sabe que si por técnicas genéticas se logra la expresión de un inhibidor de la invertasa se previene el endulzamiento por bajas temperaturas en papa (Greiner, 1999); esto hace pensar que el fenómeno es probablemente más complicado de lo que parece. Un grupo de investigación del Instituto Max Planck de Fisiología Molecular de Plantas en Golm Alemania indican que la inhibición de un gene nuevo involucrado en la fosforilación del almidón en tubérculos de papa transgénicos lleva a la represión del endulzamiento inducido por el frío; esto indica que la presencia de grupos ester fosfatos dentro del almidón son importantes para que el fenómeno se dé. Este grupo ha identificado la proteína (R1) responsable de llevar a cabo esta fosforilación y por técnicas antisentido han logrado reducir el número de esteres de fosfato en la molécula de almidón generando fenotipos con grupos reducidos de fosfato en su molécula los cuales fueron incapaces de degradar su almidón aún en la oscuridad y en papas almacenadas bajo frío.

Este mismo grupo indica que el almidón de papa tiene excepcionalmente un alto contenido de grupos fosfato; si esto se relaciona con lo anteriormente asentado, se podría pensar que el fenómeno de endulzamiento es más importante en papa que en otros tipos de tejidos. No obstante, no se conoce con exactitud el contenido de

grupos fosfatos en otros tipos de almidones pero si se ha reportado disminución del contenido de almidón e incrementos de los sólidos solubles y de sacarosa en jícama como lo indican los hallazgos de Paull y Chen (1988); Bergsma y Brech (1992) y Ramírez-Moreno, (1999). Kleihenz y col. (2001) mostraron incrementos de sólidos solubles para el caso de castaña de agua (*Eleocharis dulcis*).

Un aspecto importante que se señala del fenómeno de endulzamiento es que este es un proceso reversible; es decir que durante el proceso de enfriado se da el endulzamiento y que si el producto es transferido desde temperaturas bajas a temperaturas altas hay una nueva síntesis de almidón. A temperatura ambiente, el balance de almidón-azúcar en papa y camote tiende fuertemente hacia la acumulación de almidón. Cuando esos vegetales son almacenados a temperaturas reducidas, el coeficiente de respiración disminuye y la conversión de azúcares a almidón también (Wills y col.,1998). Este aspecto llevó a considerar a varios autores que en un estado estacionario del metabolismo podría haber un equilibrio entre las cantidades de almidón y azúcar (ap Ress, 1981). Sin embargo estos mismos autores añaden que esto probablemente no ocurra de esta manera ya que la sacarosa se forma a partir del almidón a través de una ruta irreversible y que el almidón es formado a partir de sacarosa por una ruta diferente también irreversible por lo que no es muy adecuado hablar de un equilibrio entre el almidón y la sacarosa ya que no hay una forma directa de indicar que la acumulación de una lleve a la síntesis de la otra. La pura observación que el rompimiento neto del almidón no siempre se asocia con el endulzamiento también aporta evidencia en contra de esta observación.

Para establecer un mecanismo del proceso de endulzamiento por baja temperatura, es necesario tener en cuenta las localizaciones intracelulares de las rutas involucradas y como la temperatura podría afectar el movimiento de metabolitos entre los compartimentos. Se conoce que el almidón existe en los plástidos y por lo tanto las etapas iniciales de su degradación deberán de ocurrir en el interior de este organelo. Aunque no se conoce cuales productos de esta degradación son

exportados desde el amiloplasto si se sabe que la síntesis de la sacarosa puede ocurrir en la fase soluble del citoplasma.

### **2.6.1. POSIBLES MECANISMOS DEL ENDULZAMIENTO POR BAJAS TEMPERATURAS**

Con la información disponible en su momento y bajo la premisa de que el endulzamiento por bajas temperaturas sea debido a una redirección del metabolismo causada por un efecto diferencial de la disminución de la temperatura sobre el proceso que controla la formación de sacarosa a partir de almidón; ap Rees (1981), consideró que el mecanismo de control podría estar regulado por aspectos de compartimentalización celular, por un control grueso o por un control fino.

Dentro del control grueso se considera que la degradación del almidón y la síntesis de la sacarosa es alcanzada por la compartimentalización de los procesos y que por lo tanto el endulzamiento se deba en parte a los efectos del enfriado sobre esos mismos compartimentos. En este aspecto se recurre a la teoría de transición de fase de los lípidos de la membrana desde un estado líquido cristalino a sólido gel propuesta por Lyons (1973) y por Raison y Or (1990). De acuerdo con esto, el enfriamiento por debajo de los 10°C podría causar un cambio de fase en los lípidos de la membrana y que esto pudiera afectar la actividad de las enzimas ligadas a membrana y el movimiento de sustratos a través de estas mismas membranas en tal forma que cambiara o redireccionara el metabolismo. No obstante el valor de esta hipótesis, hasta ese momento no existían evidencias que indicaran que se presenta un cambio de fases durante el endulzamiento y que este cambio llevara a la alteración de la actividad de una enzima la cual a su vez llevara a la alteración del flujo metabólico.

Posteriormente, O'Donoghue y col. (1995) analizaron las propiedades de transición de fase, los parámetros de orden estructural y la degradación de los ácidos grasos de la membrana del amiloplasto de dos cultivares de papa; uno de ellos susceptible al endulzamiento (Norchip) y otro resistente (ND860-2) después de haber sido almacenados a 12 y 4°C durante 4 meses. La transición de fase fue mayor para Norchip en ambas temperaturas; así como también los parámetros de orden estructural fueron mayores en Norchip almacenada a 4°C y que de igual forma la degradación de los ácidos grasos insaturados fue mayor para la variedad sensible con lo que se aporta información de que este tipo de eventos que ocurren en la membrana puede estar asociado con el fenómeno de endulzamiento. García, (1998), analizando el contenido de los diferentes lípidos de la membrana plasmática de distintas variedades de jícama, encontró que el almacenamiento a 10°C durante una semana provoca una pérdida significativa de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina y señala que este aspecto es responsable del daño por frío en el producto.

Respecto del control grueso, es decir que la regulación sea debida a cambios relativamente lentos en las cantidades de enzimas activas en un tejido. Se considera que estos cambios pueden ser debidos a la síntesis o degradación de enzimas; o la liberación de enzimas de su forma inactiva y que estos cambios podrían llevar al redirección del metabolismo. Bajo este punto de vista, al llevar el tejido a condiciones de frío, por el control grueso podrían variarse las tasas relativas de degradación de almidón, síntesis de sacarosa y consumo de hexosas fosfato y que esto llevaría a la acumulación de azúcar. Sin embargo, debido a que se ha encontrado que la acumulación de azúcar ocurre en el transcurso de unas pocas horas (seis horas), se piensa que es improbable que halla cambios apreciables en las actividades de las enzimas en tan corto tiempo.

Por otro lado, debido a que siempre se ha observado que hay una apreciable fase lag del desarrollo de la tasa máxima de acumulación de azúcar se considera que el control grueso podría contribuir al establecimiento de esta tasa máxima. No

obstante, las mediciones que se han hecho de las actividades de las enzimas relacionadas con el metabolismo de la sacarosa y la respiración no indican cambios apreciables de las mismas durante el desarrollo del proceso de endulzamiento a baja temperatura; si se ha observado un incremento en la actividad de la invertasa pero este aspecto se considera secundario al proceso. Por ello se considera que si hubiera un papel regulatorio del control grueso, falta aportar mayor evidencia al respecto.

Respecto del control fino, se considera que éste causa cambios en las actividades de las enzimas ya presentes en la célula, que opera en segundos o minutos y que generalmente se debe a una alteración en la concentración de cofactores y efectores. Los estudios desarrollados han demostrado que los coeficientes de temperatura de las enzimas del metabolismo de carbohidratos varían con la enzima y con la temperatura. La sacarosa fosfato sintasa no se alteró durante el enfriado pero si se incrementaron los coeficientes para tres enzimas de la glicólisis, la fosfofructoquinasa, la gliceraldehido fosfodeshidrogenasa y la piruvato quinasa (Pollock y ap Ress, 1975); siendo estos coeficientes mayores para el intervalo de 2-10 que para 10-25°C por lo que estas enzimas son más sensibles al frío que la enzima responsable de la síntesis de sacarosa. Esta sensibilidad diferencial al frío de las enzimas glicolíticas podría generar un decremento desproporcionado en la glicólisis lo cual podría causar una desviación de hexosas 6 fosfato a sacarosa y de esa forma contribuir al endulzamiento.

Estudios con glucosa marcada suministrados a tejidos de papa enfriados a 2°C demostraron que efectivamente las hexosa fosfatos se acumulaban y que se restringía la salida de carbohidratos hacia la ruta de pentosas y respiración y que se inducía la acumulación de sacarosa; aunque también apuntaron que la fosfofructoquinasa es el principal punto sensible al frío en el metabolismo de los carbohidratos en papa (Dixon y ap Ress, 1980).

Los estudios de electroforesis, cromatografía de afinidad y calorimetría diferencial de barrido en la enzima fosfofructo quinasa han permitido determinar que la sensibilidad al frío de esta enzima se debe a la desnaturalización del complejo enzimático multisubunitario (Dixon y *col.*, 1981).

En jícama no existen reportes, respecto del efecto de las bajas temperaturas sobre el proceso de endulzamiento ni sobre el efecto del almacenamiento refrigerado sobre las actividades de las distintas enzimas de la respiración. No obstante, Cantwell y *col.* (1992) indicaron claramente que la tasa de respiración no se incrementó cuando las raíces eran mantenidas bajo refrigeración pero una vez que estas fueron transferidas de 10 a 20°C la tasa de respiración se incrementó en forma significativa. Esto probablemente tenga relación con la acumulación de hexosas fosfatos y la degradación del almidón durante el almacenamiento refrigerado.

## **2.7. IMPORTANCIA DEL ALMIDON EN LOS VEGETALES**

Dado los cambios que esta molécula sufre durante el almacenamiento refrigerado, es importante dar algunos aspectos de relevancia en la fisiología de las plantas. El almidón sirve como reserva energética, normalmente se almacena en organelos celulares conocidos como amiloplastos donde se acumula en partículas muy pequeñas conocidas como gránulos de almidón. Debido a que los gránulos de almidón ejercen una presión osmótica muy baja, las plantas pueden almacenar grandes cantidades de D-glucosa en una forma muy accesible, sin romper el balance de agua de sus tejidos. En el caso de frutos climatéricos, aquellos en estado inmaduro, el almidón constituye la mayor fracción de los hidratos de carbono, ya que los azúcares son muy escasos; a medida que la fruta madura, el polisacárido se hidroliza por la acción de las amilasas y mediante otros sistemas enzimáticos se produce sacarosa y fructosa que son las responsables del sabor dulce de los frutos cuando llegan a la maduración (Badui, 1981).

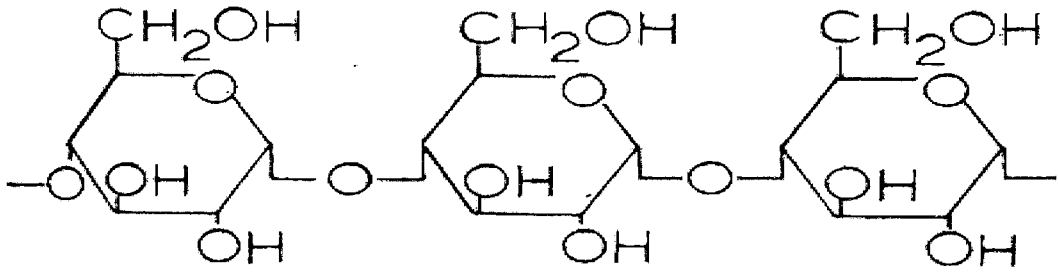
## 2.7.1. ESTRUCTURA DEL ALMIDON

El almidón es un polímero constituido por unidades de D-glucosa con enlaces lineales ( $\alpha$ -1,4) o ramificados ( $\alpha$ -1,4;1,6). De acuerdo con Smith y col. (1997), el almidón se compone de dos tipos de moléculas de polisacáridos, una lineal (amilosa) y otra ramificada (amilopectina) Figura 3.

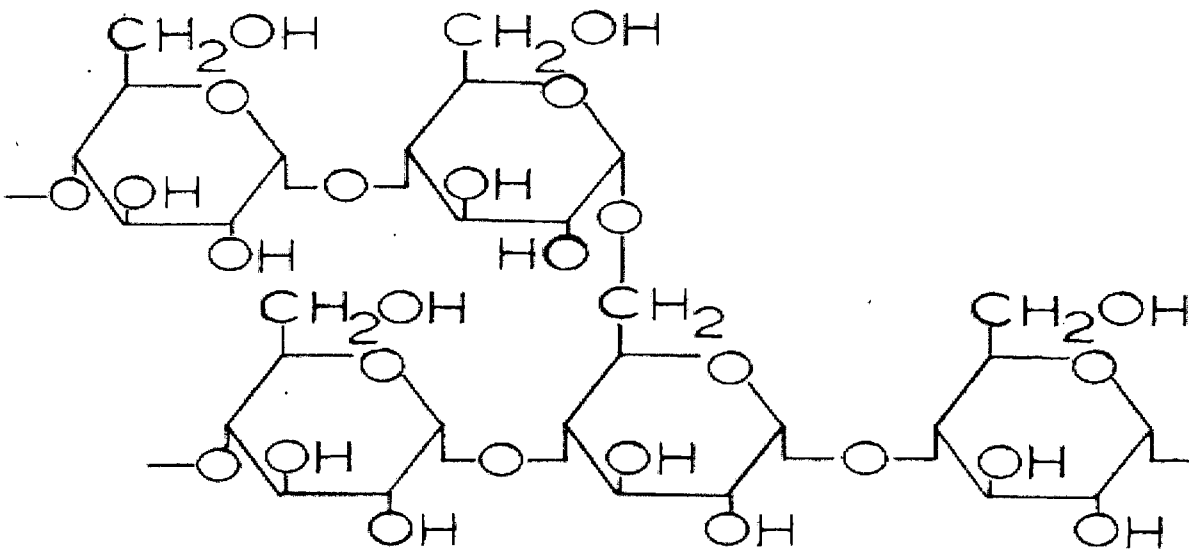
La amilosa y la amilopectina varían en proporción absoluta y relativa según las distintas especies y variedades de plantas. La amilosa, producto de la condensación de hexosas (D-glucopiranosas) forma cadenas largas lineales que pueden tener 200-2500 unidades, con pesos moleculares que llegan hasta un millón de daltones. Los monosacáridos están unidos a través de enlaces glucosídicos  $\alpha$ -D-(1-4) es decir, la amilosa es un  $\alpha$ -D-(1-4) glucano, siendo  $\alpha$ -maltosa la unidad repetitiva de esta estructura química. Una propiedad de la amilosa es su facilidad para adquirir una conformación tridimensional helicoidal. (Badui, 1981). Por otra parte, en la amilopectina la mayoría de los enlaces entre las unidades de D- glucosa de la amilopectina son de tipo  $\alpha$ -(1-4), como en la amilosa. Además un 4-5% de las unidades de glucosa están unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-6) y dan una estructura ramificada creciente.

Tres enzimas están directamente involucradas con la síntesis del almidón, la ADPglucosa pirofosforilasa, almidón sintetasa y la enzima ramificante. La enzima ADPglucosa pirofosforilasa es la responsable en todas las plantas de la síntesis de ADPglucosa, el sustrato para la síntesis de los polímeros de almidón. Está ampliamente aceptado que la amilopectina es elaborada en la superficie del gránulo de almidón por la enzima almidón sintetasa en una fracción soluble del amiloplasto. La enzima ramificante es la que cataliza la formación de los enlaces  $\alpha$ -1,6 de amilopectina, se cree que puede ser de gran importancia en la determinación de la estructura de la amilopectina (Smith y col., 1997).





**Amilosa**



**Amipectina**

**Figura 3.** Representación parcial de las moléculas de amilosa (lineal) y amilopectina (ramificada).

## 2.7.2. LOS GRANULOS DE ALMIDON

El almidón se encuentra en pequeños organelos discretos dentro de las células y reciben el nombre de gránulos de almidón. Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría debido a que su estructura está altamente organizada y presenta una gran estabilidad por sus múltiples interacciones entre sus dos polisacáridos constituyentes.

Industrialmente el almidón se obtiene de tubérculos, tales como papas, o de cereales que pueden contener hasta un 40 % de almidón de su peso fresco. El metabolismo del almidón desempeña un papel muy importante en los cambios que se producen en muchas frutas y vegetales durante el almacenamiento y preparación.

La síntesis de almidón o su degradación en azúcares sencillos constituye una importante reacción en los vegetales después de la recolección. La conversión en sacarosa y azúcares reductores ocurre cuando la mayoría de los tubérculos se conservan a temperaturas de 5°C. En las frutas en curso de maduración, las bajas temperaturas suelen retrasar la hidrólisis del almidón. En algunos vegetales, en particular semillas (chícharos, maíz, habas) y tubérculos (batatas, papa), puede predominar después de la recolección la síntesis del almidón más que la degradación. La síntesis del almidón es generalmente óptima a temperaturas superiores a la ambiente (Fennema, 1993).

## 2.7.3 ENZIMAS RELACIONADAS CON LA DEGRADACION DEL ALMIDON

Las enzimas que hidrolizan el almidón se denominan "amilasas". Se han estudiado a fondo dos amilasas: la  $\alpha$ -amilasa y la  $\beta$ -amilasa.

La  $\alpha$ -**amilasa** se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, es una de las enzimas que permiten la digestión de los almidones por la saliva y el jugo pancreático de los animales, también existe en los vegetales y microorganismos.

La  $\alpha$ -amilasa es una endoenzima responsable de la hidrólisis del almidón, específicamente en las uniones  $\alpha$ -1-4- glucosídicas de forma aparentemente al azar. A menudo se nombra a la  $\alpha$ -amilasa como enzima "licuante", debido a su rápida acción para disminuir la viscosidad de las soluciones de almidón. Como resultado de la degradación del almidón se generan dextrinas, oligómeros, maltosa y glucosa. La actividad de la  $\alpha$ -amilasa se favorece a bajas temperaturas en el caso de los tubérculos y raíces como la papa, camote, yuca (Brandani y *col.*, 1996).

Como ya se indicó, cuando la  $\alpha$ -amilasa actúa sobre un sol de amilosa, se observa una disminución de la viscosidad. La  $\alpha$ -amilasa ataca a los polisacáridos en las uniones glucosídicas a lo largo de las cadenas, por tanto, los primeros productos de la hidrólisis de la amilosa son una mezcla de amilosas de cadena más corta. A medida que avanza la hidrólisis, la  $\alpha$ -amilasa libera maltosa y algo de D-glucosa. La  $\alpha$ -amilólisis, de cadenas largas es un proceso al azar, aunque puede existir cierta preferencia en cuanto al lugar de ataque cuando el sustrato contiene cadenas más cortas. Cuando se somete la amilosa a la acción prolongada de la  $\alpha$ -amilasa, la mayor parte de esta se transforma en glucosa y en maltosa, y solo una pequeña proporción queda como una mezcla de polisacáridos de cadena corta que no sufren una hidrólisis, esta mezcla recibe el nombre de dextrinas límites de la  $\alpha$ -amilasa. La  **$\alpha$ -amilasa** también hidroliza a la amilopectina a partir de las cadenas exteriores, pero rompen las uniones  $\alpha$ -(1-4) entre los puntos de ramificación pero su acción se detiene, unas pocas unidades antes de alcanzar el punto de ramificación, resulta así que los productos de la  $\alpha$ -amilólisis de la amilopectina son glucosas, maltosas y oligosacáridos, que contienen cinco o más monómeros.

El calcio juega principalmente dos roles importantes en la actividad de  $\alpha$ -amilasa, la estabilidad de la estructura de amilasa y mantiene una conformación enzimáticamente activa (Fisher y *col.*, 1960).

El rol del calcio<sup>2+</sup> en  $\alpha$ -amilasa parece ser que mantiene la estabilidad secundaria y terciaria de la molécula. Esto no es evidencia para indicar que el calcio<sup>2+</sup> juega

directamente un rol en los enlaces o transformación del sustrato. El rol de los iones en la activación o inactivación de enzimas tiende parecer más general para los cationes. En algunos casos, ellos sirven para estabilizar la estructura de las enzimas. En otros casos ellos pueden enmascarar la influencia de un grupo prototrópico sobre la enzima o sustrato ligando o transformando el sustrato a producto (Whitaker, 1972).

La  $\beta$ -amilasa se halla exclusivamente en las plantas superiores, las mejores fuentes para su aislamiento son la papa y los granos de cebada germinados. El producto de la  $\beta$ -amilólisis de la amilosa es principalmente maltosa, y algo de glucosa que proviene del extremo no reductor de las cadenas que contienen un número impar de residuo y algo de dextrinas debido a la presencia de barreras. En el caso de la amilopectina, la acción de la  $\beta$ -amilasa se detiene en la vecindad de un punto de ramificación, resulta así que la  $\beta$ -amilasa hidroliza las cadenas externas de la amilopectina, dejando intacto un gran núcleo de la molécula de polisacáridos, delimitado por el punto de ramificación, este residuo recibe el nombre de dextrinas límites de la  $\beta$ -amilasa para la amilopectina (Braverman -Berk, 1980).

La  $\beta$ -amilasa es una exoenzima, es decir, que únicamente ataca las unidades extremas de las cadenas de almidón. Más específicamente, la  $\beta$ -amilasa separa por unidades de maltosa a partir de los extremos no reductores de la cadena de almidón.

La acumulación de azúcares reductores, como respuesta al almacenamiento por bajas temperaturas y periodos largos, indica que la catálisis fosfolítica del almidón esta involucrada en el aumento de azúcares, el papel de las fosforilasas en el endulzamiento por bajas temperaturas y endulzamiento por senescencia permanece sin resolver. La actividad de almidón fosforilasa se incrementa en un 60% en papas almacenadas de 2 a 26 meses a 4°C, 95% HR (Kumar y col., 2000).

#### **2.7.4. REACCION DEL ALMIDON CON YODO**

La reacción del almidón con el yodo es una reacción importante puesto que permite seguir el desarrollo de la degradación del almidón durante una reacción química o enzimática, a través de los cambios de color azul durante el desarrollo de las mismas. En esta reacción, el yodo interactúa con una cadena de amilosa de 7-8 moléculas de D-glucosa produciendo un complejo característico con el átomo de yodo que tiene un color azul característico. Se requiere un mínimo de 40 moléculas de D- glucosa para desarrollar perfectamente el color azul, por lo que las cadenas de amilosa de bajo peso molecular producen un color rojo con el yodo (Badui, 1981). Con yodo, las moléculas de amilosa adoptan rápidamente una estructura helicoidal que ocluye a los átomos de yodo. Este compuesto de inclusión en forma de canal es útil para la determinación cuantitativa de la amilosa y como indicador sensible, tanto para el almidón como para el yodo (Fennema, 1993).

#### **2.8. EL PROCESO DE OSCURECIMIENTO ENZIMATICO EN EL DAÑO POR FRIO**

El metabolismo de los fenoles está frecuentemente relacionado con la respuesta de las plantas al estrés causado por las condiciones ambientales extremas, ofreciendo protección y aumentando su resistencia (Bailey y Mansfield,1982; Dixon y Paiva,1995).

El papel biológico preciso de la mayoría de los compuestos fenólicos en las plantas no ha sido determinado aún, sin embargo, se han relacionado con el desarrollo de pigmentos, color y sabor desagradables. Algunos fenoles se han identificado como agentes alelopáticos, antifúngicos e inhibidores de la formación de algunas semillas (Kays,1991).

El oscurecimiento en las frutas puede ser de origen no enzimático y es el resultado de las reacciones de Maillard cuando combinamos aminoácidos y carbohidratos y

estos son sometidos a calentamiento. Sin embargo el mayor oscurecimiento y particularmente los tipos de oscurecimiento que ocurren muy rápidamente, son causados por la oxidación enzimática de los compuestos fenólicos bajo el efecto de polifenol oxidasa. Los primeros productos son quinonas, sustancias incoloras las cuales rápidamente se condensan y pueden o no combinarse con grupos amino o sulfhidrilos de proteínas. Relativamente insolubles los polímeros cafés pueden formar una sustancia cuya composición química todavía no esta bien definida.

La enzima que cataliza las reacciones de oscurecimiento de compuestos fenólicos es la enzima Polifenol oxidasa (PPO) que transforma los fenoles a quinonas seguida por la transformación de las quinonas a pigmentos oscuros. Este fenómeno generalmente ocurre en condiciones de estrés de la planta, en donde al perderse la integridad de las membranas en las células, los compuestos fenólicos compartamentalizados en las vacuolas, pueden entrar en contacto con la enzima PPO del citoplasma, dando lugar a la oxidación, polimerización y formación de los pigmentos oscuros.

Los cambios de color, también están relacionados con estos compuestos ya que cuando las células están dañadas o severamente estresadas, se pierde la integridad de las membranas, descompartamentalizando los fenoles de las vacuolas, facilitándose la acción de la enzima PPO del citoplasma, dando lugar a su oxidación, polimerización y a la formación de pigmentos involucrados en el oscurecimiento.

Tres diferentes situaciones pueden causar el oscurecimiento en frutas; la primera de ellas incluye el estado de desarrollo, la segunda se refiere al resultado de ciertos desordenes que pueden ocurrir durante el almacenamiento en frío, y la tercera se refiere a los procesos tecnológicos que involucran, el corte, o daño mecánico del tejido. La característica común en todos los casos es el facilitar el contacto entre los compuestos fenólicos presentes en la vacuola con las enzimas de oxidación localizadas en el citoplasma. Además de la descompartamentalización de los

fenoles, es necesaria la presencia de oxígeno para que la reacción de oscurecimiento pueda llevarse a cabo.

Aunque el oscurecimiento es generalmente considerado como un factor de deterioro, los productos del oscurecimiento pueden contribuir a la resistencia de cierto tipo de estrés. Aparentemente el oscurecimiento es uno de los primeros signos en respuesta al corte y ataque por hongos y las o-quinonas formadas tienen un efecto antimicrobiano (Macheix y col., 1990).

### **2.8.1. LOS COMPUESTOS FENOLICOS EN EL PROCESO DE OSCURECIMIENTO**

Los fenoles son metabolitos secundarios de plantas que incluyen un grupo de sustancias que tienen un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo.

En este grupo se incluyen: los flavonoides, ligninas, el ácido abscísico, los aminoácidos tirosina y dihidroxifenilalanina (DOPA), Coenzima Q, taninos y numerosos productos terminales del metabolismo (Kays, 1991).

Los compuestos fenólicos contribuyen al sabor característico de los frutos maduros. Sin embargo no es su única participación ya que también intervienen en el color, astringencia, sabor amargo, olor de los frutos, etc., estas características dependen del contenido de fenoles en el fruto. En este caso la estabilidad de las moléculas depende del medio ambiente en que se encuentre el fruto y en particular del oxígeno del medio. Estos compuestos ocasionan el deterioro de la apariencia del producto, de su sabor, del color, y de las cualidades nutritivas (Friedman, 1997).

Los fenoles se sintetizan a partir del fosfoenolpiruvato y eritrosa 4-fosfato a través de la ruta del ácido siquímico, para dar lugar al aminoácido aromático fenilalanina, que es un intermediario central de la síntesis de los fenoles (Figura 4), el cual es

desaminado e hidroxilado en la posición *p* del anillo fenólico, producido entre el ácido *p*-hidroxicinámico (Stinch,1991).

La fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza el primer paso del metabolismo general de los fenilpropanoides, en el que se produce el ácido *trans*-cinámico por desaminación de la fenilalanina. A partir de éste se sintetiza una amplia gama de compuestos fenólicos entre los que se incluyen flavonas, flavonoides, antocianinas y ligninas; por ello se supone que bajo condiciones de estrés la síntesis de esta enzima se activa. En muchos casos la síntesis, oxidación y polimerización de los fenoles son los factores a los que se ha atribuido el cambio de color (Ke y Saltveit, 1986).

### **2.8.2. ACCION DE LA PEROXIDASA EN EL PROCESO DE OSCURECIMIENTO**

La enzima peroxidasa (E.C.1.11.1.7), es parecida a la polifenol oxidasa ya que pueden tener como sustrato una gran variedad de compuestos fenólicos; es miembro del grupo de las oxidoreductasas y descompone el peróxido de hidrógeno en presencia de un donador de hidrógeno (Vamos,1981).

La mayoría de las peroxidasas son glicoproteínas que contienen un grupo hemo en el sitio activo, tienen la función primaria de oxidar compuestos a expensas de peróxido de hidrógeno. Se encuentran ampliamente distribuidas en los organismos vivos, con frecuencia en un gran número de isoformas (isoenzimas) las cuales le confieren actividad oxidativa para un mayor número de sustratos. Generalmente se localizan en el citoplasma o en membranas y en la mayoría de los casos se ha determinado que estas isoenzimas son producto de la expresión de diferentes genes. Sin embargo en muchas ocasiones las diferencias en isoenzimas se deben únicamente a modificaciones postraduccionales, por lo cual es posible encontrar diferentes peroxidasas en diferentes partes de la planta durante el crecimiento y



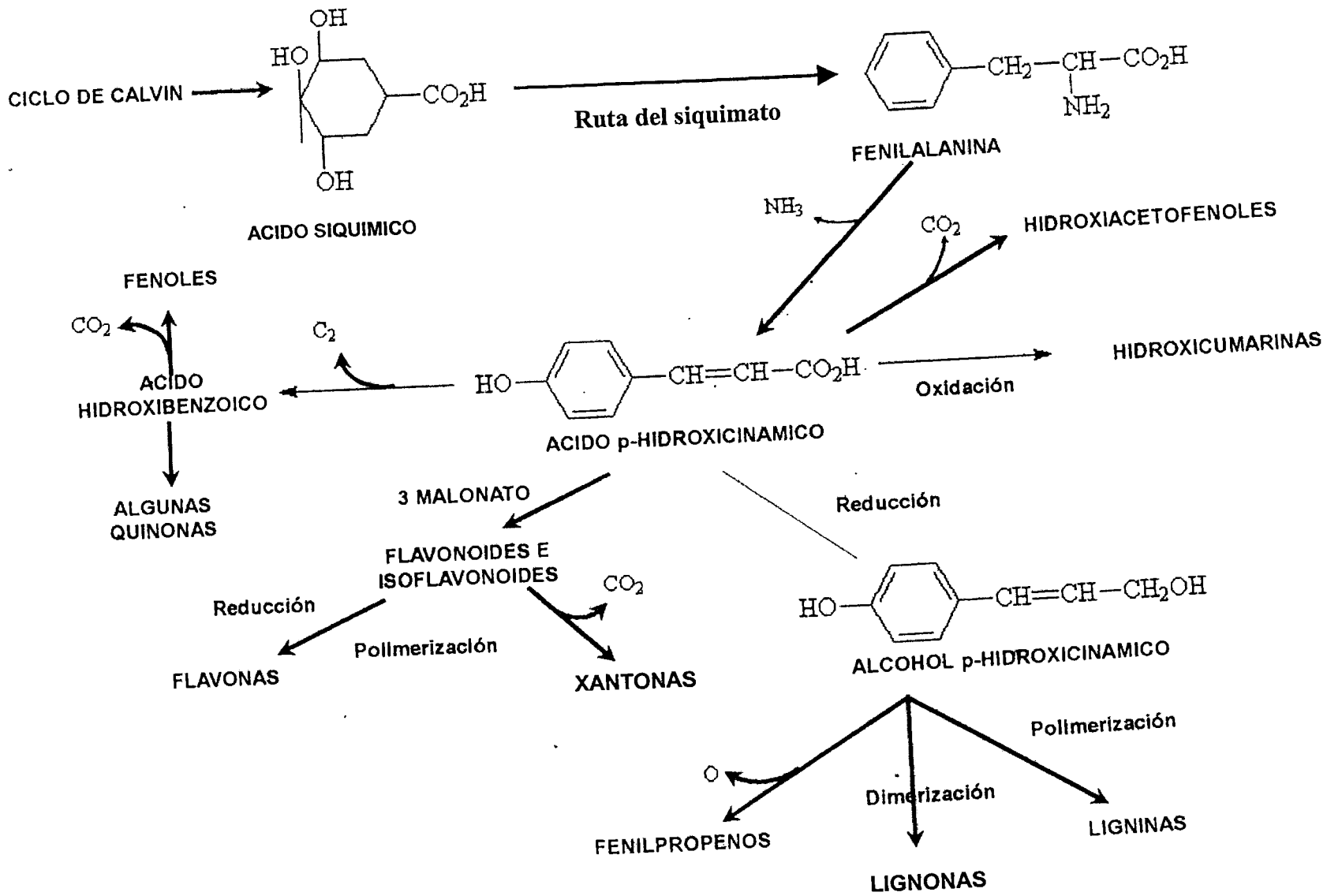


Figura 3. Biosíntesis de fenoles a partir del ácido siquímico y fenilalanina

desarrollo. Se ha observado también que pueden producir alteraciones en la especificidad de la enzima por el substrato al interactuar con fenoles (Campa,1991).

Se cree que la peroxidasa juega un papel muy importante en la degradación de la clorofila, proceso que acompaña a la madurez de la mayoría de los frutos y vegetales por lo que se ha considerado como un indicador de madurez y senescencia (Vamos, 1981).

En la industria de los alimentos la presencia o ausencia de peroxidasa ha sido utilizada para estimar la efectividad del proceso del escaldado, debido a que es una de las enzimas más estables al calor y puede ser la causa de cambios deteriorativos de vegetales durante el almacenamiento (Burnette, 1977).

La importancia del estudio de esta enzima radica en que esta asociada a la síntesis de ligninas participando en la formación de diferentes compuestos fenólicos precursores de esa molécula (Ross y col,1998).

Se ha indicado que bajo condiciones de estrés mecánico y/o patológico, la síntesis de esta enzima pueda ser inducida como respuesta a esos factores, el proceso de lignificación mismo o la oxidación de grupos fenólicos que al transferir sus protones puedan generar compuestos cuyo color se relacione con el oscurecimiento del tejido.

Las peroxidosas pueden estar también involucradas en la oxidación de un gran número de fenoles y son responsables del desarrollo de olores y sabores en los alimentos. Aunque estas enzimas juegan un papel importante en la fisiología de plantas y frutas, ellas parecen estar involucradas en las reacciones de oscurecimiento.

De acuerdo con los antecedentes aquí planteados; parece importante investigar que ocurre en la jícama durante su proceso de conservación en frío, en particular en los almidones que la componen así como definir si existe algún papel de la peroxidasa durante el proceso de oscurecimiento generado por las bajas temperaturas de conservación.

### **3. HIPOTESIS**

El almacenamiento de raíces de jícama a temperatura de refrigeración de 10°C favorece la actividad de  $\alpha$ -amilasa y peroxidasa resultando en el endulzamiento y en el oscurecimiento de la jícama.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar la participación de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y peróxidasa, en la generación de endulzamiento y de cambio de color en jícama *P.erosus* almacenada a 10 °C.

### 4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Evaluar los cambios de color, sólidos solubles, azúcares y pérdida fisiológica de peso en la raíz de jícama durante su almacenamiento a 10°C.
- Determinar el % de almidón en jícama después de 0 y 20, días de almacenamiento a 10°C.
- Medir la actividad de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y peroxidasa durante el almacenamiento de jícama a 10°C.

## **5. MATERIALES Y METODOS**

### **5.1. MATERIAL BIOLÓGICO**

Para el desarrollo del presente experimento se utilizaron jícamas de la especie *Pachyrhizus erosus* procedentes de la región de Santiago Ixcuintla del Estado de Nayarit y de la zona de Celaya, Guanajuato (Bajío). Las muestras se trasladaron en cajas de plástico al laboratorio de Fisiología y Bioquímica Postcosecha de Frutas y Hortalizas del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Facultad de Química y se almacenaron hasta su utilización a temperatura ambiente.

### **5.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

Se realizaron dos experimentos. En el primero se utilizaron jícamas de Nayarit para determinar los cambios de la actividad de  $\alpha$ -amilasa y de los parámetros físicos y químicos asociados al daño por frío como pérdida de peso, cambio de color, contenido de sólidos solubles, contenido de almidón y contenido de azúcares totales. Un segundo experimento con jícama del Bajío fue llevado a cabo para determinar los cambios en la actividad de peroxidasa durante el almacenamiento refrigerado de la jícama asociados a los mismos parámetros fisicoquímicos mencionados. Las Figuras 5 y 6 muestran el procedimiento experimental seguido en cada una de los experimentos realizados con sus respectivas transferencias.

En ambos experimentos se seleccionaron 51 jícamas con aspecto normal, libres de daño, y con un peso aproximado de 300 a 700g, estas fueron lavadas, marcadas y pesadas individualmente; para ser almacenadas a 10°C y 85% de HR por un periodo de 20 días. Un conjunto semejante de jícamas se almacenaron a 20°C y 85% de humedad relativa, como grupo control. Se realizaron muestreos en el grupo almacenado a 10°C en los días 0, 4, 8, 12, 16 y 20 tomando seis raíces en cada ocasión. Tres de ellas fueron analizadas el mismo día del muestreo y las otras tres

fueron transferidas a 20°C por cuatro días adicionales para finalmente ser analizadas de la misma forma.

### 5.3. METODOS UTILIZADOS

#### 5.3.1. PERDIDA DE PESO

La pérdida de peso se obtuvo calculando la diferencia de pesos entre el peso inicial y el peso en el momento de la determinación, para cada una de las muestras. Los resultados se expresaran como % de pérdida de peso respecto del peso inicial.C

CALCULOS:

$$\% pp = \frac{(P_i - P_f)100}{P_i}$$

Donde:

%pp = % pérdida de peso

Pi = Peso inicial

Pf = Peso final

#### 5.3.2. DETERMINACION DE MATERIA SECA Y HUMEDAD

La determinación de estos parámetros se realizó según el método 934.15 de la AOAC (1996). El método se basa en una determinación gravimétrica en la que se obtiene la diferencia de pesos en una muestra antes y después de secarla a una temperatura constante.

Muestras de jícama *P. erosus*

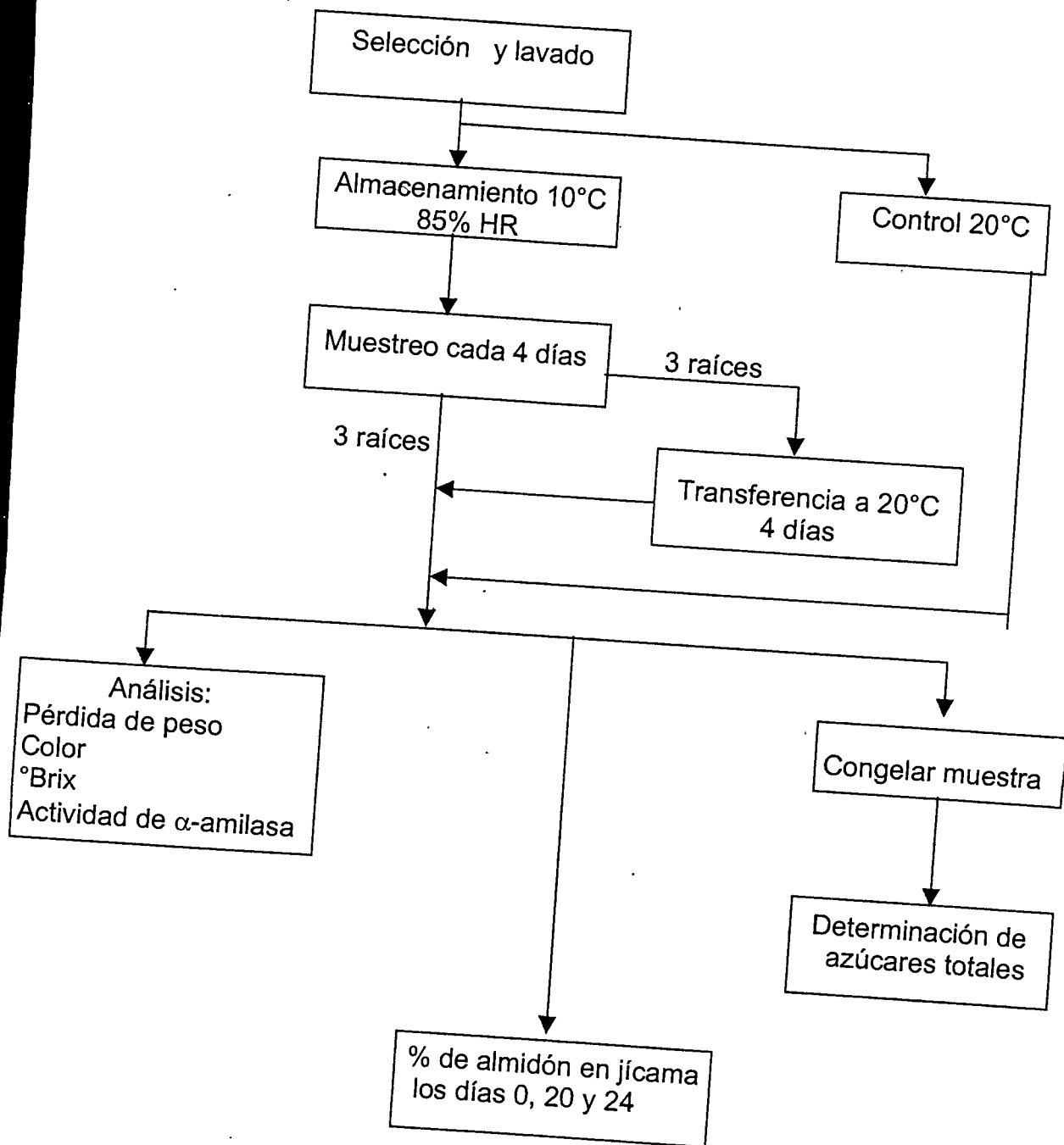
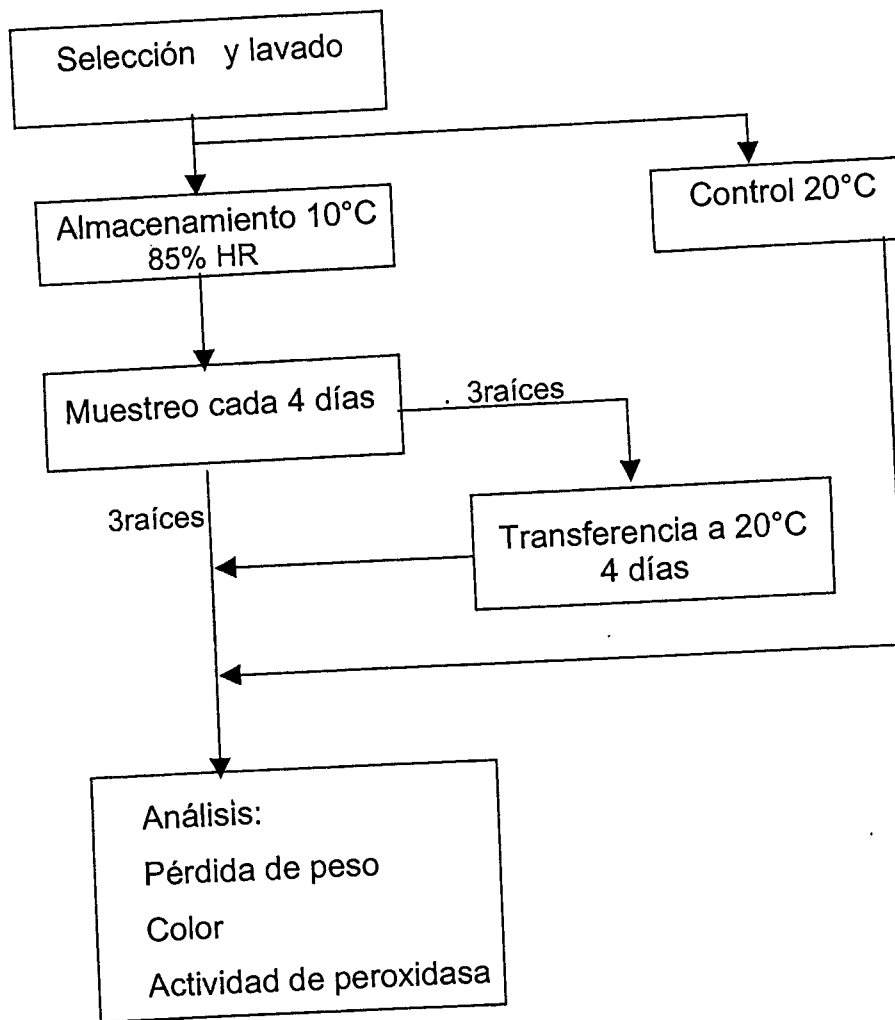


Figura 5. Esquema general del procedimiento llevado a cabo en el primer experimento para determinar la actividad de  $\alpha$ -amilasa y parámetros relacionados en jícama almacenada a diferentes temperaturas



Muestras de jícama *P. erosus*



**Figura 6.** Procedimiento desarrollado en el segundo experimento para seguir los cambios en la actividad peroxidasa en jícama almacenada a diferentes temperaturas.

Se pesó entre 1.5 y 2 gramos de muestra finamente picada en un recipiente de metal que previamente se puso a peso constante; la muestra se colocó en un horno a 105 °C y bajo vacío durante 12 horas. Al término de este tiempo, las muestras se transfirieron a un desecador hasta enfriarlos. Posteriormente se registraron los pesos en una balanza analítica.

CALCULOS:

Para el cálculo de humedad se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%PP = \frac{(Pr + Pms) - Pr}{(Pr + Pmh) - Pr} 100$$

Donde:

% pp = % de peso seco

Pr = peso del recipiente

Pms = peso de la muestra seca

Pmh = peso de la muestra húmeda

% HUMEDAD = 100- % Peso seco

### **5.3.3. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE SOLIDOS SOLUBLES TOTALES ( °Brix)**

Fracciones de tejido fresco fueron prensados en un exprimidor de ajos y el líquido extraído se colocó en la cámara de un refractómetro Abbé previamente calibrado con agua destilada y termostado a 20°C. Los valores obtenidos se expresaron como % de Sólidos Solubles Totales o °Brix.

### 5.3.4. COLOR INTERNO

Después de cada periodo de muestreo, los parámetros de color fueron determinados en la pulpa interna de las jícamas, usando un espectrofotómetro Minolta modelo CR-2002 previamente calibrado con un estándar blanco, se utilizó para la medición el iluminante D65 y observador 10°. Se registraron los valores de las coordenadas internacionales de color CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ), con los cuales se calcularon la cromaticidad ( $C^*$ ) y el ángulo de matiz ( $h^\circ$ ).

En estas coordenadas el valor  $L^*$ , se define como la luminosidad la cual varía en un intervalo del negro = 0, al blanco = 100. Los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  localizan el color en un sistema rectangular de coordenadas perpendicular a  $L^*$ , cuyo origen ( $a^* = 0$ ,  $b^* = 0$ ) es acromático (gris). El eje de la abscisas (x) mide el cambio del verde ( $-a^*$ ) al rojo ( $+a^*$ ), mientras que el eje de las ordenadas (y) mide el cambio de azul ( $-b^*$ ) al amarillo ( $+b^*$ ) (Minolta Corporation Manual, 1994).

Los parámetros de color  $a^*$  y  $b^*$  se relacionaron para calcular el ángulo de matiz ( $h^\circ$ ) y la cromaticidad ( $C^*$ ); índices análogos a la intensidad y saturación de color, respectivamente; según las ecuaciones siguientes (McGuire, 1992):

$$h^\circ = \arctan(b^*/a^*) \times 360 / 2\pi$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

### 5.3.5. DETERMINACION DE AZUCARES

Se siguió el método espectrofotométrico descrito por Buysse y Mercky, (1993) el cual se basa en el desarrollo de un compuesto colorido de los azúcares simples con fenol en un medio ácido leyéndose su absorbancia a 490 nm., la cuantificación de

azúcares en las muestras se hizo a través de la preparación de una curva de calibración con glucosa.

### **Preparación de reactivos.**

- a) Solución de fenol al 80%. 4 g de fenol fueron disueltos en 1 ml de agua destilada.
- b) Etanol al 95 %

### **Determinación de azúcares en las muestras.**

A 2 g de muestra de jícama finamente picada, se adicionaron 11.0 ml de solución de etanol al 95%. La muestra se homogeneizó y se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 12 horas, pasado este tiempo, la muestra se filtró al vacío con papel Whatman no.1. Del extracto anterior se tomaron 500  $\mu\text{L}$  y se diluyeron con 9.5 ml de agua desionizada; otra nueva dilución fue hecha con 500  $\mu\text{l}$  de esta dilución más 9.5 ml de agua desionizada. A 1 ml de este extracto, se le adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de fenol al 80% y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado, se incubó en agua a  $30^{\circ}\text{C}$  durante 20 minutos. Se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a 490 nm (el color de la solución debe ser estable durante 1 hora).

### **Preparación de la curva de calibración.**

La curva de calibración se preparó a partir de una solución estándar de glucosa de concentración 100  $\mu\text{g/ml}$ . Se pesó 0.01g de glucosa se diluyeron en 100 ml de agua desionizada, a partir de esta se prepararon dos series de tubos que contenían las siguientes concentraciones (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Curva de calibración de glucosa

Solución estándar de glucosa ( $\mu\text{g/mL}$ )	Solución estándar ( $\mu\text{L}$ )	Agua ( $\mu\text{L}$ )
0	0	1000
20	200	800
40	400	600
60	600	400
80	800	200
100	1000	.0

**CALCULOS:**

Con los datos anteriores y la absorbancia obtenida, se construyó una curva de calibración de absorbancia contra concentración de glucosa y con ella se llevó a cabo una regresión lineal para obtener una ecuación de ajuste de la recta con la cual se calcularon las concentraciones de azúcares en cada muestra.

$$y = a + bx$$

Donde:  $y$  = absorbancia

$x$  = concentración de azúcares ( $\mu\text{g}$  de glucosa / mL)

$b$  = pendiente de la recta

$a$  = ordenada al origen

Como un ejemplo de cálculo del procedimiento seguido para el caso de la jícama inicial; se muestra lo siguiente:

2g de tejido + 11 mL de etanol = 13 mL de solución

2g de tejido/ 13 mL de solución = 0.154 g de tejido / mL de solución

A partir de este extracto se hizo la primera dilución:

$$\frac{(0.154 \text{ g de tejido})(0.5 \text{ mL})}{(\text{mL solución})(10 \text{ mL})} = 0.0077 \text{ g de tejido / mL de solución}$$

ó también 7.7 mg de tejido/mL

Después de la segunda dilución se tiene la siguiente concentración de tejido en el extracto de medición:

$$7.7 \text{ mg de tejido/ mL de solución}(0.5 \text{ mL} / 10 \text{ mL} ) = 0.385 \text{ mg tejido/ mL solución}$$

X o sea la concentración de azúcares = mg tejido/ mL solución

El resultado anterior se multiplica por la concentración de azúcar obtenida a través de la curva de calibración con lo cual se obtiene el valor de contenido de azúcar por g de peso fresco.

$$[\text{Glucosa}] = \frac{X \text{ } \mu\text{g de glucosa}}{\text{g de tejido fresco}}$$

### 5.3.6. EXTRACCION DE ALMIDON

La extracción de almidón se llevó acabo de acuerdo con la metodología descrita por Mélo y col. ( 1994 ), la cuál se resume en la Figura 7.

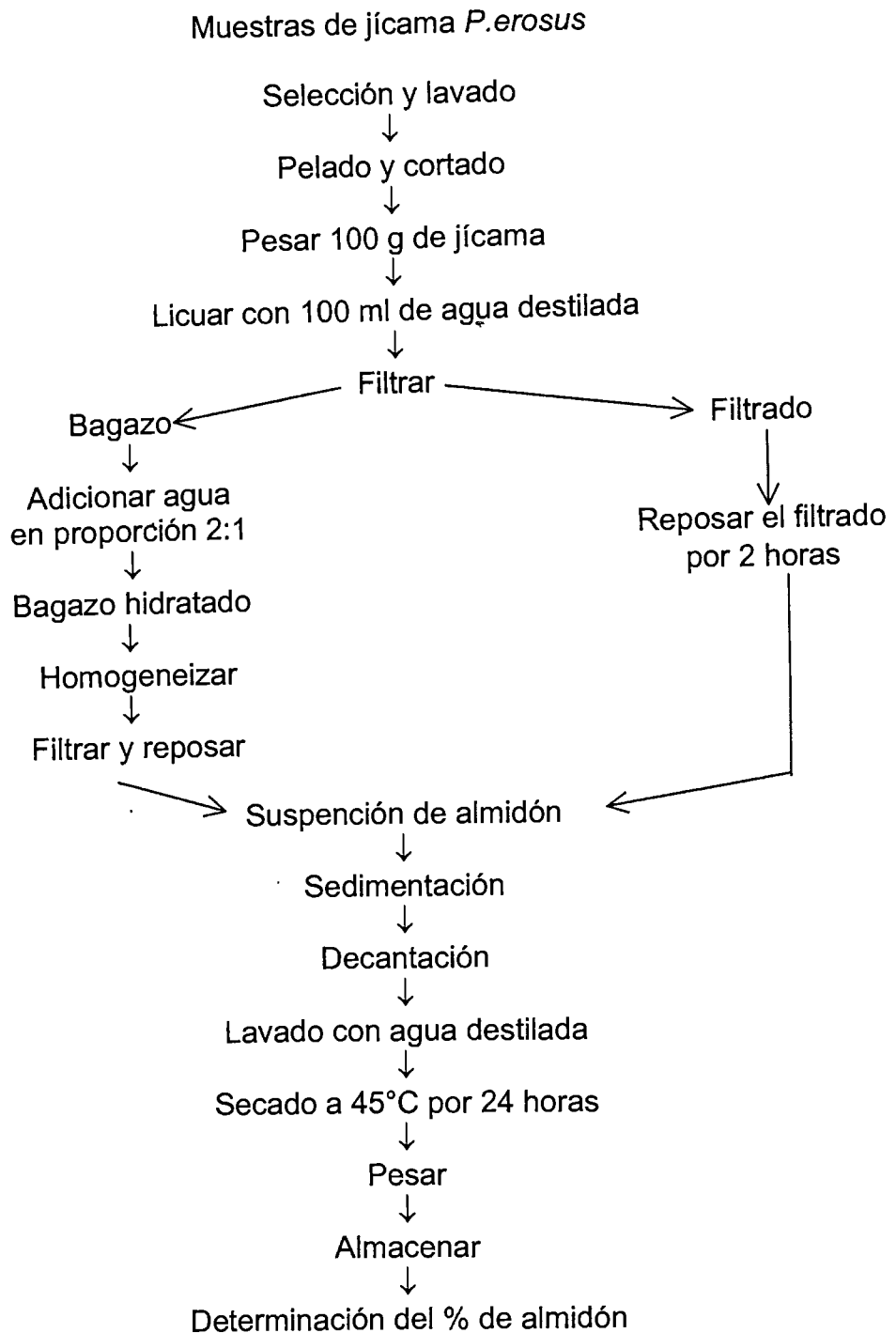
Las jícamas se lavaron y se les eliminó la cáscara, se pesaron 100 gramos de jícama previamente picada a los cuales se les agregó 100 ml de agua destilada y se homogenizaron en una licuadora durante 1 minuto. La mezcla se filtró en cuatro capas de manta de cielo, el filtrado se dejo reposar durante 2 horas obteniéndose un sedimento blanco el cual es almidón; el bagazo fue reextraído, bajo el mismo procedimiento, por dos veces más con agua en una proporción de 2 partes de agua por 1 de bagazo. Los sedimentos de cada extracción fueron -separados por decantación y posteriormente fueron lavados con agua destilada y sedimentados nuevamente para finalmente ser secados en un horno a 45°C durante 24 horas.

### 5.3.7. CUANTIFICACION DE ALMIDON

Para la determinación de almidón, se utilizo un kit de análisis enzimático de la Compañía Sigma Aldrich; STARCH ASSAY KIT, kit STA-20 el cual contiene una mezcla de  $\alpha$ -amilasa, amiloglucosidasa y peroxidasa. El principio de esta técnica es el siguiente: la hidrólisis de almidón a glucosa es catalizada por las enzimas  $\alpha$ -amilasa y amyloglucosidasa. La glucosa es oxidada a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno a través de una glucosa oxidasa. El peroxido de hidrógeno reacciona, en la presencia de peroxidasa, con ortodiasinidina reducida para formar un producto oxidado de la ortodiasinidina el cual tiene un color café que en presencia de ácido sulfúrico forma un producto de color rosa más estable. La intensidad del color rosa medido a 540 nm es proporcional a la concentración original de glucosa.

#### **Preparación de la muestra.**

Se molió la muestra y se pasó por un tamiz del No.-40, se pesaron 50 mg de muestra en tubos de ensayo, se adicionaron 5 ml de etanol al 80%, incubándose a 80-85°C por 5 minutos, se mezcló el contenido de los tubos y se le añadió nuevamente 5 ml de etanol, se centrifugaron los tubos por 10 minutos a 1000g; el sobrenadante se desechó y el precipitado se volvió a resuspender en 10 ml de etanol al 80%, nuevamente se centrifugó por 10 minutos a 1000g, se descartó nuevamente el sobrenadante, y al precipitado se le adicionó 2 ml de dimetilsulfoxido (DMSO); se mezcló y se incubo por 5 minutos en un baño de agua caliente; posteriormente se le adicionó 0.2 ml de etanol al 80% a cada muestra. En forma simultanea se llevo un blanco al cual se colocaron los mismos reactivos pero sin la muestra. Posteriormente se adicionaron 3 ml de agua tridestilada y 0.02 ml de  $\alpha$ -amilasa (reactivo 1 del kit) a cada muestra incluyendo al blanco, se mezcló e incubo por 5 minutos en baño de agua caliente y después de enfriados, se llevaron a un volumen de 10 ml con agua tridestilada y se mezcló.



**Figura 7.** Proceso para la extracción del almidón de jícama.



Un mililitro de cada tubo y del blanco reactivo, se les adicionó 1 ml del reactivo 2 del kit (solución de amiloglucosidasa), se mezclaron los tubos e incubaron por 15 minutos a 60°C en baño de agua caliente con agitación, se removieron los tubos y se enfriaron, después se diluyo 1 ml de cada muestra y del blanco reactivo en 10 ml de agua tridestilada.

### Determinación de glucosa.

La cantidad de glucosa a través de las enzimas amilasa y glucosidasa fue medida a través de otro ensayo enzimático con la glucosa oxidasa y peroxidasa. 0.8 ml del reactivo de *o*-diasinidina fueron añadidos a la mezcla de enzimas y se conservó bajo refrigeración a 2-8°C. Al momento de la determinación se prepararon una serie de tubos con las siguientes cantidades (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Preparación de muestras para la determinación de glucosa.

Reactivo	blanco (st)	standar	blanco reactivo	Muestras
agua desionizada (ml)	1.0	0.950		
estándar de glucosa en solución (ml)		0.50		
blanco de digestión de almidones (ml)			1.0	
Muestra de digestión de almidones (ml)				1.0

En el tiempo cero se inicio la reacción añadiendo 2.0 ml del reactivo preparado para el primer tubo, mezclándolo y dejándolo un intervalo de 30-60 seg entre los distintos tubos de análisis. Posteriormente los tubos se incubaron a 37°C durante 30 min. La

reacción se paró por la adición de 2 ml de ácido sulfúrico 12N. Posteriormente se midió la absorbancia de cada tubo a 540 nm. Los cálculos fueron llevados a través de las siguientes expresiones:

$$\%dealmidón = \frac{(\Delta absmuestra)(F)(SF)(VGA)(MWF)(100)}{(factordeconversionde\mu g\text{ a }mg)(pesodelamuestraenmg)}$$

$$= \frac{(\Delta absmuestra)(50/\Delta abs\text{ estándar})(10)(2)(10)(0.9)(100)}{(1000)(pesodelamuestraenmg)}$$

$$= (\Delta absmuestra)(9000) / (\Delta abs\text{ estándar})(pesodelamuestraenmg)$$

Donde :

$\Delta abs\text{ estándar} = Abs\text{ del estándar} - Abs\text{ del blanco (st)}$

$\Delta abs\text{ muestra} = Abs\text{ muestra} - Abs\text{ del blanco reactivo}$

$F = \mu g\text{ glucosa en estándar} / \Delta abs\text{ de estándar en } 540\text{ nm} = 50/\Delta abs_{540}$

$V = \text{Volumen inicial de la muestra (de la preparación de la muestra)}$

$SF = \text{Volumen total para el ensayo de almidón} / \text{volumen del ensayo de la muestra}$

$VGA = \text{Volumen inicial de la muestra del ensayo de glucosa}$

$SDF = \text{Factor de dilución y del ensayo de almidón}$

$MWF = \text{Peso de la molécula de almidón} / \text{Peso de la molécula de glucosa}$

$MWF = 162/180=0.9$

### 5.3.8. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA $\alpha$ -AMILASA EN JICAMA

Para seguir los cambios en la actividad de  $\alpha$ -amilasa durante el almacenamiento refrigerado de la jicama se utilizó el método descrito por Mao y Kinsella (1981) el cual fue utilizado para determinar la actividad y propiedades de la  $\alpha$ -amilasa en plátano almacenado.

#### Preparación de reactivos.

- a) Solución de citrato de sodio 0.1M pH 6 con 2% de acetato de calcio y cloruro de cisteína (10mM). Se pesaron 13.6 g de citrato de sodio, 1 g de acetato de calcio y 0.878 g de cloruro de cisteína, se adicionaron uno por uno a un vaso de precipitados con agua destilada y se agitó hasta disolución de todos los componentes; con un potenciómetro previamente calibrado se midió el pH y se ajustó con solución de NaOH 0.1M posteriormente se aforó a 500 ml con agua destilada.
- b) Solución buffer de acetato de calcio 0.1 M pH 5.5 se pesaron  $8.8095\text{g} \pm 0.001$  de acetato de calcio y se disolvió en agua destilada, con un potenciómetro previamente calibrado se midió el pH y se ajustó a un valor de pH 5.5 con solución de NaOH 0.1M posteriormente se aforó a 500 ml con agua destilada.
- c) Solución de almidón al 0.5%. Se pesaron 0.5 g de almidón, los cuales se suspendieron en 10 ml de agua y se adicionó a un recipiente de agua en ebullición durante 2 minutos, la solución se enfrió y aforó a 100 ml con agua destilada.
- d) Solución Yodo-Yoduro. Se pesaron 0.254 g de yodo y 4 g de yoduro de potasio y estos fueron disueltos en agua destilada y llevados a un volumen de 1 litro guardándose la solución en frasco ámbar.

### **Preparación del extracto enzimático.**

Se pesaron en un tubo de centrifuga, 0.1 g de Polivinilpirrolidona (PVP), a estos se les adicionó 20 ml de citrato de sodio 0.1M pH 6 con 0.2% de acetato de calcio (previamente enfriado); posteriormente se agregó 5 g de jícama finamente picada, y el conjunto fue homogeneizado en un homogenizador de tejidos a 20 500 rpm durante 30 segundos a 4 °C; el homogeneizado se filtró en cuatro capas de manta de cielo y el filtrado se centrifugó a 10000 rpm durante 15 minutos a 4 °C. El sobrenadante fue el extracto enzimático crudo, con el cual se midió la actividad de la enzima. El extracto debió mantenerse en un baño de hielo para evitar la alteración de las proteínas.

### **Determinación de la actividad de $\alpha$ -amilasa.**

La actividad de  $\alpha$ -amilasa fue determinada por el método modificado de Berfield (1951), el cual esta basado en los cambios de color generado por la mezcla de almidón y yodo.

Un mililitro del extracto crudo de la enzima, fue adicionado a un tubo que contenía 2 ml de una solución de almidón (0.5%) y 2 ml de buffer de acetato de calcio (0.1M, pH 5.5) previamente preequilibrado a 30°C en un baño de agua con agitación.

El blanco de sustrato contenía 1 ml de extracto enzimático y 4 ml de buffer de acetato de calcio (0.1M, pH 5.5); el blanco de la enzima contenía 1 ml de buffer de citrato de sodio (0.1M, pH 6), 2 ml de solución de almidón (1%) y 2 ml de buffer de acetato de calcio (0.1M, pH 5.5). Los tubos se incubaron a 30°C y se adicionó a cada uno 0.5 ml de tolueno, el conjunto se agitó cuidadosamente.

Al tiempo cero y durante el periodo de incubación, se descargó sobre los tubos de reacción 7 ml de solución yodo-yoduro ( 0.254 g yodo y 4 g de yoduro de potasio en 1 L de agua), se agitaron y se leyó la absorbancia en forma inmediata a 565 nm.

La actividad de  $\alpha$ -amilasa se expreso en unidades de actividad, en donde una unidad fue definida como aquella en el cual el cambio de absorbancia fue de 0.01 Abs/ min\*g de tejido. Los cálculos para cada uno de los tubos son los siguientes:

$$UA = \frac{(A_0 - A_t)}{tg}$$

Donde:

UA = Unidades de actividad

Ao = es la absorbancia en el tiempo cero

At = es la absorbancia al tiempo t

t = es el tiempo en minutos

g = gramos de tejido

### 5.3.9. ACTIVIDAD DE PEROXIDASA

El método usado para la determinación de la actividad de la peroxidasa fue el propuesto por Shindler, y col. (1976).

#### Preparación de reactivos.

- a) Buffer de fosfatos (  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ) 50 mM pH 7. Se pesaron 6.845 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  los cuales se disolvieron en 990 ml agua destilada y el pH se ajustó a 7 con NaOH 0.1 M. El conjunto se aforó a 1000 ml con agua destilada.

- b) Buffer de fosfatos (  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ) 0.1M pH 6. Se pesaron 13.609 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  los cuales se disolvieron en 990 ml de agua destilada, ajustó el pH con NaOH 0.1 M y finalmente se aforó a 1000 ml con agua destilada.
- c) Solución de ABTS (  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4 \bullet (\text{NH}_3)_2$  ) 50 mM. Se pesaron 0.02743g de ABTS y se disolvieron en 1 ml de buffer de fosfatos 50 mM pH 7.
- d) Solución de peróxido ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) al 0.03%. 100 $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se aforó con agua destilada a 100 ml

### **Obtención del extracto enzimático.**

Se pesaron 0.6 g de Polivinilpolipirrolidona (PVPP) en un tubo de plástico de 50 ml, se adicionan 20 ml de buffer de fosfatos (  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ) 50 mM pH 7; los tubos se mantuvieron en una bañía de hielo. Se pesaron 5 gramos de tejido finamente picado en los tubos que contenían el buffer previamente enfriado; la mezcla se homogeneizó durante 1 minuto a 13500 rpm. El homogeneizado se filtró con 4 capas de manta de cielo. El filtrado se centrifugó a 10000 rpm durante 15 minutos a 4°C; los tubos se decantaron con cuidado y el sobrenadante se consideró el extracto enzimático crudo.

### **Determinación de la actividad de peroxidasa.**

En esta determinación se usó ácido 2,2'-azino-bis-3 etilbenzotiazol-6-sulfónico (ABTS) como sustrato, se colocaron en varios tubos de ensayo los siguientes reactivos:

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.1M pH 6	= 1340 $\mu\text{l}$
ABTS 50 mM	= 30 $\mu\text{l}$
Extracto enzimático	= 50 $\mu\text{l}$

Se inicio la reacción adicionando 80  $\mu\text{l}$  de peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) al 0.03 %, se agitó y rápidamente se transfirió la mezcla de reacción a una celda del espectrofotómetro para leer su absorbancia a una longitud de onda de 414 nm durante 3 minutos. Es necesario llevar acabo este paso rápidamente ya que la reacción al adicionar el peróxido ocurre aproximadamente en 20 segundos.

CALCULOS :

5 g de tejido fresco + 20 mL de buffer = 25 mL de volumen total.

$$\frac{5 \text{ g}}{25 \text{ mL}} = 0.01 \text{ g/mL}$$

$(0.2 \text{ g/mL}) (50 \mu\text{L}) (1 \text{ mL} / 1000 \mu\text{L}) = 0.01 \text{ g}$  de tejido fresco en el análisis

$$\text{Actividad de peroxidasa} = \frac{\text{(Absorbancia)}}{(\text{min} * 0.1 \text{ g de tejido fresco})}$$

## 6. RESULTADOS Y DISCUSION

### 6.1. PERDIDA FISIOLÓGICA DE PESO

En la Figura 8A y 8B se muestra el porcentaje de pérdida fisiológica de peso de las jícamas procedentes de Nayarit y del Bajío respectivamente. Las jícamas procedentes de la zona de Santiago Itzcuintla Nayarit presentaron la menor pérdida de peso (alrededor del 5% después de 20 días de almacenamiento) tanto en las raíces control como en aquellas almacenadas a 10°C y su respectiva transferencia, no presentándose diferencias estadísticas entre las tres condiciones de almacenamiento. Para el caso de la jícama procedente de Celaya Guanajuato (Bajío). Se mostraron importantes pérdidas de peso que alcanzaron valores del 10% para las raíces control y del 25% para aquellas almacenadas a 10°C y su transferencia a 20°C habiendo una tendencia de mayor pérdida de peso para las jícamas que fueron transferidas de 10 a 20°C.

Se aprecia claramente que la jícama de Nayarit es mucho más resistente al daño por frío que la jícama del Bajío. La pérdida de peso se puede explicar también de acuerdo a la Humedad Relativa, es decir, la velocidad de pérdida de agua de frutas y vegetales depende de la disminución de la presión de vapor entre el producto y el medio que lo rodea, que es influido por la temperatura y la humedad relativa. A una determinada temperatura y cierta circulación de aire, la velocidad de pérdida de agua de los productos depende de la humedad relativa, además a determinada humedad relativa, la pérdida de agua se incrementa con el aumento de temperatura (Kader, 1992).

La pérdida de peso en productos bajo estrés de frío ha sido señalada como un indicador del daño por frío. Cohen (1994) trabajando con frutos cítricos almacenados a 2°C y 13°C encontraron que la pérdida de agua fue mayor en los



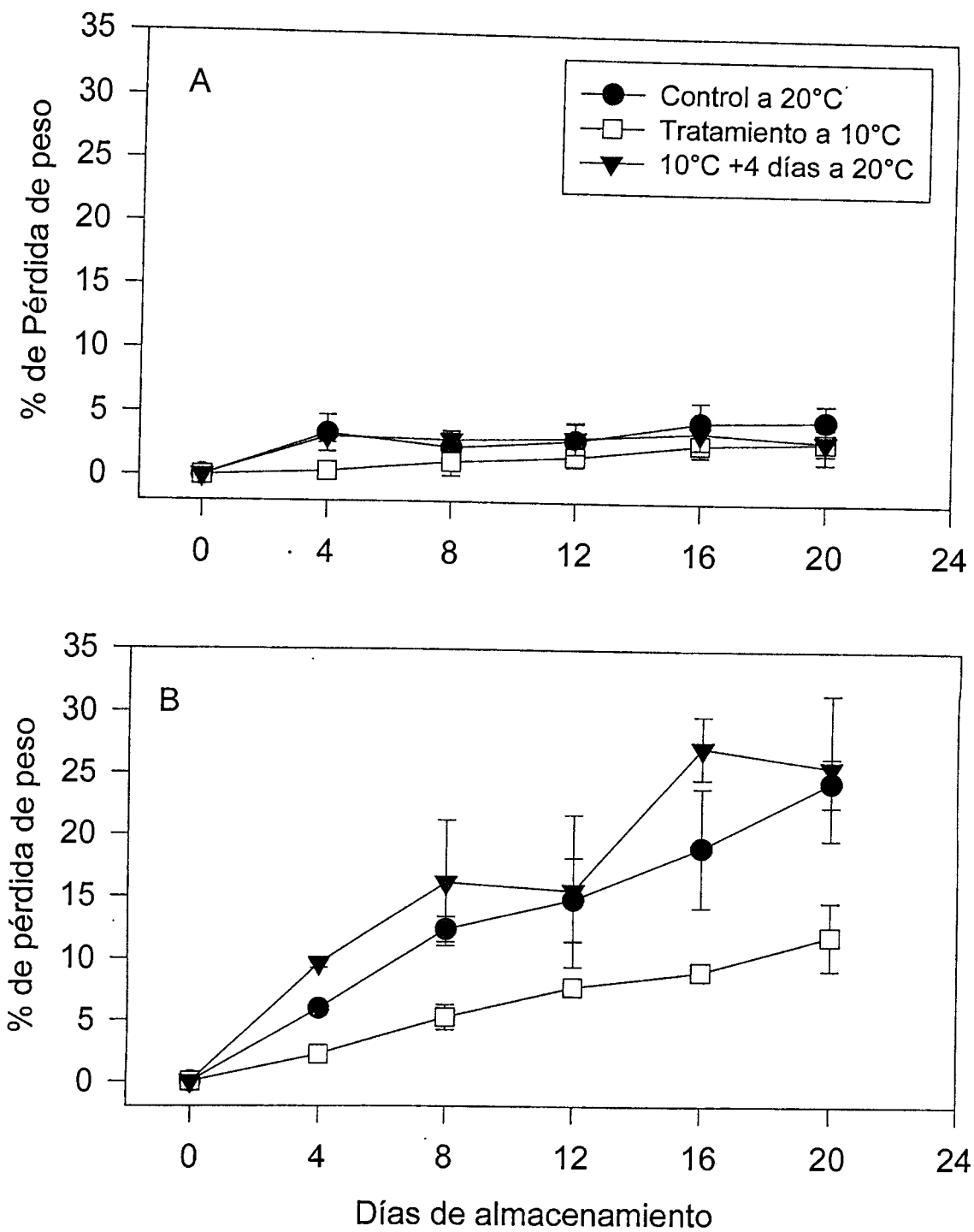


Figura 8. Perdida fisiológica de peso en jícama *P. erosus* almacenada a diferentes temperaturas (A) Nayarit, (B) Bajío.

frutos que fueron almacenados a 2°C y por tres semanas, los cuales mostraron una mayor pérdida de peso cuando se transfirieron a 20°C.

Las altas pérdidas de peso mostradas por las jícamas del Bajío coinciden con los datos reportados por Mercado-Silva y *col.* (1998b) y García (1998), así como por Ramírez-Moreno, (1999) quienes discuten la alta susceptibilidad al daño por frío de los materiales originarios de la zona del Bajío. En este mismo sentido, Mercado-Silva y *col.* (1997) al comparar jícamas de las mismas zonas referidas indicaron que aquellas procedentes del Estado de Nayarit son más tolerantes al almacenamiento a bajas temperaturas. No obstante, los datos de pérdida de peso en las raíces almacenadas a 10°C en forma continua fueron mucho mayores que los reportados por estos autores. Estas diferencias podrían estar explicadas en la variabilidad que los mismos materiales presentan ya que Ramírez-Moreno (1999) indicó diferencias cercanas al 10% en la pérdida de peso en jícamas de diferentes fechas de cosecha.

Por su parte Orozco y *col.* (1990) y Cantwell y *col.* (1992), indicaron que la pérdida de peso en raíces almacenadas a 5 y 10°C fue de 40 y 50% más altas que las almacenadas a 13 y 20°C.

Este comportamiento de pérdida de peso pudiera estar relacionado con la alta incidencia de microorganismos causantes de pudriciones en las raíces almacenadas a temperaturas de daño por frío y los cuales consumirían en forma importante materia seca de los productos. Sin embargo, también puede deberse a la pérdida de funcionalidad e integridad de las membranas celulares que incrementan su permeabilidad y por lo tanto permiten un mayor paso del agua a través de ellas y la cual posteriormente es pérdida hacia el medio ambiente por transpiración. Saltveit y Morris, (1990) sugirieron que el incremento de la pérdida de peso después de las transferencias de 10°C a 20°C se deba probablemente a la pérdida de la integridad celular.

Estos hechos están soportados por los hallazgos detectados por García (1998) quien indicó que durante el proceso de daño por frío el contenido de membrana plasmática disminuyó así como también disminuyó el contenido de fosfatidil colina y de fosfatidil etanol amina. Así mismo Ramírez-Martínez (1999) trabajando con jícamas del Bajío, indicó que estas al ser almacenadas a 10°C mostraron incrementos en el contenido de malonaldehído (producto de la degradación de los hidroperóxidos lipídicos) lo cual indica un proceso de degradación oxidativa de las membranas celulares.

Podría pensarse que el propio metabolismo respiratorio podría explicar la mayor pérdida de peso de los productos dañados por frío; no obstante, Mercado y col. (1998b), encontraron que la mayoría de la pérdida de peso en jícama es debido a la pérdida de agua cedida por evapotranspiración y que las pérdidas de peso debidas al consumo de materia seca por efecto del metabolismo son muy pequeñas indicando que las raíces almacenadas a 13°C solamente pierden cerca de 2 g por Kg por mes debido al metabolismo respiratorio.

La alta pérdida de peso de las raíces sometidas a estrés de frío señalan nuevamente que este parámetro puede ser un indicador del daño por frío de la jícama; esta pérdida de peso llevará a los hundimientos y un colapso general del tejido haciéndolo parecer como tejido deshidratado (Purvis, 1985).

## **6.2. CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE PESO SECO**

El contenido de materia seca de las raíces de jícama se muestra en la Figura 9 la variabilidad de los resultados es muy amplia y no permite una clara visualización de los cambios. No obstante, se puede decir que en las raíces almacenadas a 10°C en forma continua presentaron una tendencia a disminuir su contenido de materia seca durante los primeros doce días de almacenamiento (valores entre 9 y 10%) y en forma no explicable volvieron a alcanzar los valores parecidos a los iniciales al final

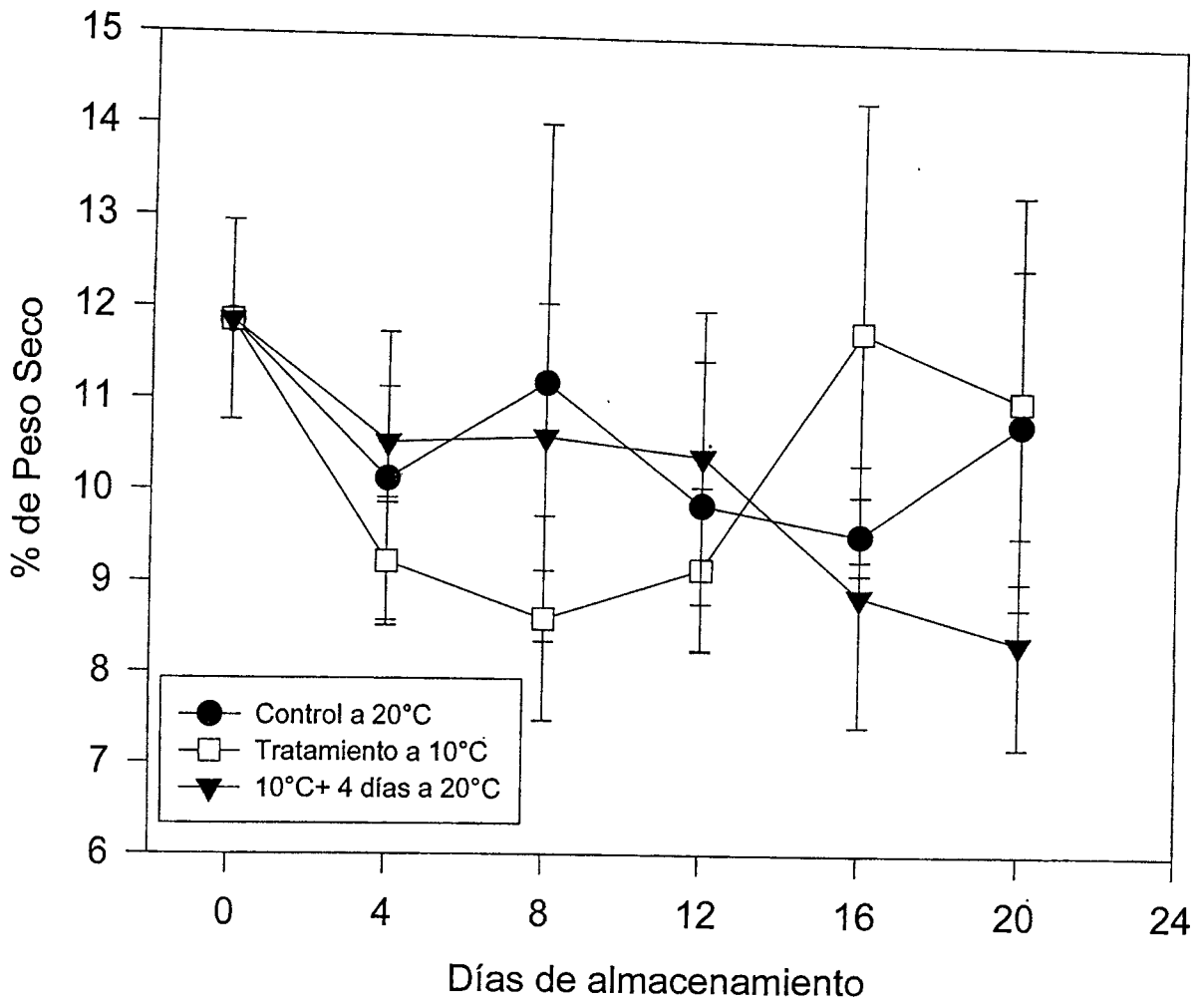


Figura 9. Cambios de peso seco en jícama *P.erosus* almacenada a diferentes temperaturas.

del experimento; las muestras control no mostraron diferencias significativas respecto del día inicial con valores entre 11 y 13%. Las muestras que fueron transferidas de 10 a 20°C, casi no mostraron cambios en su contenido de materia seca los primeros 12 días de almacenamiento; sin embargo, después de esta fecha se presentó una marcada disminución de la materia seca que alcanzó valores de 8 a 10% después del almacenamiento durante 20 días a 10°C y transferidas cuatro días adicionales a 20°C.

Son pocos los datos en la literatura que permitan hacer comparaciones con los datos aquí reportados. Ramírez-Moreno (1999), hizo un estudio comparativo de la composición de diferentes materiales genéticos de jícama almacenados a 10°C y no realizó transferencias a 20°C; los datos de materia seca para los materiales de *P. erosus*, después de dos semanas de almacenamiento fueron ligeramente mayores que el contenido inicial de las raíces lo cual parece coincidir con lo aquí reportado. Esta autora atribuye este incremento a la pérdida de agua durante el almacenamiento; no obstante, si esta fuera la explicación los materiales con mayor pérdida de agua deberían de haber presentado un mayor contenido de materia seca y esto hecho no ocurrió en las muestras transferidas a 20°C, lo cual indica que durante las transferencias hay un mayor consumo fisiológico de la materia seca.

Bergsma y Brecht (1992) indicaron, en su estudio de cambios composicionales de la jícama durante 19 días de almacenamiento a diferentes temperaturas, que el contenido de materia seca de estas raíces varió desde 9.5 hasta 12.5%. Sin embargo, de la observación de los gráficos de este trabajo se puede decir que el almacenamiento a 10°C lleva a una mayor pérdida de materia seca, tal como se obtuvo en el presente trabajo.

Considerando que dentro de la composición de la materia seca de la jícama se encuentran componentes mayoritarios como los azúcares simples y el almidón, así como los componentes de la pared celular (celulosa, pectinas, ligninas) y en menor proporción las proteínas, lípidos y sales minerales; esto nos llevaría a pensar que si encontramos, por efecto de algún tratamiento, diferencias en el contenido de la materia seca del orden del 2 al 3% debemos pensar que deben ser los constituyentes principales de esta materia seca los que deben de presentar los cambios importantes. Esto indicaría que los carbohidratos deben de ser los componentes que más se alteran durante el proceso de almacenamiento refrigerado. Orozco y *col.* (1990) así como Cantwell y *col.* (1992) indicaron que las tasas de respiración de jícamas almacenadas a 5 y 10°C y posteriormente transferidas a 20°C se incrementaron 2 a 3 veces; esto indicaría un mayor uso de los carbohidratos durante la función respiratoria y por lo tanto una disminución en el contenido de la materia seca. Pauli y Chen (1988) observaron un aspecto similar en jícamas almacenadas a 12.5°C durante 2 meses y de igual forma Bergsma y Brecht (1992), también indicaron una mayor tasa de respiración en las raíces almacenadas a 10°C. No obstante, también es posible que el propio desarrollo de microorganismos influya para disminuir este contenido.

### **6.3. CAMBIOS EN EL COLOR**

Las Figuras 10 y 11 muestran los cambios de los distintos parámetros de color en las jícamas procedentes de Nayarit y Bajío respectivamente. En la jícama de Nayarit no se logró apreciar un cambio importante en los parámetros color de  $a^*$ ,  $b^*$  y la cromaticidad de la pulpa entre las muestras control y almacenadas a 10°C con sus respectivas transferencias a 20°C. No obstante, en los valores de  $L^*$  y ángulo de matiz se observó un decremento y un incremento en los respectivos valores para las muestras almacenadas durante 20 días a 10° y transferidas a 20°C indicando un incremento en el oscurecimiento del tejido. Para el caso de las jícamas de la zona del Bajío los valores de  $L^*$  disminuyeron notablemente en las muestras almacenadas a 10°C y transferidas a 20°C en tanto que los valores de  $a^*$ ,

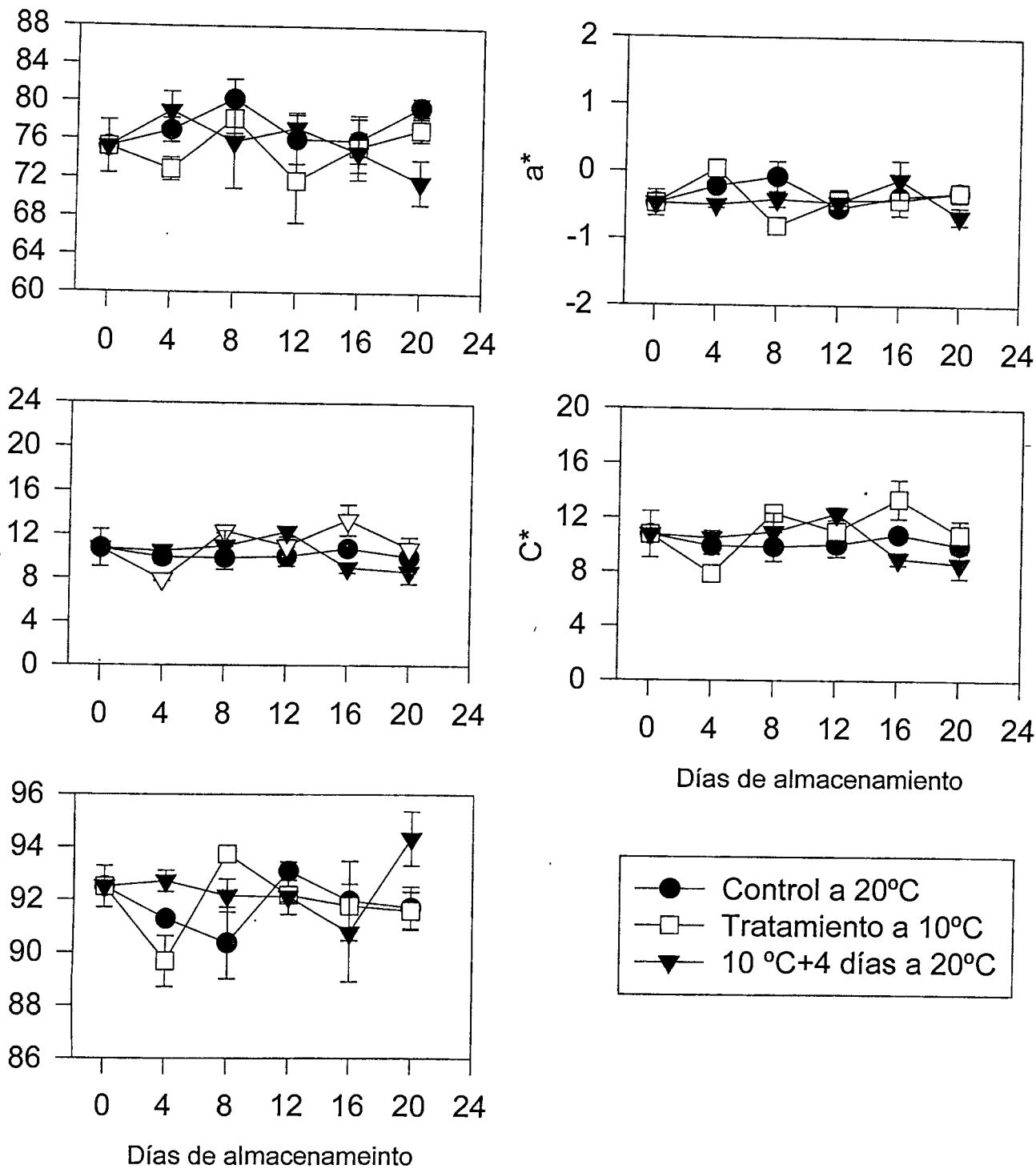
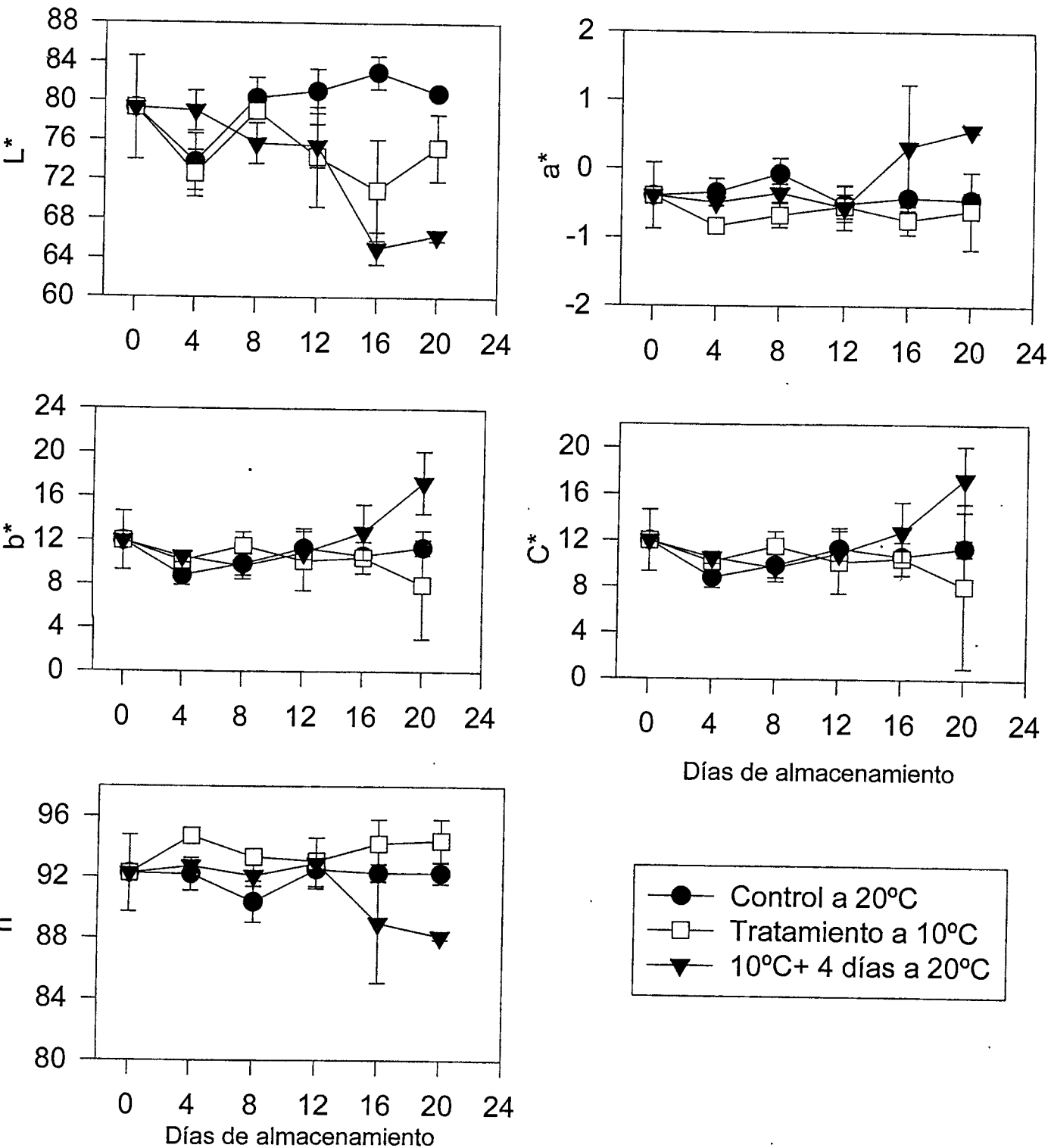


Figura 10. Cambios en los parámetros de color en jícama *P. erosus* (Nayarit) almacenada a diferentes temperaturas.



**Figura 11. Cambios en los parámetros de color en jícama *P. erosus* (Bajío) almacenada a diferentes temperaturas.**



b\* y cromaticidad se incrementaron después del mismo periodo de almacenamiento. Estos datos indicaron que las muestras bajo las condiciones descritas desarrollaron un color oscuro representado por menores valores de luminosidad con mayores tonalidades rojas y amarillas. La comparación entre las jícamas de ambas regiones permite confirmar que la jícama del Bajío fue más susceptible al cambio de color y al daño por frío respecto de las jícamas procedentes de Nayarit como lo indicaron Mercado-Silva y *col.* (1997).

Mercado-Silva y *col.* (1998b) también indicaron un decremento de los valores de luminosidad en cinco variedades de jícamas cultivadas en la zona del Bajío y almacenadas a 10°C; lo cual coincide con lo aquí reportado. Un comportamiento similar también fue descrito por Ramírez-Martínez (1999) en jícamas cosechadas en el mes de Noviembre; no obstante, este comportamiento cambio en las muestras cosechadas un mes después.

El cambio de color en la pulpa es un síntoma común del daño por frío en jícama almacenada a 10°C (Cantwell, 1992; Mercado-Silva y Cantwell, 1996). Este cambio de color generalmente se desarrolla de la parte exterior hacia la parte interior, y es probablemente debido a la polimerización de fenoles. Dentro de la misma jícama puede haber áreas muy oscuras y tejido que no presente cambios de color. La ausencia de oscurecimiento en el interior de la jícama puede ser debido a la menor pérdida de integridad de la membrana (Murata, 1990). Otra posible explicación es que los compuestos fenólicos y las enzimas involucradas en la polimerización de fenoles pueden ser más abundantes en los tejidos externos que en los internos.

#### **6.4. CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE ALMIDON**

Aplicando el procedimiento de extracción de almidón descrito en la sección de metodología, permitió evaluar si por efecto del almacenamiento a diferentes temperaturas habría un cambio en el contenido de almidón extraído de las distintas

muestras analizadas. La cantidad de almidón extraído fue evaluado tanto al inicio como después de 20 días de almacenamiento a 10°C. El Cuadro 7 muestra el contenido de almidón respecto del peso original de las raíces de jícama.

**Cuadro 7.** Cambios en el contenido de almidón de jícamas almacenadas durante 20 días a 10 y 20°C.

Tratamiento	Contenido de almidón(%)	Desv. estándar
Inicial (día 0)	3.03	0.37
Control (20 días a 20°C)	2.63	0.08
20 días a 10°C	1.58	0.23
20 días a 10°C+4 días a 20°C	1.26	0.1345

Se observa que el contenido de almidón se ve disminuido con el almacenamiento a 10°C y esta disminución es mucho mayor cuando las muestras son transferidas a 20°C.

Bergsma y Brecht (1992) también encontraron una disminución del 22 al 8% en base seca en el contenido de almidón para jícamas almacenadas durante 19 días a 10 y 15°C; este comportamiento coincide con el aquí reportado. Por su parte también Paull y Chen, (1988) describen una disminución constante del almidón en jícamas almacenadas a 12.5°C durante cinco meses.

En la Figura 12 se muestra el contenido de almidón que tuvieron los gránulos de almidón separado a través del proceso de sedimentación; se observa que después de 20 días de almacenamiento a 10°C el contenido de almidón en los gránulos fue menor pasando de un 97% inicial a 77% durante el almacenamiento continuo a 10°C y bajando hasta el 65% en las muestras transferidas a 20°C. No obstante, también las muestras control mantenidas a 20°C disminuyeron su contenido a 90%.

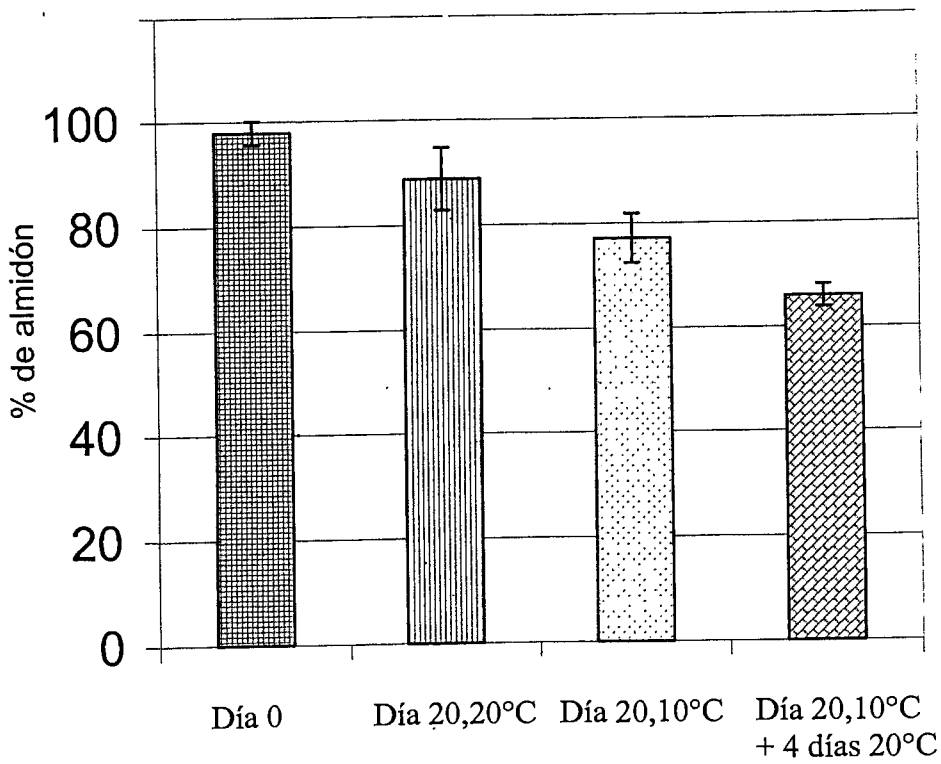


Figura 12. Cambios en el contenido del % de almidón en jícama *P.erosus* almacenada a diferentes temperaturas.

Estos resultados muestran que existe una degradación de las moléculas de almidón dentro de los gránulos que hace que la proporción de almidón dentro de los mismos se vea disminuida. Desafortunadamente en este trabajo no se realizó un análisis composicional del almidón que nos pudiera indicar estos cambios.

## **6.5. CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES**

Los cambios en el contenido de sólidos solubles de las jícamas almacenadas a 10 y 20°C se muestran en la Figura 13. Las jícamas control no mostraron cambios importantes durante el tiempo de almacenamiento manteniéndose entre valores de 5.6 °Bx; mientras que aquellas almacenadas a 10°C en forma continua así como sus transferencias a 20°C mostraron un pequeño incremento especialmente después de doce días de almacenamiento a 10°C pasando a valores de 6.5°Bx.

Bergsma y Brecht (1992) solo reportaron ligeros incrementos de los sólidos solubles en jícamas almacenadas durante 19 días a diferentes temperaturas pero no indicaron cambios para las muestras almacenadas a 10°C. Sin embargo, Ramírez-Moreno (1999) trabajando con jícamas del Bajío, encontró aumentos significativos en dos materiales después de haber sido almacenados durante 3 semanas a 10°C. De igual forma Paull y Chen, (1988) también reportaron un incremento en estos componentes después de un mes de almacenamiento a 12.5°C, aunque después de esta periodo indicaron una disminución de estos sólidos solubles.

El incremento en el contenido de sólidos solubles podría estar ligado al proceso de degradación de almidón descrito anteriormente.

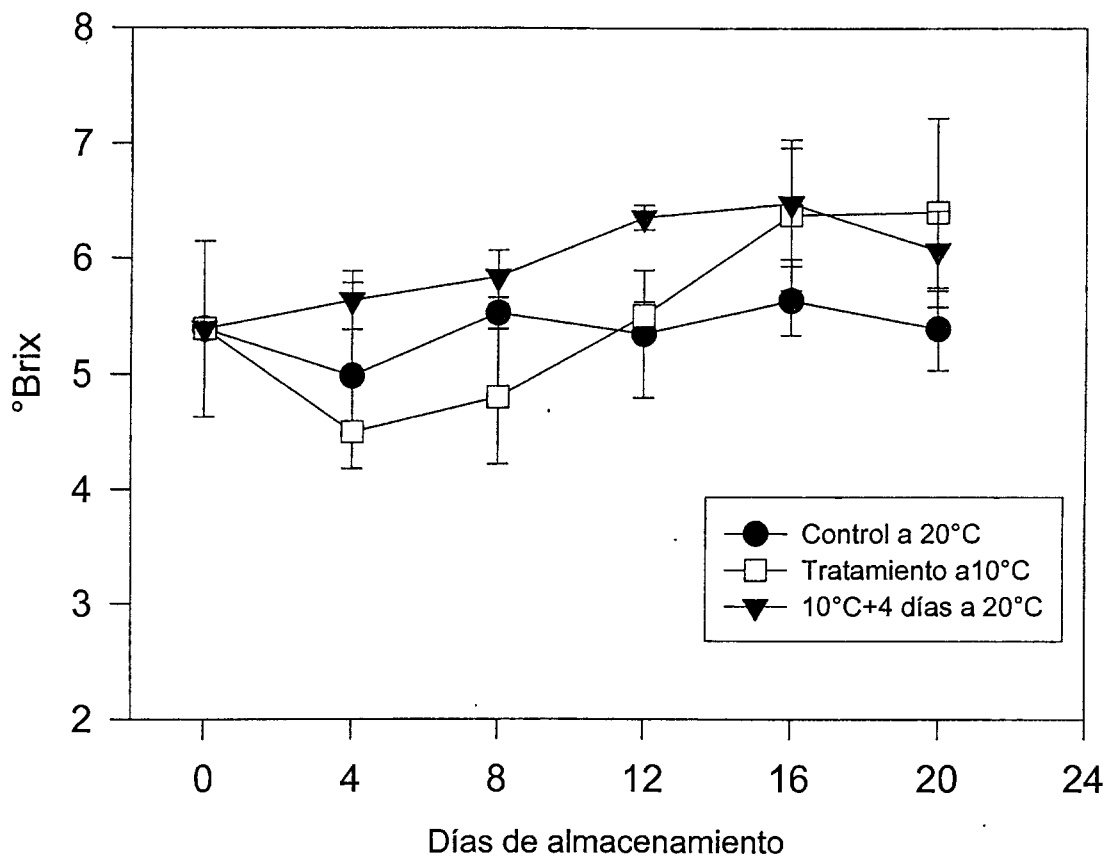


Figura 13. Cambio en el % de Sólidos Solubles en jícama *P. erosus* almacenada a diferentes temperaturas

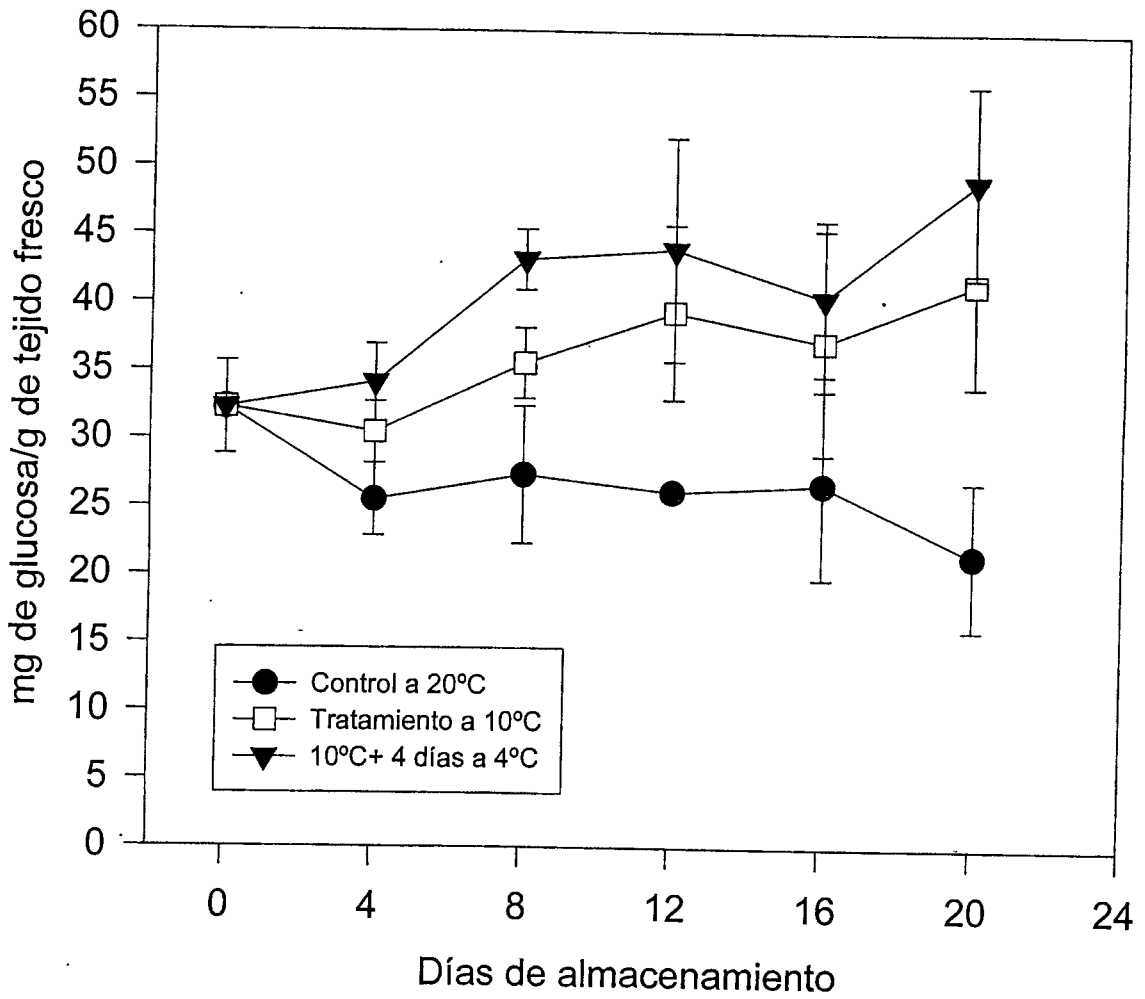


Figura 14. Azúcares totales en jícama *P. erosus* almacenada a diferentes temperaturas

De igual forma Marangoni y *col.* (1996), trabajando con papas almacenadas a 2°C encontraron una degradación de almidón y acumulación de sacarosa el cual atribuyeron a un proceso de endulzamiento.

Si se asocia los decrementos en el contenido total de almidón así como la disminución del contenido de almidón en los gránulos y los consecuentes incrementos registrados en el contenido de sólidos solubles y en el contenido de azúcares totales parece evidente que se está presentando un fenómeno de endulzamiento de la jícama cuando es almacenada a 10°C y esto se presenta como un fenómeno colateral al daño por frío.

Dado que no se han realizado mediciones y experimentos para investigar si este fenómeno de endulzamiento es reversible en este tipo de material, no podemos asegurar si este endulzamiento es parte de la sintomatología del daño por frío en esta raíz. No obstante, debido al hecho que durante las transferencias a 20°C, el proceso se acelerara en lugar de que disminuyera esto podría indicar una sintomatología adicional al daño por frío descrita.

Ohad y *col.* (1971), sugieren que el frío induce cambios en el contenido de almidón y azúcares durante el almacenamiento de papas y que estos se correlacionan con el daño en las membranas que rodean los gránulos de almidón y sus cambios en la permeabilidad. De igual forma O'Donoghue (1995) aporta datos en el sentido de alteración de las membranas de los amiloplastos lo cual hace pensar que el fenómeno de endulzamiento es efectivamente una sintomatología de daño por frío cuando estos cambios se hacen irreversibles.

## 6.7. CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE LA $\alpha$ -AMILASA

La Figura 15 muestra los cambios de la actividad de la enzima  $\alpha$ -amilasa en las muestras de jícama almacenada a 20 y 10°C con su respectiva transferencia a 20°C. Durante los primeros 8 días de almacenamiento a 10°C y sus transferencias a 20°C la actividad de la enzima se incrementó y se mantuvo casi constante hasta el día 16 para finalmente disminuir hasta valores iniciales en el día 20. Por su parte, las muestras almacenadas en forma continua a 10°C mostraron un incremento a partir del día 8 hasta los días 16 y 20 alcanzando sus valores máximos. Las muestras almacenadas a 20°C incrementaron su actividad después del día 4 hasta el día 12, posteriormente se mantuvieron constantes en este valor hasta final del almacenamiento.

Si se correlaciona la actividad de esta enzima con la degradación del almidón y el consecuente endulzamiento descrito en las secciones precedentes, podemos observar que para el caso de las muestras control (20°C) no existió una correlación directa de la actividad de la enzima con la degradación del almidón puesto que en estas muestras no se presenta fuertemente una degradación y pérdida de almidón. Para el caso de las muestras refrigeradas se podría decir que si existió cierta correlación entre ambos factores. Estos aspectos parecen mostrar, que aunque durante el almacenamiento a 20°C se genera una mayor actividad de  $\alpha$ -amilasa; esta parece no actuar sobre la molécula de almidón probablemente debido a que las membranas que cubren el amiloplasto están integras y no hay acceso libre para que actúen sobre la molécula del almidón. Por otro lado a bajas temperaturas hay una mayor degradación del almidón debido probablemente a que las membranas del amiloplasto se encuentran dañadas y hacen posible la acción de las enzimas hidrolíticas de acuerdo con lo establecido por O'Donoghue y *col.* (1995) quien indicó que el almacenamiento a bajas temperaturas de los tubérculos de papa las membranas de los amiloplastos presentaban alteraciones que probablemente podrían llevar a la degradación del gránulo del almidón.



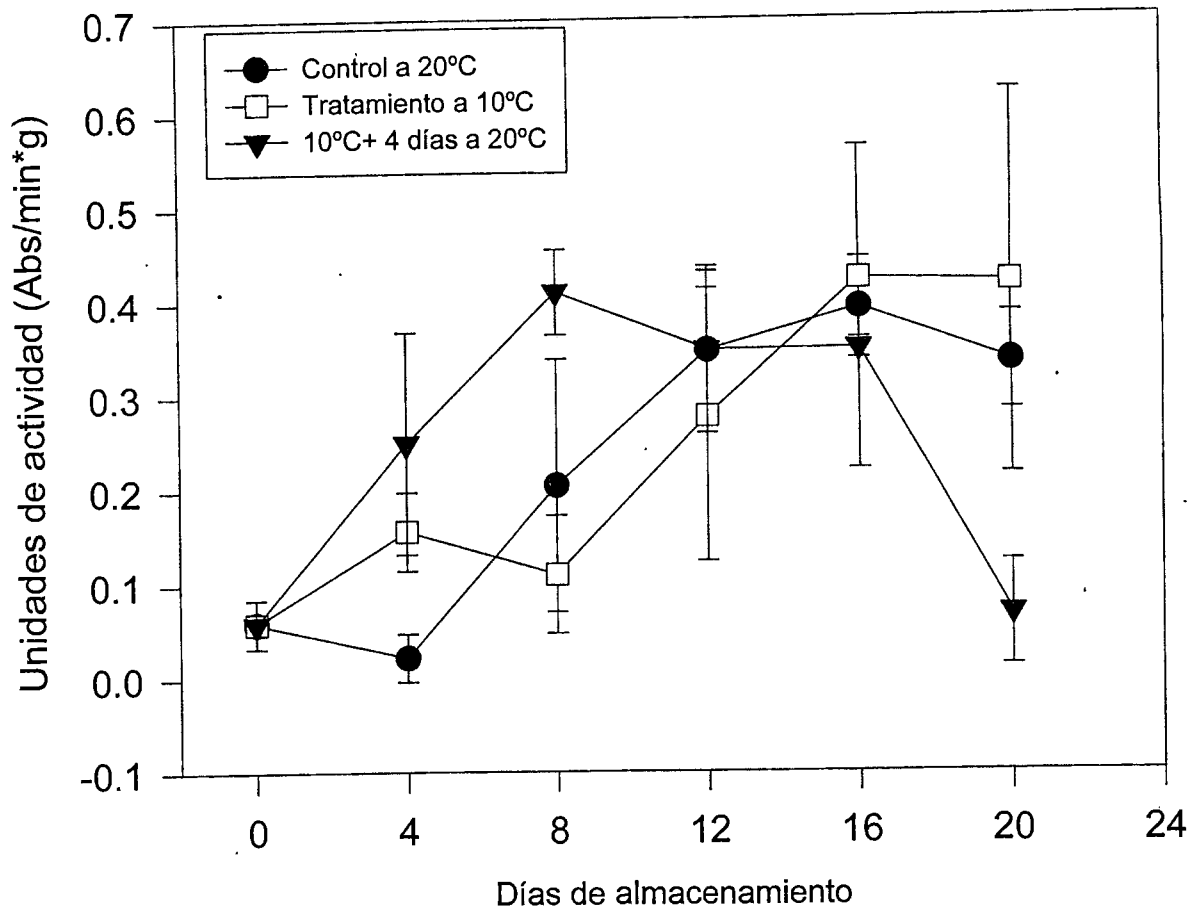


Figura 15. Cambios en la actividad de  $\alpha$ -amilasa en jícama *P. erosus* almacenada a diferentes temperaturas.

Otros aspectos que también podrían contribuir a la anterior explicación son los aportados por Mao y Kinsella, (1981) quienes indicaron que la actividad de  $\alpha$ -amilasa se encuentra principalmente localizada en el citosol de las células y que para que esta despliegue una actividad máxima requiere de iones  $\text{Ca}^{+2}$ . Si consideramos que este ión se encuentra compartimentalizado bajo un control de membranas; podríamos pensar que si esas membranas son alteradas por las bajas temperaturas, el calcio podría ser descompartimentalizado y contribuir a que la actividad de la enzima se maximizara y se facilitara su acción sobre los gránulos de almidón.

García y Lajolo, (1988), quienes han estudiado los cambios en la maduración de plátano almacenado a 20°C por 24 días, indicaron una alta actividad hidrolítica del almidón que llevó a su degradación; No obstante, la actividad de la  $\alpha$ -amilasa fue menor que la actividad de la  $\beta$ -amilasa y que la actividad de esta última enzima precedió el incremento de las actividades de otras enzimas hidrolíticas como la glucosidasa; desafortunadamente en este trabajo no se midió la actividad ninguna otra enzima degradante del almidón que podrían ser más importantes que la  $\alpha$ -amilasa. No obstante, para el caso de frutos de kiwii, la degradación del almidón coincidió con una mayor actividad de la  $\alpha$ -amilasa (Wegrzyn y MacRae, 1995).

## **6.8. CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE PEROXIDASA**

La determinación de la actividad de esta enzima se llevó a cabo con jícamas procedentes del Estado de Nayarit. La Figura 16 muestra los cambios registrados en la actividad de peroxidasa en las raíces de jícamas almacenadas a las condiciones ya descritas. Tanto las jícamas control como aquellas almacenadas a 10°C en forma continua mostraron un comportamiento muy parecido durante todo el periodo de almacenamiento localizándose un máximo la día ocho (8.8 Abs/ min\* g de tejido fresco) y posteriormente regresando a sus valores iniciales. Para las

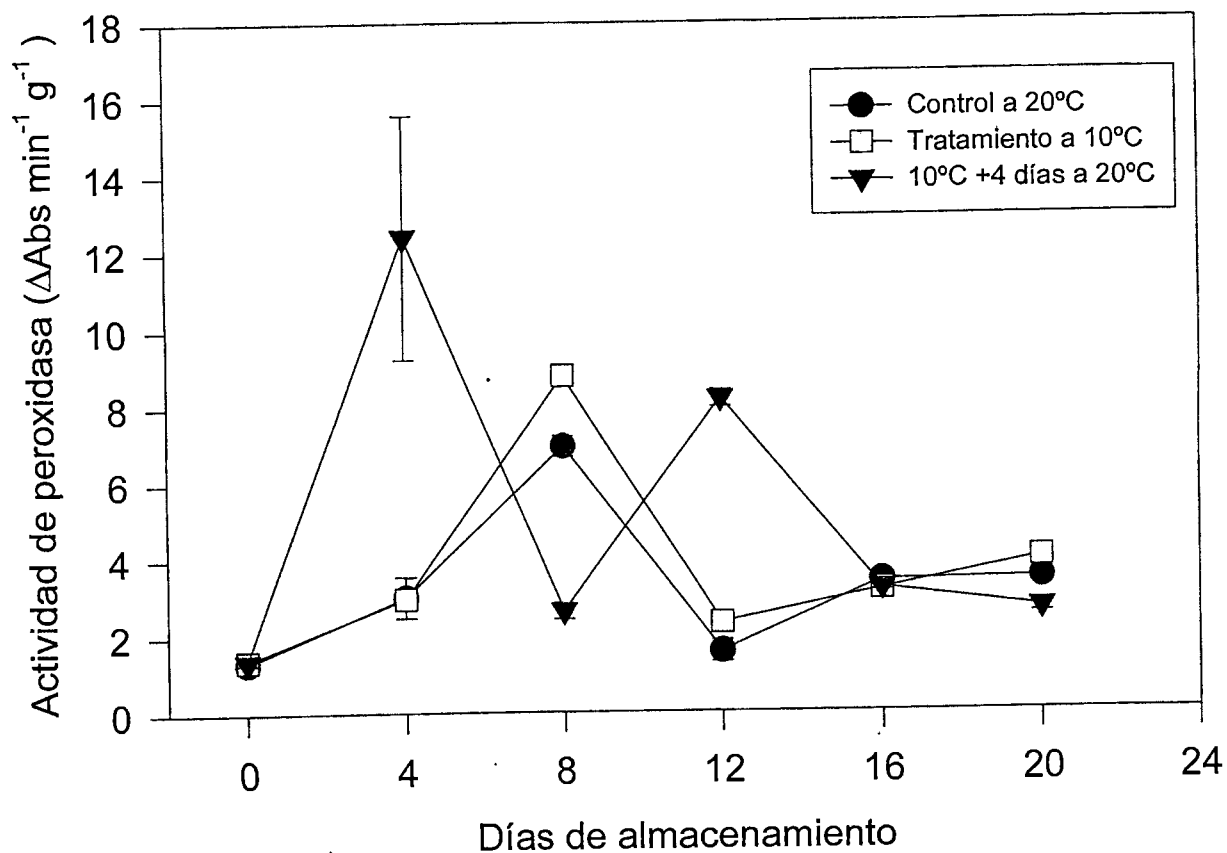


Figura 16. Cambio de la actividad de peroxidasa durante el almacenamiento a diferentes temperaturas en jícama *P. erosus*.

jícamas almacenadas a 10° y transferidas a 20°C, se encontró una mayor actividad los días cuatro (12.4 Abs/ min g de tejido fresco) y doce de almacenamiento a 10°C más sus correspondientes cuatro días de transferencia a 20°C. En forma inexplicable el día ocho se mostró una baja en la actividad. Después del día 16 los valores de actividad fueron similares en todos los casos.

La correspondencia con los valores de color, en este tipo de jícama, no se correlacionó adecuadamente ya que cuando se tenían valores altos de L\* los valores de actividad de la enzima fueron también altos por lo que el proceso de oscurecimiento parece no estar explicado a través de la acción de esta enzima. No obstante, es importante indicar que la jícama de Nayarit tiene una mayor tolerancia al frío (Mercado y col., 1997) lo que hace más difícil establecer correlaciones directas. También es importante indicar que en este tipo de jícama los cambios de color fueron menos evidentes aún después de los 20 días de almacenamiento; por esta razón los cambios en la actividad de peroxidasa parecen no mostrar correlación con el fenómeno de oscurecimiento.

No obstante lo anotado anteriormente; es evidente que el estrés de frío sobre las raíces de jícama, también trae como respuesta una mayor actividad de esta enzima. Este comportamiento también se ha mostrado en diferentes materiales. Así por ejemplo, Pontes-Thé y col. (2001) describen un incremento en la actividad de esta enzima en piña almacenada durante 20 días a 7 y 10°C.

También Kawakami y col. (1999) al estudiar el comportamiento de dos enzimas antioxidantes, como la ascorbato peroxidasa y catalasa, en papa almacenada a 1 y 20°C encuentran que la ascorbato peroxidasa fue inducida por efecto del almacenamiento a baja temperatura en tanto que la actividad de catalasa no mostró grandes cambios en ambas temperaturas.

La razón por la cual se atribuyen estos cambios se describen en función de que el estrés oxidativo genera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que es altamente tóxico y está involucrado en la generación de potentes radicales hidroxilo (OH\*).

La destoxificación del peróxido de hidrógeno es mediada por la catalasa que está localizada en los peroxisomas. No obstante, esta enzima posee muy baja afinidad por el  $H_2O_2$  y su actividad es extremadamente baja o no detectable en el citosol, o mitocondria por lo que una alternativa de destoxificación es reducir este peróxido a través de la ascorbato peroxidasa. Se ha detectado que el nivel de ácido ascórbico disminuyó tanto en papas (Kawakami y *col.*, 1999) como en jícama (García, 1998) cuando estas son almacenadas a bajas temperaturas lo cual indica un estrés oxidativo en estos materiales bajo esas condiciones de almacenamiento. Por lo tanto se considera que estas condiciones inducen la activación de las enzimas antioxidantes. Se considera que la disminución del ácido ascórbico a bajas temperaturas se debe al uso que hace de éste la enzima ascorbato peroxidasa para destoxificar el peróxido del tejido el cual a su vez es generado por el estrés oxidativo.

Ramírez-Martínez (1999) también anotó que las jícamas se encuentran bajo el influjo de un estrés oxidativo cuando estas son almacenadas a bajas temperaturas ya que esta autora encontró un incremento en el contenido de malonaldehído (producto de la oxidación de los ácidos grasos) en las muestras almacenadas a  $10^{\circ}C$ .

De acuerdo con lo anterior, parece notorio que los incrementos de la actividad de peroxidasa se debe a una respuesta de la jícama hacia el estrés oxidativo que se presenta por la exposición a las bajas temperaturas. Desafortunadamente, en el presente estudio no fue posible comparar las actividades de las jícamas de ambas regiones productoras; no obstante, si se puede anotar que el incremento en la actividad de esta enzima fue una respuesta suficiente para no mostrar grandes síntomas de daño por frío en las jícamas de Nayarit.

## 7. CONCLUSIONES

Los resultados encontrados en el presente trabajo permitieron establecer las siguientes conclusiones y observaciones:

Las jícamas procedentes de la zona del Bajío presentaron una mayor susceptibilidad al daño por frío en comparación a las jícamas procedentes del Estado de Nayarit.

El alto porcentaje de pérdida de peso en las jícamas dañadas por el frío, nuevamente indicaron que este puede ser un parámetro indicador de daño por frío en este producto.

La pérdida de peso parece estar directamente relacionada a alteraciones estructurales de las membranas que componen el producto.

El contenido de materia seca disminuyó en forma significativa en las muestras que fueron almacenadas a 10°C y posteriormente transferidas a 20°C especialmente después de doce días de almacenamiento.

Los cambios de color permitieron confirmar que las jícamas procedentes de la zona del Bajío presentaron una mayor susceptibilidad al daño por frío.

Los decrementos en el contenido de almidón de la jícama, la disminución de este mismo componente en los gránulos de almidón; así como los correspondientes incrementos de sólidos solubles y azúcares totales permiten asegurar que durante su almacenamiento a 10°C se presenta un fenómeno de endulzamiento.

La actividad de  $\alpha$ -amilasa explica parcialmente el proceso de degradación de almidón durante el almacenamiento refrigerado. No obstante, para que esta

actividad se despliegue sobre los gránulos de almidón parece ser necesario que exista una alteración de las membranas que contienen al almidón dentro de la célula.

Los resultados de la actividad de peroxidasa permiten inferir que esta respuesta esta motivada como un sistema de respuesta al estrés oxidativo que el tejido tiene a las bajas temperaturas y que esta actividad no estuvo directamente relacionada con el desarrollo del color.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- ap Rees; Dixon, L.W; Pollock J.C. y Franks,F.1981.Low temperature sweetening of higher plants. En: Friends, J. y Rhodes M.S.C. Eds. Recents advances the biochemistry of fruit and vegetables. Academic Press. New York:41-61.
- Badui, D. 1981. Carbohidratos. En: Química de los alimentos. Ed. Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. México: 54,80-82.
- Bailey, J.A. y Mansfield, J.W. 1982. Phytoalexins. John Wiley and sons: New York. USA.
- Barile, T.V. y Esguerra, E. B. 1984. Low temperature storage of Yam Beans. Posharvest Research Notes. Dept. of Horticulture. University of Philippines. 1(2):23-25.
- Bergsma K.A. y Brench J.K. 1992. Postharvest respiration, moisture loss, sensory analysis and compositional changes in Jicama ( *Pachyrizus erosus* ) roots. *Acta Horticulturae* 318:325-332.
- Berfield, P.1951. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Adv. in Enzymol.*12:379.
- Brandani, V; Di Giacomo, G. y Spera, L.1996. Recovery of  $\alpha$ -amylase Extracted by Reverse Micelles. *Process Biochemistry.* 31(2):125-128.
- Braverman-Berk. 1980. Carbohidratos. En: Bioquímica de los alimentos. Ed. El manual Moderno. México : 129-40.



- Bruton B. D. 1983. Market and storage diseases of Jicama. *J. Rio Grande Valley Horticultural Society*. 36:29-34.
- Burnette, F. S. 1977. Peroxidase and its relationship to food flavor and quality: A review. *J. Food Sci.* 42:1-6.
- Buysse J. y Mercky R. 1993. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue. *J. of Experimental Botany*. 44 (2679): 1627-1629).
- Campa, A. 1991. Biological roles of plant peroxidase: Known and potencial function. En : Peroxidases in Chemistry and Biology. L.Everse y M.B. Grisham.Eds.CRC.Press.Boca Raton:26-43.
- Cantwell, M; Orozco, W. y Rubatzky, V. 1992. Postharvest handling and storage of jicama roots. *Acta Horticulturae*. 318: 333-343.
- Cohen, E; Shapiro, B; Shalom, Y. y Klein, D.J. 1994. Water loss: A nondestructive indicator of enhanced cell membrane permeability of chilling injured citrus fruit. *J.Amer.Soc.Hort.Sci.*119(5):983-986.
- Dixon, R. y Paiva, N.1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*.7:1085-1097.
- Dixon, W.L. y T. ap Ress. 1980. Identification of the regulatory steps in glycolysis in potato tubers. *Phytochemistry* :20:1297-1303.
- Dixon, W.L., F. Franks y T. ap Ress. 1981. Cold-lability of phosphofructokinase from potato tubers. *Phytochemistry*: 20: 969-972.

- Doucette, M.S. y Pritchard M.K. 1993. ABA Involvement in low temperature sweetening of potatoes. *Acta Horticulturae* 343: 293-294
- Evans M.I. Boulter D. Eaglesham A.R.J. y Dart P.J. 1977. Protein content and protein quality of tuberous root of some legumes determined by chemical methods. *Qual.Plant.Foods Hum.Nutr.XVII*,:3-4:275-285.
- Fennema, O. R. 1993. Carbohidratos. En :Química de los alimentos. Ed. Acribia S. A. México:121-122,792.
- Fisher, E. H. and Stein,E.A.1960.  $\alpha$ -amylase. En: The enzymes. Ed. Academic Press. N.Y.4:313.
- Friendman, M. 1997. Chemistry, Biochemistry, and Dietary Role of Potato Polyphenols. *A Review. J. Agric. Food Chem.* 45: 1523-1540.
- García, R. 1998. Cambios relacionados con el daño por frío en los ácidos grasos del fosfatidiglicerol y fosfatidilcolina de la membrana plasmática y en los niveles de antioxidantes naturales de jícama (*Pachyrhizus erosus*). Querétaro.Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el grado de doctor en alimentos:15-50.
- García, E. y F.M. Lajolo.1988. Starch transformation during banana ripening: the amylase and glucosidase behaviour. *J.Food Sci.*53,1181-1186.
- Greiner. S. 1999. Ectopic expression of a tobacco invertase inhibitor homolog prevents cold induced sweetening of potato tubers. *Nat. Biotechnol.* 17: 708-711.
- INEGI, 1997. VII Censo Agrícola Ganadero.

- Instituto Nacional de la Nutrición 1997. Valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. México D.F.11.
- Isherwood, A.I.1973. Starch-sugar interconversion in *Solanum tuberosum*. *Phytochem.* 12:2579-2591.
- Kader, A. A. 1992. En. Postharvest Biology and Tecnology: An Overview. Postharvest technology of horticultural crops.Eds. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources,Oakland,California:15-20.
- Kawakami S., M. Mizuno y H. Tsuchida 1999. The defense mechanism against oxidative stress generated in potato tubers during low temperature storage. Proceedings of International Symposium for Plant Peroxidases – Peroxidase'99. Columbus, Ohio, USA. 125-132.
- Kays,S.J.1991. Stress in harvested products. En: Postharvest Physiology of Perishable Plant Products.Ed.Van Nostrand Reinhold.New York:340-345.
- Ke, D. y Saltveit, M. E. 1986. Effects of calcium and auxin on russet spotting an ammonia-lyase activity in Icebeg letucce. *HortScience* 21:1169-1171
- Kleihenz ,V., D. Midmore, G. Lodge y B. Tomkins. 2001. Cold Storage to Extend Shelf-Life and Improve Quality of Chinese Waterchestnut (Project UCQ-8A). <http://www.nre.vic.gov.au/trade/asiaveq/nlaf-07b.htm>.
- Kumar, M. G., Knowles, L. y Knowles N. R. 2000. Starch phosphorylase activity correlates with senesce sweetening but now low temperature-induced sweetening in potato.<http://www.rycomusa.com/aspp2000/public /P38/0369.html>.

- Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environment Stresses. Vol. I. Academic Press, New York.
- Lyons, J.M. 1973. Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:445-466.
- Macheix, J. J.; Fleuriet, A.; Billot, J. 1990. Fruit Phenolics. Press. Boca Raton, Florida. 293-294.
- McGuire, R.G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27:1254-1260.
- Manual Sigma. 1997. Starch Assay Kit (Amylase/Amyloglucosidase Method). Kit STA-20. Sigma Tech. No. STB-2(5-97).
- Mao, W.W. and Kinsella, J.E. 1981. Amylase Activity in Banana Fruit: Properties and Changes in Activity with Ripening. *J. Food Sci.* 46:1400-1409.
- Marangoni, G. A. ; Palma, T. and Stanley W. 1996. Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biol. Tech.* 7:193-217.
- Max Planck Society. 1998. Inhibition of novel gene involve in phosphorylating starch in transgenic potato tubers leads to the repression of cold induced sweetening. <http://www.mpg.de/news98/news1.htm>
- Mélo, E.O.; Krieger, N. and Montenegro S.T. 1994. Physicochemical Properties of Jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban) Starch. *Starch/Staerke. Weinheim;* 7:245-247.
- Mercado-Silva E.; Rubatzky, V.; Cantwell, M.I. 1997. Variation In Chilling Susceptibility Of Jicama Roots. *Acta Hort.* 467, ISHS: 357-362.

- Mercado-Silva E. y Cantwell, M. 1998. Quality changes in jicama roots stored at chilling and non chilling temperatures. *J. Food Quality*. 21: 211-221
- Mercado-Silva E.; Cantwell M.I.;Martínez,M. y García,R. 1998a. Problemática del manejo postcosecha de Jícama, *Pachyrhizus erosus* (L.) Urban, en la zona centro de México. 2<sup>nd</sup> Int. Symp. Tub. Leg. Celaya,México: 441-452.
- Mercado-Silva E., García R., Heredia-Zepeda A. y Cantwell M. 1998b. Development of chilling injury in five jicama cultivars. *Postharvest Biol. And Technol.* 13:37-43.
- Minolta Corporation Manual.1994. Precise Color Communication. Minolta Corporation Instrument System Division. Ramsey,NJ.10-11.
- Morris,L.L.1982. Chilling injury of horticultural crops: an overview. *Hort.Sci.* 17:161-162.
- Murata, T.1990. Relation of chilling stress to membrane permeability. En: *Chilling Injury of Horticultural Crops*. Ed. CRC Press, Boca Raton,Florida:201-209.
- O'Donoghue. P. E., Yada, Y. R. y Marangoni, G. A. 1995. Low Temperature Sweetening in Potato Tubers: the Role of the Amyloplast Membrane. *J. Plant Physiol.*145:335-341.
- Ohad, I; Friedberg, I. y Schramm, M.1971. Biogenesis and Degradation of Starch. *Plant Physiol.*47:465-477.

- Orozco, W.; Cantwell, M. y Hernández, L. 1990. Postharvest studies on jícama (*P.erosus*). Quality and physiological changes of roots stored at different temperatures. Progress report. Dept. Vegetable Crops, Mann Laboratory, UC Davis. 1-10.
- Orting, B; Grûneberg, W. J. y SØrensen, M. 1996. Ahipa [*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi] in Bolivia. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 43: 435-436.
- Paull, R.E. 1990. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. En: Chilling injury of horticultural crops. Ed. Wang, Y.C. CRC Press, inc. Boca Raton, Florida.
- Paull, E. R. y Chen. 1988. Compositional changes in Yam bean during storage. *HortScience*. 23 (1): 194-196.
- Pinto-Córtés, B. 1973. Cultivo de la jícama. *Tierra*. 28(6):454-457, 471.
- Pollock, C.J. y T. ap Ress. 1975. Activities of enzymes of sugar metabolism in cold-stored tubers of *Solanum tuberosum*. *Phytochemistry*. 14: 613-617.
- Pontes-Thé P., V. Déa de Carvalho, C.M. Patto-De Abreu, R. Pontes-Nunes y N. Villela-De Pinto. 2001. Modifications on the enzymatic activity of pineapple cv 'Smooth Cayenne' related to the storage temperature and stage of maturation. *Cienc. Agrotec., Lavras*. 25(2):364-370
- Purvis, A.C. 1985. Relationship between chilling injury of grapefruit stored at low temperature. *Scientia Hort*. 23:2611-2617.

- Raison, K. J. y Orr, R.G. 1990. Proposals for a better understanding of the molecular basis of chilling injury. En *Chilling injury of horticultural crops*. Ed. CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida: 145-164.
- Ramirez-Martínez A.S., 1999. Cambios en la concentración de compuestos fenólicos y las actividades de polifenol oxidasa y fenilalanina amonio liasa en dos especies de jícama almacenadas a bajas temperaturas. Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias: 1-60.
- Ramírez-Moreno, E. 1999. Cambios en los nutrimentos de tres materiales genéticos de jícama almacenada bajo refrigeración. Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener la licenciatura en nutrición: 1-100.
- Ross, W. W., Mackay, J. J. y Sederoff, R. R. 1998. Recent Advances in Understanding Lignin Biosynthesis. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Mol. Biol.* 49: 585-609.
- Salveitt, M. and Morris, L. L. 1990. Fresh-cut product biology. En: *Fresh-Cut products. Maintaining Quality and Safety*. UC Davis Postharvest Hort. Series N.10.
- SAGARH, 1999. <http://sagarh.gob.mx>
- Shindler, J. S., Childs, R. E., y Bardsley, W.G. 1976. *Eur. J. Biochem.* 65:325-331.
- Smith, A. M.; Denyer, K. y Martin, C. 1997. The Synthesis of the Starch Granule. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:67-87.

- Stinch F.H. 1991. The beneficial and hazardous effects of simple phenolic compounds. Cancer research Center. *Mutation Research*. 259: 307-324.
- Sørensen, M. 1990. Observations on distribution, ecology and cultivation of the tuber-bearing legume genus *Pachyrhizus Rich.* ex. DC. Agricultural University Wageningen, Netherlands: 1-38.
- Vamos, V. L. 1981. Polyphenol oxidase and Peroxidase in fruit and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45:49-127.
- Wegrzyn T. y E. MacRae. 1995. Alpha-amylase and starch degradation in kiwifruit. *J. Plant Physiol.* 147:19-28.
- Whitaker, J. 1972. The glycoside hidrolases. En: Principles of enzymology for the food sciences. Ed. Dekker. New York: 400.
- Wills, R.; McGlasson, D.G. y Joyce D. 1998. Postharvest An Introduction to the Physiology and Handling of Fruit, Vegetables and Ornamentals. Ed. CABI: 65.
- Wismer, W. V., A. G. Marangoni y R.Y. Yada. 1995. Low temperature sweetening in roots and tubers. *Hort. Rev.* 315-321.