

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL
CENTRO DE LA REPUBLICA

**“CAMBIOS FISIOLÓGICOS Y DE CALIDAD EN GUAYABA
(*Psidium guajava* L.) DURANTE LA MADURACIÓN Y
PROCESADO MÍNIMO”.**

T E S I S

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

IBQ. ELIZABETH LOPEZ ENRIQUEZ

Director de tesis:

DR. EDMUNDO MERCADO SILVA

Centro Universitario
Querétaro, Qro. México.
Octubre, 2006.

BIBLIOTECA CENTRAL UAQ

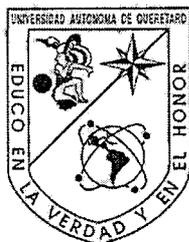
No. Adq. H 71350

No. Título _____

Clas. TS

664.85

L 854c



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**“CAMBIOS FISIOLÓGICOS Y DE CALIDAD EN GUAYABA
(*Psidium guajava* L.) DURANTE LA MADURACIÓN Y PROCESADO MÍNIMO”.**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

IBQ. Elizabeth López Enriquez

Dirigido por:

Dr. Edmundo Mercado Silva

SINODALES

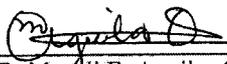
Dr. Edmundo M. Mercado Silva
Presidente

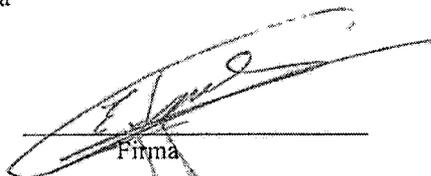
Dr. Miguel Ángel Gómez Lim
Secretario

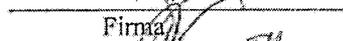
Dr. Ramón A. Martínez Peniche
Vocal

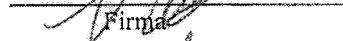
Dr. Crescenciano Saucedo Veloz
Suplente

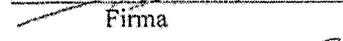
Dr. Ramón Guevara González
Suplente


Magali E. Aguilar Ortiz
Directora de la Facultad de Química

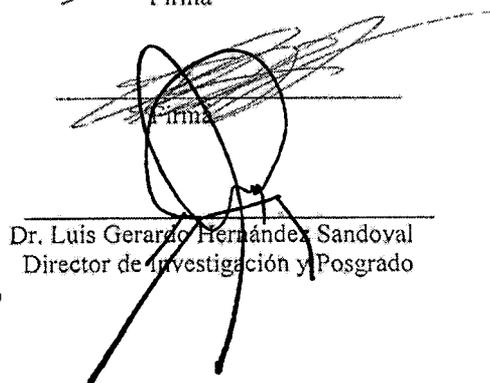

Firma


Firma


Firma


Firma


Firma


Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoyal
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Octubre de 2006
México

RESUMEN

México ocupa el segundo lugar en la producción de guayaba a nivel mundial; el 70% de la producción la generan los estados de Michoacán y Aguascalientes de manera concentrada en los meses de Septiembre a Diciembre; originando sobreoferta, desplome de precios y desaliento en la producción. Existen mercados potenciales para su comercialización que no han sido explorados ya que hay un sector de consumo que demanda frutas y hortalizas en estado fresco, de alta calidad y listos para el consumo, o productos mínimamente procesados. No obstante, no hay estudios respecto de la aplicación de esta tecnología en guayaba. El etileno es un regulador del proceso de maduración, por lo que es de interés controlar su producción o acción. Estudios previos han reportado que el etileno es fundamental para el proceso de maduración de guayaba, sin embargo, su remoción o adición dentro de ambientes de conservación no afectan de forma notable el proceso, lo que hace pensar que éste pudiera estar regulado por el número de receptores de etileno en el fruto. El objetivo de este trabajo fue medir los cambios fisiológicos y de calidad de guayaba mínimamente procesada almacenada a diferentes temperaturas, así como determinar la expresión genética de los receptores de etileno durante el proceso de maduración de guayaba. Para guayaba mínimamente procesada, se realizaron dos experimentos independientes: en el primero, frutos amarillo firmes de guayaba se pelaron con una solución de NaOH (2%) a 85° C por 2 minutos; se lavaron, sanitizaron y dividieron en dos lotes; frutos enteros y mitades sin semillas; éstos se almacenaron a 0, 4, 10 y 15° C. El segundo experimento, frutos amarillo firmes se cortaron y dividieron en dos lotes: mitades con semilla y sin semilla, se almacenaron a 0 y 10° C. Cada dos días se midió la tasa de respiración, producción de etileno, cambio de color, resistencia a la penetración, contenido de sólidos solubles totales, ácido ascórbico y carbohidratos totales. Para la expresión de receptores de etileno, se seleccionaron frutos en 10 diferentes estados de madurez (juzgados por su color), se les determinó la producción de CO₂ y etileno así como su color; se congelaron con N₂ líquido y almacenaron a -70° C hasta la extracción del ARN total del cual por Transcripción-Reversa (RT) se obtuvo el ADNc mismo que se amplificó por PCR utilizando oligos degenerados. El procesado mínimo con pelado químico aumentó drásticamente la tasa de respiración, inhibió la producción de etileno, que provocó un menor desarrollo de aromas, disminuyó el color, un menor contenido de ácido ascórbico y sólidos solubles, una disminución en la firmeza, una baja calidad sensorial de las muestras y un deterioro acelerado en todas las condiciones de almacenamiento. Los productos sin pelado químico mostraron una tasa de respiración notablemente menor, (35–97 ml CO₂ Kg⁻¹hr⁻¹ a 10° C), respecto de las peladas químicamente. La producción de etileno fue menos alterada respecto de aquellas frutas y mantuvieron más altos los contenidos de sólidos solubles totales y ácido ascórbico, así como la firmeza. La temperatura de 0° C fue la que mantuvo mejor las propiedades fisiológicas. Por lo que el simple partido o cortado del fruto y su conservación a bajas temperaturas parece ser el procedimiento más adecuado para este tipo de fruto. Las técnicas de RT-PCR utilizando oligos degenerados aplicadas en las condiciones de este trabajo no permitieron determinar la expresión genética de los receptores de etileno durante la maduración de frutos de guayaba.

Palabras clave: Guayaba, *Psidium guajava*, mínimamente procesado, etileno, receptor de etileno.

SUMMARY

Mexico is the second producer of guava at world level; this production is generated mainly in the states of Michoacán and Aguascalientes (70%) from September to December; causing an oversupply, price collapse and production discouragement. There are unexplored potential markets for their marketing since there is a consumption sector who demands fresh fruit with high quality and ready for consumption, or minimally processed products, and there are no studies in this respect of guava fruit. Ethylene is a regulator of the ripening process and for that there are interests to control its production or action. Previous studies have reported that ethylene is fundamental in the ripening process of guava; however, its removal or addition in conservation atmospheres did not affect the process, this makes us think that their action could be regulated by the ethylene receptors number in the fruit. The objective of this work was to measure the physiologic and quality changes of minimally processed guava stored at different temperatures, as well as to determine the genetic expression of the ethylene receptors during the ripening process of guava. For minimally processed guava, two independent experiments were carried out; the first: yellow guava fruits were peeled in NaOH (2%) at 85°C for 2 minutes; washed, sanitized and divided into two lots; whole fruits and halves without seeds; which were stored at 0, 4, 10 and 15°C. In the second experiment, yellow fruits were cut and divided into two lots; halves with seed and without seed, and stored at 0 and 10°C. Every 2 days the respiration rate, ethylene production, color change, resistance to penetration, soluble solids content, ascorbic acid and total carbohydrates content were measured. For ethylene receptors expression, intact fruits were selected in 10 different states of maturity (judged by their color), their CO₂ and their ethylene production as well as their color were measured; and after freezing in N₂ liquid and stored at -70°C until their total RNA extraction; the ADNc was obtained by Reverse-Transcription (RT) and amplified by PCR using degenerate primers. The minimum processed with chemically peeled fruit increased drastically the respiration rate, inhibited the ethylene production that caused a smaller aromas development, diminished the color, and also the ascorbic acid and soluble solids content, decreased the stability, with low sensorial quality of the samples and a quick deterioration under all the storage conditions. The products without chemically peeled fruit showed a notably smaller respiration rate, (35-97 ml CO₂ kg-1hr-1 at 10°C), regarding the chemically peeled. Ethylene production was less altered regarding those fruits and they maintained a higher total soluble solid and ascorbic acid contents, as well as their stability. The 0°C temperature maintained the best physiological properties. The simple fruit cutting and low temperatures conservation seems to be the most appropriate procedure for this fruit. The techniques of RT-PCR using degenerate primers applied under the conditions of this work did not allow the determination of the genetic expression of ethylene receptors during the ripening of guava fruit.

Key Words: Guava, *Psidium guajava*, minimally processed, ethylene, ethylene receiver.

*** AGRADECIMIENTOS ***

- ✿ A mi Asesor Dr. Edmundo Mercado Silva, por su apoyo y orientación brindados durante el largo trayecto de este trabajo.
- ✿ Al Dr. Miguel Ángel Gómez Lím por el apoyo otorgado durante mi estancia en el CINVESTAV, Irapuato.
- ✿ Al Dr. Miguel Ángel Gómez Lím, Dr. Ramón Guevara González, Dr. Crescenciano Saucedo Veloz y Dr. Ramón Martínez Peniche por su ayuda, tiempo, paciencia y conocimientos aportados en este trabajo.
- ✿ A los productores de Guayaba en Michoacán Ing. Leopoldo, Ing. Hugo y colaboradores, y a la fundación Progomich por el apoyo con la materia prima, mismas que fueron esenciales en este trabajo de investigación.
- ✿ A Iguí's, por todo su amor, cariño y apoyo, en los momentos buenos y malos, y sobre todo, por su infinita comprensión y paciencia en el tiempo que hemos compartido, que espero que nunca termine. A ti, por mantenerme firme en este reto tan difícil, jamás saldrás de mi vida.
- ✿ A mis amigas Carmelita y Lety, por todo su apoyo y ayuda en los momentos difíciles de este proyecto de vida, y con especial cariño les agradezco el haber estado ahí siempre que lo necesite.
- ✿ A mis amigos de la Maestría: Edel, Nancy, Nadia, Norma, Estrella, Rafa, Estela, Lorenzo, Jesús, Sayn, y a todos aquellos que en este momento se me olvida mencionar; por su amistad; y a Diana por su apoyo en los experimentos realizados.
- ✿ Al personal del área administrativa: Carmelita, Laurita, Silvia, y Marigel por su amistad, y su incansable orientación y apoyo administrativo.
- ✿ A las doctoras Minerva Ramos y Rosalía Reynoso. Gracias por sus consejos.
- ✿ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado para la realización de este trabajo, mismo que sin el no hubiese sido posible la realización de este proyecto. GRACIAS...

Dedicada A:

A quienes son lo más valioso en mi vida:

A mi Papito lindo, Víctor, a mi Mamita adorada, Guadalupe, quienes me han dado mucho más que educación y apoyo en la vida y a quienes no tendré forma de pagarles el amor, paciencia, tiempo y esfuerzo que me han dedicado.

A mis hermanos Álvaro, Víctor, Renato y Javier; por impulsarme a hacer autoindependiente y a adquirir fortaleza en momentos difíciles. Los quiero mucho.

A mis sobrinitas, Sary y Emy, por darme alegría y enseñarme paciencia en la vida, sobre todo por enseñarme a vivir como niña y por su puesto a su mami Lorena que forma parte de nuestra familia.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
INDICE	v
INDICE DE CUADROS	ix
INDICE DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1. GENERALIDADES DE LA GUAYABA	3
2.1.1. ORIGEN	3
2.1.2. TAXONOMIA	3
2.1.3. MORFOLOGÍA	3
2.1.4. VALOR NUTRIMENTAL DEL FRUTO.....	4
2.1.5. COSECHA	5
2.1.6. MANEJO POSCOSECHA Y PREENFRIAMIENTO.....	5
2.2. PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE GUAYABA EN MEXICO	6
2.3. CARACTERÍSTICAS DE PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS	8
2.3.1. GENERALIDADES.....	8
2.3.2. CALIDAD DE PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS.....	9
2.3.3. EFECTOS FÍSICOS Y FISIOLÓGICOS DEL PROCESADO MÍNIMO.....	10
2.3.4. VENTAJAS DE LOS PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS	11
2.3.5. TECNOLOGÍA DE ELABORACIÓN DE PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS.....	11
2.3.6. EVALUACION SENSORIAL.....	13
2.3.6.1. ATRIBUTOS SENSORIALES	14
2.4. PROCESO DE MADURACION DEL FRUTO	15

2.4.1.	ETILENO	16
2.4.2.	BIOSÍNTESIS DE ETILENO	17
2.4.3.	EFEECTO FISIOLÓGICO	18
2.4.4.	INHIBIDORES DE LA ACCIÓN DEL ETILENO.....	19
2.4.5.	MECANISMO DE ACCIÓN DEL ETILENO	20
2.4.6.	TRANSCIPCIÓN REVERSA-REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RT-PCR).....	26
III.	OBJETIVOS.....	29
3.1.	OBJETIVO GENERAL	29
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
4.1	MATERIAL BIOLÓGICO Y MANEJO DE MUESTRAS.....	30
4.1.1	MATERIAL BIOLÓGICO.....	30
4.1.2	MANEJO DE LOS FRUTOS.....	30
4.2	ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	31
4.2.1	ESTRATEGIA EXPERIMENTAL GENERAL	31
4.2.2	ESTUDIO DE LA FISIOLOGÍA DE GUAYABA MÍNIMAMENTE PROCESADA	31
4.2.3	ESTUDIO DE LA FISIOLOGÍA DE LA MADURACIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE ETILENO EN GUAYABA	34
4.3.	MÉTODOS.....	36
4.3.1.	TASA DE RESPIRACIÓN Y PRODUCCIÓN DE ETILENO	36
4.3.2.	CAMBIO DE COLOR	38
4.3.3.	RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN.....	39
5.3.4.	CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO	40
4.3.5.	CONTENIDO DE AZÚCARES TOTALES.....	42
4.3.6.	CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES.....	43
4.3.7.	EVALUACIÓN SENSORIAL	43
4.3.8.	MÉTODO PARA AISLAR ARN TOTAL DEL TEJIDO DE GUAYABA	46

4.3.9.	TRANSCRIPCIÓN REVERSA-REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RT-PCR).....	47
4.3.9.1.	TRANSCRIPCIÓN REVERSA (RT)	48
4.3.9.2.	SELECCIÓN DE LOS OLIGONUCLEÓTIDOS	49
4.3.9.3.	SELECCIÓN DE LA TEMPERATURA DE HIBRIDACIÓN	49
4.3.9.4.	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)	50
4.4.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	51
4.4.1.	ESTUDIO DE LA FISIOLOGÍA DE GUAYABA MÍNIMAMENTE PROCESADA	51
4.4.2.	ESTUDIO DE LA MADURACIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE ETILENO EN GUAYABA.....	52
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
5.1.	COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO DE GUAYABA MÍNIMAMENTE PROCESADA	53
5.1.1.	EFFECTO EN LA TASA DE RESPIRACIÓN	53
5.1.2.	PRODUCCIÓN DE ETILENO	59
5.1.3.	CAMBIOS DE COLOR	63
5.1.4.	RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN.....	69
5.1.5.	CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO	73
5.1.6.	CONTENIDO DE AZÚCARES	77
5.1.7.	CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES.....	81
5.1.8.	EVALUACIÓN SENSORIAL	85
5.2.	ESTUDIO DE LA MADURACIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE ETILENO EN GUAYABA.....	93
5.2.1.	TASA DE RESPIRACIÓN	93
5.2.2.	PRODUCCIÓN DE ETILENO	94
5.2.3.	CAMBIO DE COLOR	95
5.2.4.	AISLAMIENTO DE ARN TOTAL DEL TEJIDO DE GUAYABA	97
5.2.5.	TRANSCRIPCIÓN REVERSA-REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RT-PCR).....	98
5.2.6.	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)	100

VI.	CONCLUSIONES.....	105
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	107
	APENDICES	116

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición nutrimental del fruto de guayaba.....	4
2. Producción (Ton) anual de guayaba a nivel nacional en los principales estados productores.	7
3. Comparación de medias de la tasa de respiración (mL CO ₂ Kg ⁻¹ hr ⁻¹) de frutos enteros y en mitades sin semilla de guayaba mínimamente procesada pelada químicamente almacenadas a diferentes temperaturas.	56
4. Comparación de medias de factores individuales (temperatura y tipo de guayaba) de la tasa de respiración (mL CO ₂ Kg ⁻¹ hr ⁻¹) de frutos de guayaba mínimamente procesadas peladas químicamente en distintas temperaturas de almacenamiento.	56
5. Comparación de medias de la tasa de respiración (mL CO ₂ Kg ⁻¹ hr ⁻¹) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar en distintos temperaturas de almacenamiento.	57
6. Comparación de medias de la producción de etileno (µL Etileno Kg ⁻¹ hr ⁻¹) de frutos de guayaba mínimamente procesadas peladas químicamente en distintas temperaturas de almacenamiento.....	62
7. Comparación de medias de la producción de etileno (µL Etileno Kg ⁻¹ hr ⁻¹) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, cortadas, con y sin semillas en diferentes temperaturas de almacenamiento.	62
8. Comparación de medias del índice de matiz de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente en distintas presentaciones y diferentes temperaturas de almacenamiento.....	65
9. Comparación de medias del índice de matiz de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, en distintas presentaciones, diferentes temperaturas de almacenamiento.	65
10. Comparación de medias del cambio de color (ΔE), en frutos de guayaba mínimamente procesada con pelado químico, en diferentes tipos de presentación. Almacenadas a diferentes temperaturas.	68
11. Comparación de medias del cambio de color (ΔE), en frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, en diferentes presentaciones. Almacenados a diferentes temperaturas.....	68

12.	Comparación de medias de la resistencia a la penetración (N) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente almacenados a diferentes temperaturas.....	72
13.	Comparación de medias de la resistencia a la penetración (N) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar. Almacenados a diferentes temperaturas.....	72
14.	Comparación de medias del contenido de Ácido Ascórbico (mg de ácido ascórbico por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada pelados químicamente, almacenados a diferentes temperaturas.	76
15.	Comparación de medias del contenido de Ácido Ascórbico (mg de ác. Ascórbico por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, almacenados a diferentes temperaturas.	76
16.	Comparación de medias del contenido de azúcares (g de azúcar por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente, almacenados a diferentes temperaturas.	80
17.	Comparación de medias del contenido de azúcares (g de azúcar por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar almacenados a diferentes temperaturas.....	80
18.	Comparación de medias del contenido de sólidos solubles totales (°Brix) de frutos de guayaba mínimamente procesada pelada químicamente y almacenados a diferentes temperaturas.	83
19.	Comparación de medias del contenido de sólidos solubles totales (°Brix) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar. Almacenadas a diferentes temperaturas.....	83

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Producción Nacional anual de Guayaba en los años de 2000 a 2004.....	7
2. Esquema general de la Biosíntesis de Etileno y regeneración de la metionina (Ciclo de Yang).	18
3. Receptor de etileno. Sistema híbrido encontrado en bacterias y plantas.....	23
4. Activación del receptor de etileno. La unión del etileno con el receptor genera la autofosforilación de un residuo de histidina en el receptor, que llevara acabo la activación del dominio para desencadenar las respuestas celulares.	23
5. Ruta de transducción de señal del etileno.....	24
6. Representación esquemática de la técnica: Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR).	27
7. Empacado de guayabas en cajas de cartón.	30
8. Estrategia experimental general.....	32
9. Estrategia experimental desarrollada para el estudio de la fisiología de guayaba mínimamente procesada.	33
10. Estrategia experimental para el estudio de fisiología de la maduración y expresión de receptores de etileno.....	35
11. Esquema del método estático para medir la tasa de respiración y producción de etileno.	37
12. Sistema de Coordenadas tridimensionales para colores	40
13. Formato para la evaluación sensorial de diferentes atributos en muestras únicas de guayaba.	44
14. Formato para la evaluación sensorial para comparar diferentes tipos de muestras de guayaba.	45
15. Representación esquemática de la técnica: Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR).	48

16.	Tasa de respiración de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente (a) y sin pelar (b); enteras, en mitades con y sin semillas comparadas con frutos intactos (controles). Almacenadas a diferentes temperaturas.....	54
17.	Ataque de microorganismos en guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente, almacenadas tres días a 15° C.....	58
18.	Producción de etileno de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente (a) en mitades sin semillas y enteras; (b) sin pelar en mitades con y sin semilla y frutos intactos (control). Almacenadas a diferentes temperaturas.	61
19.	Cambio del índice de matiz en guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente (a) y sin pelar (b) en forma entera, en mitades con y sin semillas así como frutos intactos (controles). Almacenadas a diferentes temperaturas.	64
20.	Cambio de color (ΔE) de frutos de guayaba mínimamente procesada, con pelado químico (a) y sin pelar (b) enteras, en mitades con y sin semilla y frutos intactos (control). Almacenados a diferentes temperaturas.	67
21.	Resistencia a la Penetración de frutos de guayaba mínimamente procesada, con pelado químico (a) y sin pelar (b) enteras, mitades con y sin semillas y frutos intactos (controles). Almacenas a diferentes temperaturas.	71
22.	Contenido de Ácido Ascórbico (mg ác. ascórbico por 100g muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente (a) y sin pelar (b); tanto en mitades con y sin semillas, enteras, y frutos intactos (controles), almacenados a diferentes temperaturas.	75
23.	Contenido de azúcares (g de azúcar por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente (a) y sin pelar (b); en mitades con y sin semillas, enteras y frutos intactos (controles) almacenados a diferentes temperaturas.....	79
24.	Contenido de Sólidos Solubles Totales (°Brix) de frutos de guayaba mínimamente procesadas pelados químicamente (a) y sin pelar (b); en mitades con y sin semillas, enteras y frutos intactos (controles) almacenados a diferentes temperaturas.....	82
25.	Evaluación sensorial de color (a) y de aroma (b) de frutos de guayaba sometidos a pelado químico y almacenadas a 0° y 10°C comparadas con guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente el día de la evaluación sensorial (RP = Recién procesadas).....	86
26.	Evaluación sensorial de sabor (a) y de textura (b) de los frutos de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente, almacenados a 0° y 10° C	

	comparadas con frutos mínimamente procesados el día de la evaluación sensorial (RP = Recién peladas).	87
27.	Evaluación sensorial (a) de apariencia y (b) de granulosidad de los diferentes tratamientos de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente almacenadas a 0° y 10° C, comparadas con guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente el día de la evaluación sensorial (RP = Recién peladas).....	88
28.	Evaluación sensorial de aceptabilidad general de los diferentes tratamientos de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente, almacenadas a 0° y 10° C comparadas con guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente el día de la evaluación sensorial (RP = Recién peladas).....	89
29.	Tasa de respiración de frutos de guayaba en diez diferentes estados de madurez de guayaba establecidos en base al cambio de color.	94
30.	Producción de Etileno ($\mu\text{L Etileno Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$) de diez diferentes estados de madurez de guayaba establecidos a base del cambio de color.	95
31.	Índice de matiz Hue (H°) de los diferentes estados de madurez de guayaba cv. 'Media China'. Desde verde hasta amarillo maduro.	96
32.	Valor a^* de color de frutos de guayaba en diez diferentes estados de madurez.	97
33.	Verificación de integridad de la molécula de ARN total de mesocarpio de guayaba en gel de agarosa al 1% de 10 diferentes estados de madurez. Se analizó 1 μL de ARN a una concentración de 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Los números indican los diferentes estados de madurez donde 1 es verde y 10 es maduro.....	98
34.	Gradiente de Temperatura en PCR de ARN de guayaba.....	99
35.	RT-PCR de ARN de guayaba de 10 diferentes estados de madurez (donde 1 es verde y 10 es amarillo maduro, serie B) utilizando 50° C como temperatura de hibridación para la amplificación.	101
36.	Secuencia de aminoácidos del cADN del receptor de etileno de mango (REM1). (Gutiérrez Martínez, 2001). Donado por el Dr. Miguel Ángel Gómez Lim del CINVESTAV-Irapuato para la realización de este trabajo.	103
37.	RT-PCR de ARN de guayaba de 5 diferentes estados de madurez (donde 1 es verde y 9 es amarillo maduro) utilizando 55° C como temperatura de hibridación para la amplificación.	104

I. INTRODUCCIÓN

La guayaba es un fruto muy demandado por sus características organolépticas, su alto valor nutrimental está representado por su alto contenido de vitamina C y minerales. México, es el segundo productor mundial de este fruto después de la India; no obstante, esta producción se concentra en dos estados de la República (Michoacán y Aguascalientes) y dentro de los meses de septiembre a diciembre. Esta situación origina una sobreoferta del producto, que propicia el desplome de precios en el mercado y el desaliento en la producción. Aunque existen mercados potenciales para la comercialización de este fruto, éstos no han sido explorados, debido a su escasa vida de anaquel; por ello es importante buscar alternativas de conservación que mejoren su distribución y amplíen su mercado.

La producción de guayaba en el país se ha incrementado notablemente en los últimos años, aunque su vida poscosecha es de solo siete días a temperatura ambiente o de dos semanas a 8° C (Mercado y col., 2003), debido a su alta sensibilidad a daños por frío y mecánicos que limitan aún más sus posibilidades de distribución. Por esta problemática además de los problemas de mosca de la fruta, lo que impide significativamente que el fruto no se envíe a mercados distantes como los Estados Unidos, Europa o Asia, e incluso a estados del norte de país. El alcanzar dichos mercados podría ser una alternativa para descongestionar la sobreproducción, aunque para ello se requiere que el fruto alcance una vida poscosecha de 25 a 30 días, o bien el poder ofertar el producto en otras presentaciones hasta ahora no estudiadas.

Con el objeto de plantear alternativas de consumo de este fruto, se conoce que el mercado de consumo actual demanda frutas y hortalizas preparadas en estado fresco, de alta calidad, listos para consumo y con los menores riesgos de contaminación microbiana. Los productos que cumplen estos requisitos se les conocen como productos mínimamente procesados. En guayaba, se cuenta con escasos estudios al respecto en Brasil para las variedades 'Paluma' y 'Pedro Sato' (Ben-Hur y col., 2003; Ben-Hur y Durigan, 2001), por lo que el desarrollo de presente trabajo aportaría información nueva a este respecto.

De manera alterna, y para lograr una mayor vida poscosecha, es necesario conjuntar y manipular una serie de factores de pre y poscosecha que permitan controlar los procesos de maduración del fruto y con ello contribuir a alcanzar esos mercados distantes.

El etileno es una fitohormona y su presencia induce una serie de respuestas que llevan a la maduración de frutos climatéricos, por lo que siempre ha representado un aspecto de gran interés conocer los mecanismos de su síntesis, así como su acción con el fin plantear alternativas tecnológicas que permitan alargar la vida de anaquel de los frutos. Estudios previos han determinado que el etileno es fundamental para el proceso de maduración de la guayaba; sin embargo, su remoción o adición dentro de los ambientes de conservación no afectaron de forma notable el proceso (García-Velasco, 1997); otros estudios han determinado que la respuesta al etileno incluye una serie compleja de procesos de señalización celular interna los cuales terminan por encender, dentro del genoma nuclear, una serie de genes que se expresan y terminan en la síntesis de enzimas responsables para llevar a cabo los procesos de maduración del fruto. Este proceso de respuesta al etileno inicia por una serie de receptores de etileno, los cuales se supone se encuentran a nivel de membrana y desencadenan los procesos de señalización que alcanzan el núcleo. De ser esto cierto, y dada la escasa respuesta de los frutos de guayaba al etileno exógeno, pareciera que el número de receptores de etileno fuera pequeño por lo que es de interés identificar y cuantificar el número de receptores en este fruto. Este conocimiento podría generar recomendaciones prácticas para la mejor manipulación del proceso de maduración de este fruto.

Por lo anterior, el presente trabajo pretende desarrollar un producto mínimamente procesado de guayaba que permita ampliar su mercado de comercialización y además cuantificar y determinar la expresión de receptores de etileno durante el proceso de maduración de la guayaba para analizar su función biológica dentro del proceso. El estudio de estos procesos permitirá desarrollar tecnología necesaria para ofrecer un producto con mayor vida de anaquel y facilitar los procesos de comercialización y distribución de este fruto, además de ampliar el conocimiento acerca de la fisiología de la maduración.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. GENERALIDADES DE LA GUAYABA

2.1.1. ORIGEN

La guayaba es una fruta originaria de Mesoamérica que comprende el sur de México y Centroamérica (González y col., 2002); y actualmente se encuentra difundida en todo el mundo siendo los principales países productores la India, Brasil, México, Sudáfrica, y Colombia. Desde el punto de vista nutricional, es una fruta muy valiosa por ser fuente natural de ácido ascórbico, carbohidratos y minerales indispensables para la dieta humana (González y col. 2002).

2.1.2. TAXONOMIA

La guayaba pertenece al reino Vegetal (*Plantae*), subreino Fanerógamas, clase Angiospermas, subclase *Dicotiledonea*, subdivisión *Lignoae*, orden *Myrtales*, familia *Myrtaceae*, genero *Psidium*, especie *guajava*. El orden de los *Myrtales* comprende 11 familias, la familia *Myrtaceae* cuenta con alrededor de 121 géneros que comprenden aproximadamente 3,850 especies según el diccionario de Botánica Oxford (González y col. 2002).

2.1.3. MORFOLOGÍA

El guayabo es un arbusto de 3 a 10 m de altura, de tronco corto y de ramas cercanas a la superficie del suelo que varían de 10 a 30 cm. de diámetro. El árbol crece simétricamente y presenta una forma de domo. La corteza es lisa, de color café rojizo oscuro, tersa escamosa, la cual se desprende en delgadas escamas. Las ramas jóvenes portan a las angostas en los cuatro lados al principio, convirtiéndose a tetrágonas más tarde, de color verde amarillo u rojizo. Las hojas son simples, opuestas, ovaladas o elípticas-oblongas, miden de 5 a 18 cm. Las flores nacen en la base de la hoja son axiales, solitarias o se encuentran en cimas cortas de 2 a 3

flores en brotes jóvenes, con gran cantidad de estambres y un solo pistilo (González y col., 2002).

La forma del fruto, color de la pulpa y de la cáscara depende de la variedad, los hay redondos y ovalados en forma de pera, rugosos o lisos, brillantes; de 5 a 12 cm. de largo y de 5 a 7 cm. de diámetro de color amarillo verdoso en su exterior o amarillo claro en plena madurez. La pulpa es jugosa, de color blanco amarillento, roja o rosada, con sabor dulce y aromático. Su estado de madurez se observa en la piel cuando alcanza un color verde amarillento, o amarillo rosado. Es un fruto climatérico y se clasifica, de acuerdo a su producción de etileno, como moderada ($1.0 - 10.0 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) a temperatura ambiente (20°C), además de ser un producto que sufre daño por frío (Mercado y col., 2003).

2.1.4. VALOR NUTRIMENTAL DEL FRUTO

La guayaba tiene mayor contenido de vitamina C que los cítricos y cantidades apreciables de vitamina A, el ácido ascórbico se encuentra principalmente en la piel. Además de su alto valor nutrimental (Cuadro 1), la guayaba cuenta con propiedades medicinales entre las que se destacan propiedades antidiarreicas, desinflamantes, sedantes y es útil contra el dolor de estomago y afecciones de la piel.

Cuadro 1. Composición nutrimental del fruto de guayaba.

VALOR NUTRITIVO DE LA GUAYABA (PROMEDIO EN 100 g)			
COMPONENTE	PROMEDIO	COMPONENTE	PROMEDIO
Calorías	51.00 Kcal	Hierro	00.30 mg
Proteínas	00.80 g	Zing	00.23 mg
Grasas	00.60 g	Ácido ascórbico	183.00 mg
Carbohidratos	11.90 g	Niacina	01.20 mg
Potasio	284.00 mg	Riboflavina	00.05 mg
Calcio	20.00 mg	Tiamina	00.05 mg
Magnesio	10.00 mg	Piridoxina	00.14 mg
<i>Sodio</i>	<i>03.00 mg</i>	<i>Equiv. retinol</i>	<i>32.00 μcg</i>

FUENTE: Valor nutrimental de los alimentos de mayor consumo en México, 1992. (Esquivel y Guerrero, 1998)

2.1.5. COSECHA

La guayaba se cosecha en forma manual, debido a que el cultivo se encuentra en áreas con pendientes pronunciadas donde es difícil pensar en otro tipo de procedimientos; aunque a través de la cosecha manual se tiene la ventaja de seleccionar los frutos que han alcanzado el estado de madurez deseado, hay menor daño mecánico y se puede estar cosechando varias veces el mismo huerto además de requerir poca inversión (González y col., 2002).

El índice de cosecha más utilizado es el cambio de color (de verde a verde amarillento), lo cual ocurre entre los 90 a 150 días después de anthesis (Mercado y col., 1998), dependiendo del régimen de temperaturas existentes en los distintos sitios de producción, aunque también se han descrito algunos otros índices como:

- ✦ Gravedad específica (Tandom y col., 1989; Mercado-Silva y col., 1998); conforme madura la fruta, la fruta se hace menos densa.
- ✦ Firmeza de la fruta.
- ✦ Fuerza de abscisión de la fruta
- ✦ Acidez, grados Brix y la relación Brix/acidez

2.1.6. MANEJO POSCOSECHA Y PREENFRIAMIENTO

Mientras la variedad y el manejo agronómico determinan la calidad de la fruta al momento de la cosecha, el procedimiento de cosecha y el manejo poscosecha son importantes para mantener la calidad. Las pérdidas poscosecha pueden ser elevadas debido a un inadecuado manejo y almacenamiento, el clima donde la fruta se produce puede ser una desventaja si no se emplean procedimientos tecnológicos que ayuden a disminuir el metabolismo alcanzado a esas temperaturas, lo cual acelera la maduración y el envejecimiento, además de facilitar el ataque de microorganismos (Peñaherrera, 2004).

Después de la cosecha es aconsejable eliminar el calor de campo (situación no utilizada en nuestro medio) y mantener frías las frutas durante la distribución y comercialización. El

pre-enfriamiento ayuda a mantener la calidad de la fruta por lo cual también es un factor importante que influye en la vida de anaquel de los frutos.

Debido a la susceptibilidad al daño por frío que presenta este fruto, su capacidad de almacenamiento a bajas temperaturas es limitada. Vázquez-Ochoa y col. (1990), y Benito (2002), describieron una alta sensibilidad del fruto después de su almacenamiento por debajo de 7° C, siendo su temperatura óptima de almacenamiento de 8 a 10° C, aunque a estas temperaturas el proceso de maduración solo se retrasa y no alcanza vidas de anaquel mayores a dos semanas. Lo limitado del periodo de almacenamiento a bajas temperaturas también es un factor que marca límites al periodo de almacenamiento del fruto.

2.2. PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE GUAYABA EN MEXICO

A nivel mundial, México ocupa el segundo lugar en producción de guayaba después de la India (Nieto, 2003), siendo los principales estados productores Michoacán, Aguascalientes, Zacatecas, el Estado de México, Jalisco y Guanajuato (Cuadro 2). La

Figura 1 muestra el notable incremento de la producción en los últimos cinco años, lo que ocasiona una sobreproducción y desplome de precios del producto, especialmente en la temporada de alta producción (septiembre a diciembre); es por ello que los productores deben de buscar alternativas que mejoren la vida poscosecha y que posibiliten una mejor distribución y amplíen el mercado.

La guayaba cuenta con una vida poscosecha de entre cinco y siete días a temperatura ambiente o dos semanas a 8° C (Mercado y col., 2003), lo cual se considera poco tiempo para poder llevarla a mercados distantes, como los estados del norte de la República, Estados Unidos, Europa o Asia, pues actualmente 60% de la producción se comercializa en la Central de Abastos de la Ciudad de México.

Cuadro 2. Producción (Ton) anual de guayaba a nivel nacional en los principales estados productores.

<i>ENTIDAD</i>	<i>AÑO 2000</i>	<i>AÑO 2001</i>	<i>AÑO 2002</i>	<i>AÑO 2003</i>	<i>AÑO 2004</i>
AGUASCALIENTES	94,372.90	100,151.30	101,762.00	107,502.00	107,869.00
MICHOACÁN	99,048.26	101,693.02	116,559.41	110,252.766	128,001.66
ZACATECAS	44,154.00	43,315.96	43,574.90	58,176.00	44,412.00
EDO. DE MÉXICO	6,310.00	5,890.80	7,414.00	9,452.70	10,594.45
JALISCO	6,387.00	6,536.50	6,731.25	7,605.50	5,633.50
GUANAJUATO	858.00	813.50	885.00	1,024.50	828.00
NACIONAL	254,159.97	263,410.13	281,790.26	299,173.46	302,648.65

FUENTE: Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACON, 2005). Incluye: Riego y temporal.

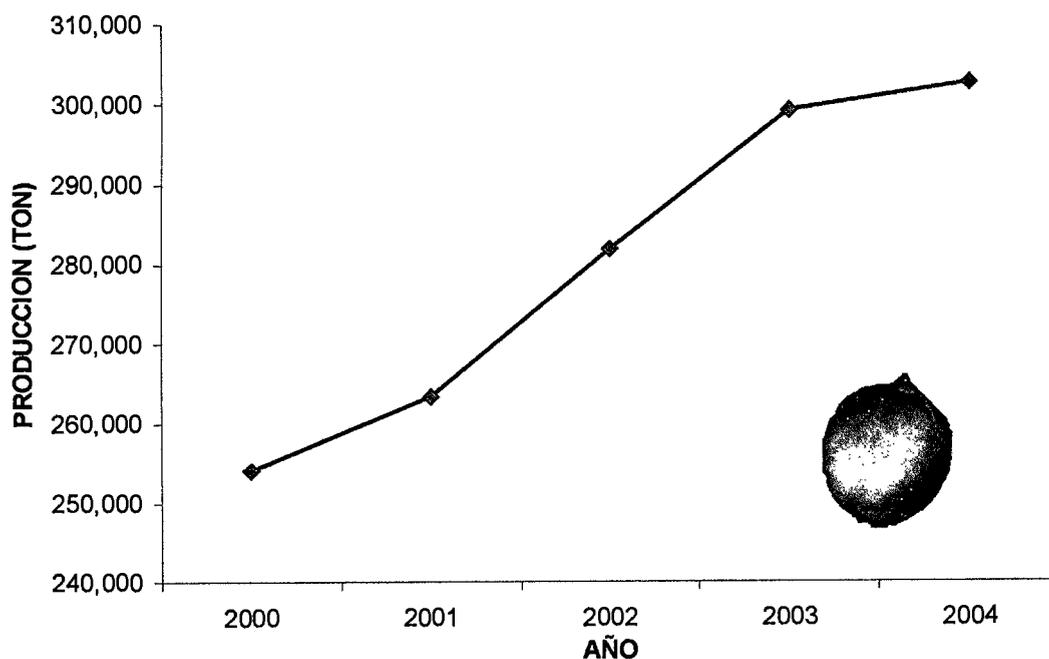


Figura 1. Producción Nacional anual de Guayaba en los años de 2000 a 2004.

El consumo y uso de la guayaba es principalmente como fruto fresco (87%), dado que es en este sector donde adquiere un mayor precio, aunque también se utiliza, en menor proporción (13%), en la elaboración de conservas, dulces, fruta en almíbar, mermeladas, ates, jugos y néctares (González y col., 2002). Por ello es importante ampliar el conocimiento sobre el control de la fisiología de la maduración de dicho fruto para lograr una mayor vida de anaquel que facilite la búsqueda de nuevos mercados. Adicionalmente, se deben buscar nuevas alternativas de consumo que penetren otro sector de mercado y con ello se amplíe el consumo de este fruto; todos estos aspectos permitirán descongestionar el mercado y mantendrán un mejor precio de este fruto.

Existe un sector de la población económicamente activa cuyas actividades de trabajo no le permite distraer tiempo en la preparación de alimentos y por ello demanda productos frescos y listos para consumir, como los productos mínimamente procesados. Para el caso de guayaba mínimamente procesada la información es muy escasa, por lo que estandarizar un procedimiento para elaborar este producto podría ser de interés en la búsqueda de nuevos mercados.

2.3. CARACTERÍSTICAS DE PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS

2.3.1. GENERALIDADES

La elaboración de productos mínimamente procesados tienen como finalidad proporcionar al consumidor un producto frutícola u hortícola transformado ligeramente con las características del producto fresco intacto, con una vida útil lo suficientemente amplia que permita su distribución y, al mismo tiempo, garantizar la seguridad del alimento manteniendo una sólida calidad nutritiva y sensorial.

Para asegurar la estabilidad, calidad nutricia y organoléptica de este tipo de productos, se debe conocer la fisiología del fruto, tanto entero como cortado, además de todos aquellos componentes propios del producto original que puedan verse afectados por la manipulación y el almacenamiento. Controlar todos los factores que pueden influir directa o indirectamente

sobre la calidad del producto es de suma importancia para la aceptación y el éxito (consumo) final de estos productos (Martín-Belloso y Rojas-Graü, 2005).

Para conservarse frescos, los productos mínimamente procesados se preparan mediante una o varias operaciones simples como pelado, cortado, sanitizado, empacado y conservación bajo refrigeración. A estos productos, también se les conoce como productos de la IV gama, pre-preparados, precortados, preparados frescos o parcialmente procesados (Ramírez, 2000).

Estos productos están ideados para su consumo inmediato con un escaso o nulo tiempo para su preparación, lo cual los hace muy atractivos para ser canalizados hacia el mercado de consumidores que no cuentan con tiempo suficiente para preparar alimentos como lo son los consumidores de las grandes ciudades. Esta presentación de productos trae asociado un ahorro de tiempo y esfuerzo.

El procesado mínimo es una tendencia de consumo que se encuentra en gran expansión, y los consumidores demandan productos libres de defectos, que tengan un grado de madurez óptimo y que posean una elevada calidad organoléptica y nutricional, inocuos y libres de compuestos tóxicos (González y Lobo., 2005).

2.3.2. CALIDAD DE PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS

La calidad de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas incluye una combinación de atributos como (Ramírez, 2000):

- ✦ Apariencia visual (frescura, color, ausencia de defectos o pudriciones).
- ✦ Sabor.
- ✦ Textura (turgencia, firmeza e integridad del tejido).
- ✦ Valor nutrimental.
- ✦ Ausencia de residuos químicos (sin aditivos ni agentes químicos).
- ✦ Ausencia de contaminación microbiana (seguridad higiénica garantizada).
- ✦ Alto nivel de calidad.

Entre los factores que influyen en la composición y calidad de los productos intactos se encuentran aquellos de precosecha como son: genéticos, climáticos, culturales, estado de madurez del producto en el momento de la cosecha, manejo desde la cosecha hasta llegar al consumidor (rapidez de enfriamiento, mantenimiento de la temperatura, la humedad relativa óptima y sanitización apropiada), así como su preparación. Esta última afecta directamente la calidad, debido a que el tejido cortado puede acelerar la pérdida de vitaminas, especialmente las solubles en agua, como la "C" (Ramírez, 2000). El mantenimiento de la calidad de los productos mínimamente procesados implica también el mantener la composición nutricional en un estado óptimo y esto también depende de las condiciones de almacenamiento (Ramírez, 2000).

Además de lo anterior, es importante señalar que la calidad de los productos mínimamente procesados depende de la temperatura a la que han sido expuestos desde su cosecha, preparación, distribución, almacenamiento y consumo. Para mantener la calidad de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, se están desarrollando tecnologías emergentes, como la alta presión, los pulsos eléctricos, los tratamientos con energía radiante, las microondas, etc. El objetivo de estas tecnologías emergentes es la sustitución de los tratamientos térmicos tradicionales de pasteurización por otros procesos físicos no térmicos que producen alimentos microbiológicamente estables y no provocan cambios significativos en la calidad sensorial y nutricional (Cano, 2001).

2.3.3. EFECTOS FÍSICOS Y FISIOLÓGICOS DEL PROCESADO MÍNIMO

Entre los efectos físicos y fisiológicos que presentan los productos mínimamente procesados tenemos (Ramírez, 2000):

- ☛ Incremento en el deterioro del producto.
- ☛ Alteración de los procesos de difusión de gases dentro del tejido.
- ☛ Se facilita la entrada de microorganismos.
- ☛ Incremento en la tasa de respiración y la síntesis de etileno
- ☛ Inducción del metabolismo de los compuestos fenólicos.

- ✿ Degradación de la membrana lipídica.
- ✿ Oscurecimiento oxidativo.
- ✿ Cicatrización de heridas.

De acuerdo con Cantwell y Suslow (1999), la respuesta metabólica de los productos mínimamente procesados es una relación directa con el grado de daño añadido al producto durante su proceso de preparación. Es por ello que las tecnologías desarrolladas para estos productos, tratan de minimizar dicho nivel de daño con el objeto de poder obtener la mayor vida de anaquel (Cantwell 1996a).

2.3.4. VENTAJAS DE LOS PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS

Algunas de las ventajas de los productos mínimamente procesados son: su comodidad en su consumo, ahorro de tiempo en la preparación de alimentos, presentación saludable, mejor control de calidad, reducción de producto desperdiciado, reducción de volumen de almacenamiento para conservación y posibilidad de mantener una calidad uniforme (Cano, 2001 y Ramírez, 2000).

2.3.5. TECNOLOGÍA DE ELABORACIÓN DE PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS

Los cambios durante la maduración de los frutos incluyen reacciones bioquímicas que afectan a todos los compartimentos celulares y determinan el color, el sabor y la textura que detecta el consumidor. La intensidad de los procesos fisiológicos asociados con la maduración se ve afectada por factores externos como temperatura, nivel de daño mecánico y composición de la atmósfera ambiente del producto; todo esto influye en la calidad y conservación de los productos mínimamente procesados (Cano, 2001).

Las operaciones que se llevan a cabo para elaborar los productos mínimamente procesados son:

- ✱ Selección
- ✱ Lavado o limpieza
- ✱ Pelado
- ✱ Cortado
- ✱ Sanitizado
- ✱ Almacenado a bajas temperaturas

Para la selección se separan las materias primas en categorías físicas, como peso, tamaño, color y forma. Las ventajas de la selección se reflejan en la calidad del producto.

El lavado es una operación preliminar para separar los contaminantes de las materias primas que pueden ser de origen: mineral, vegetal, animal, químico o microbiano. El lavado puede hacerse con métodos secos como el tamizado, cepillado, aspiración, abrasión, separación magnética, o por métodos húmedos como inmersión, aspersión o flotación. La selección del método depende del tipo de contaminantes que se desee separar, así como de la naturaleza de la materia prima que se trate. En la práctica es conveniente el uso de una combinación de métodos.

El pelado hecho por la acción de lejías (como el Na OH), tiene la ventaja de reducir los costos de operación, es más rápido y se pierde menos fruta; en este método el tiempo de exposición de la fruta con la lejía depende de la concentración y temperatura a que se realice. La eliminación de cáscaras o semillas es necesaria para productos que así lo requieran.

El cortado es necesario y se efectúa con utensilios filosos con objeto de obtener productos uniformes y con la menor extensión de daño mecánico.

El control de la temperatura es la técnica más utilizada e importante para disminuir el metabolismo en estos productos. Las bajas temperaturas reducen la velocidad de respiración, retardan el crecimiento microbiano y disminuyen el deterioro como el oscurecimiento y el ablandamiento de los productos (Ramírez, 2000).

La información existente para guayaba mínimamente procesada, es muy escasa y solo se ha encontrado una publicación al respecto (Ben-Hur, y col., 2003) donde estudiaron frutos procedentes de Brasil de las variedades “Pedro Sato” y “Paluma” los cuales fueron sanitizados pelados manualmente, cortados longitudinalmente y almacenados a 3° C durante 10 días, y con ello describieron algunas de las condiciones para la mejor conservación de estos productos. Por lo que el estudio de un producto mínimamente procesado de guayaba (*Psidium guajava* L.) en la variedad ‘Media China’ ampliaría las bases para la aplicación de ésta tecnología.

2.3.6. EVALUACION SENSORIAL

La evaluación sensorial de los alimentos mínimamente procesados es una herramienta muy útil para investigar el efecto del procesado mínimo en las características de calidad que el consumidor puede apreciar directamente. El Instituto de Tecnólogos de Alimentos de Estados Unidos (IFT) define la evaluación sensorial como la “disciplina científica que permite evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a características de los alimentos y materiales, de acuerdo a su percepción por medio de la vista, el olfato, el gusto, el tacto y el oído” (Picallo, 2002). Mientras que Ramírez y Olgún (1998) señalan que esta disciplina tiene un papel muy importante en la investigación y el desarrollo de nuevos productos alimenticios.

En orden de importancia, los atributos de calidad de los alimentos de origen vegetal son: su apariencia, textura, sabor (gusto y aroma), vida de anaquel, precio y valor nutricional (Ramírez y Olgún, 1998). El aroma, por ser un fenómeno sensorial, suele evaluarse a través de jueces, aunque puede medirse, parcialmente, a través de técnicas de cromatografía de gases. Mientras que la visión y la audición reciben información a larga distancia; el tacto y el gusto son sentidos de corto alcance, debido a que los receptores están en la piel o en la superficie de la lengua, traquea y laringe. Por ello, la caracterización de la calidad sensorial de un alimento es compleja. El ver, tocar, oler y probar, un alimento, establece un catálogo de información para cada individuo acerca de la calidad del alimento y de forma inmediata constituye la aceptación o rechazo del mismo (Ramírez y Olgún, 1998).

Dado que las respuestas sensoriales de los jueces están sujetas a las condiciones de salud de los mismos, su edad y sexo entre otros factores; es recomendable que el panel de degustación lo constituyan jueces sanos, con edades entre 18 y 50 años, y una distribución de sexos cercana a 50% de cada uno (Pedrero y Pangborn, 1989). Algunas veces se deben de excluir del panel aquellos individuos con preferencias muy marcadas y que podrían desviar la evaluación hacia un sentido que desvirtuaría la evaluación del alimento. Por lo que el planear la evaluación sensorial es un aspecto importante antes de llevarla a cabo.

El área de prueba debe ser especial donde no haya distractores y puedan controlarse las condiciones del análisis, El área de preparación debe estar completamente separada del área de prueba, para no influir la opinión del juez, no debe haber olores extraños o relativos a la preparación del alimento. No se permite fumar, ni usar perfumes, debe haber individualidad en las pruebas, la luz debe ser uniforme, los alimentos se sirven en la forma como se hace habitualmente (Salamanca, 2001; Pedrero y Pangborn, 1989). Las mejores horas para efectuar la evaluación son entre las 10 y las 12 y de las 15 a las 17 horas, Es recomendable que para el juez haya pasado por lo menos una hora después de haber ingerido alimentos o llevarla a cabo antes de que aparezca la sensación de hambre para obtener resultados mas objetivos (Pedrero y Pangborn, 1989).

2.3.6.1. ATRIBUTOS SENSORIALES

Los atributos sensoriales son, en general, todo lo que se percibe a través de los sentidos. Se puede hacer una división de los atributos de acuerdo con los sentidos por los que son percibidos (Picallo, 2002):

- ☛ La **apariencia** generalmente se detecta a través de la vista que comprende el color, el brillo, la forma y puede dar una idea de textura.
- ☛ El **gusto** se detecta en la cavidad oral, específicamente en la lengua, donde se perciben los 4 sabores básicos (dulce, salado, ácido, amargo) y el umami.

- ☛ La **textura** se detecta mediante el sentido del tacto, que está localizado prácticamente en todo el cuerpo. Mediante el tacto se pueden conocer las características mecánicas, geométricas y de composición de muchos materiales, incluidos los alimentos.
- ☛ El **aroma** se percibe por medio del olfato, que se encuentra en la cavidad nasal, donde existe una membrana provista de células nerviosas que detectan los aromas producidos por compuestos volátiles.
- ☛ El **sonido** se detecta por medio del oído, y se le conoce por la intensidad, altura y timbre.

2.4. PROCESO DE MADURACION DEL FRUTO

El fruto de guayaba es un fruto climatérico (García-Velasco 1997), lo cual indica que después de su cosecha presenta una serie de cambios en su composición que lo llevan a alcanzar su madurez de consumo los cuales están directamente asociados con las funciones del etileno. García-Velasco, (1997) demostró que el etileno es fundamental para que el proceso de maduración del fruto de guayaba se lleve a cabo aunque era poco sensible a las aplicaciones exógenas del mismo o a su remoción del medio ambiente.

De acuerdo al patrón de respiración y producción de etileno, las frutas se dividen en dos grupos (Carmona, 2001):

- ☛ Frutas climatéricas: Aquellas cuya maduración está asociada a un incremento en la respiración y producción de etileno. En algunos casos, el tratamiento con etileno puede acelerar su maduración.
- ☛ Frutas no climatéricas: No existe un incremento significativo en la producción de etileno asociado a su maduración. La velocidad de respiración no aumenta después de que estos han alcanzado su máximo crecimiento.

2.4.1. ETILENO

El etileno (C_2H_4) es una fitohormona que todas las plantas producen de forma natural (Bolarios, 2006) y en particular durante la maduración de algunos frutos (Jobling, 2002), así como en situaciones de estrés mecánico.

Durante la maduración de los frutos climatéricos, se llevan a cabo una serie de eventos fisiológicos, bioquímicos y moleculares estrechamente relacionados con el etileno los cuales involucran cambios de composición, color, sabor, aroma y textura. Estos cambios son consecuencia de la alta actividad metabólica la cual comprende tanto cambios en la tasa de respiración, incremento en el consumo de azúcares, ácidos orgánicos y ácidos grasos, así como la conversión de almidones a azúcares más simples; expresión de genes asociados a los procesos de maduración, la consecuente síntesis de ARN mensajero y finalmente de proteínas (Gutiérrez-Martínez, 2001a). Es por ello que la sensibilidad al etileno en estas frutas está relacionada con la aceleración de los procesos de maduración que exaltan sus características de calidad, pero a su vez disminuye su vida útil.

Es por ello que se ha recurrido a procedimientos de control comerciales para evitar los efectos de ésta fitohormona los cuales incluyen la reducción de la temperatura que a su vez reduce la producción de etileno, la sensibilidad del producto al mismo y retraso en la senescencia (Carmona, 2001). Adicionalmente se pueden incluir técnicas que eliminan la presencia de éste gas en la atmósfera (absorbedores de etileno, oxidación catalítica, oxidación por luz ultravioleta entre otras).

Dada su importancia en el proceso de maduración, el etileno ha sido objeto de múltiples estudios que abarcan desde la elucidación de su proceso de síntesis hasta sus mecanismos de acción en diversos tejidos (Adams y Yang, 1979).

Desde el punto de vista molecular, el etileno promueve la aparición de nuevos ARNm, cuando se aplica a frutos en madurez fisiológica, lo que coincide con la propuesta de que el etileno regula el proceso de maduración por medio de cambios en la expresión de genes. No

obstante, para frutos no climatéricos, también se ha detectado la aparición de nuevas enzimas y nuevos mensajeros (ARNm), lo que indica que existe un cambio en la expresión de genes en el proceso de maduración, pero se desconoce que factor estimula esto (Gutiérrez-Martínez, 2001a).

2.4.2. BIOSÍNTESIS DE ETILENO

Adams y Yang (1979) definieron la ruta de biosíntesis del etileno, estableciendo que el precursor de éste era la metionina a través de la formación de S-adenosil-L-metionina (AdoMet o SAM) y el ácido 1-aminociclopropano-1 carboxílico o ACC (Figura 2). El etileno se forma de los carbonos 3 y 4 de la metionina. Previamente este aminoácido se transforma a SAM por adenilización en la que se consume una molécula de ATP y se produce fósforo inorgánico; este intermediario, por acción de la ACC sintasa, forma el ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico (ACC) el cual, por la acción de la ACC oxidasa, forma el etileno (Figura 2). Esta fitohormona posee acción autocatalítica en la que el propio etileno activa la expresión del gen que codifica la enzima ACC sintasa.

En este proceso de biosíntesis existen procesos no muy claros en cuanto a su función biológica que se presentan de forma constante como es el caso de la malonización del ACC, la cual desvía cantidades importantes de este intermediario a productos intermedios aparentemente sin ninguna acción biológica, por lo que se piensa que pueden contribuir a la regulación de los niveles de ACC en el tejido y a la velocidad de formación del etileno. La metionina se regenera vía el ciclo de Yang (1985), el cual también se muestra en la Figura 2. Cabe señalar que la biosíntesis de etileno es regulada por procesos de desarrollo así como de numerosos estímulos externos (Chang y Bleecker, 2004) tales como la maduración, senescencia, auxinas y por heridas (Nakatsuka, y col., 1998).

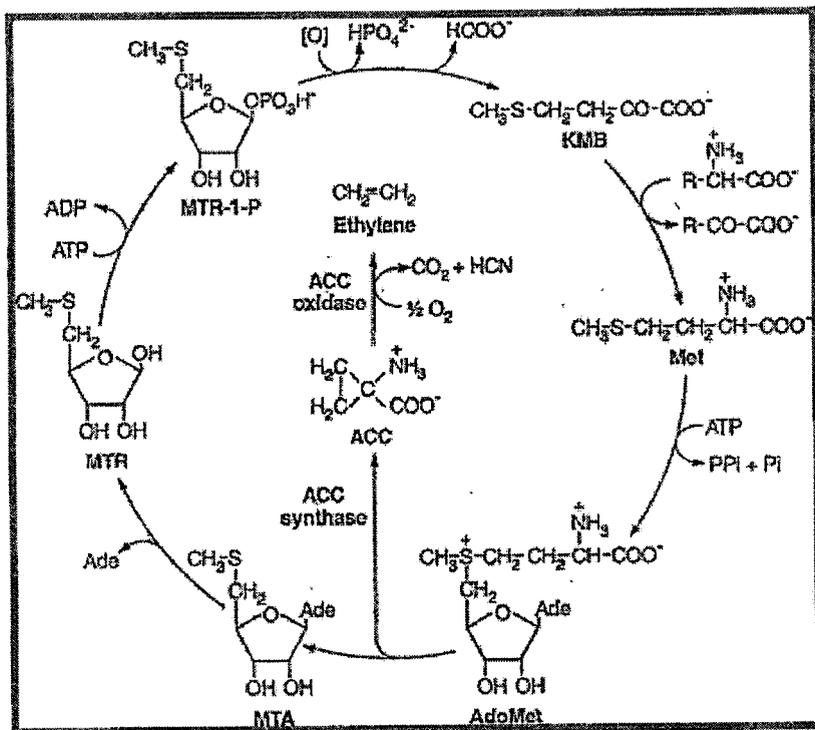


Figura 2. Esquema general de la Biosíntesis de Etileno y regeneración de la metionina (Ciclo de Yang).

Los términos 'Sistema I' y 'Sistema II' fueron introducidos por McMurchie y col., (1972) para describir los diferentes modelos de biosíntesis de etileno. El Sistema I es la producción basal de etileno, es baja y es inhibida por el etileno exógeno (autoinhibición). Opera en frutos no climatéricos y en estado preclimatérico de los frutos climatéricos, así como en tejidos vegetales. El Sistema II representa el estallido autocatalítico de la producción de etileno acompañado del proceso de maduración de frutos. En frutos climatéricos el efecto de la maduración involucra una transición del sistema I al sistema II de la biosíntesis de etileno (Katz, y col., 2004).

2.4.3. EFECTO FISIOLÓGICO

Aunque se ha asociado con procesos inhibidores del crecimiento, el etileno es realmente una hormona implicada en la adaptación de las plantas al ambiente cambiante. Muchos de sus efectos están relacionados con los efectos de otras hormonas, de tal forma que,

más que la concentración de etileno, es el balance hormonal quien regula estos procesos (Bolarios, 2006).

Son muchos los autores que describen los efectos fisiológicos del etileno (Carmona, 2001; Smart, 2004; Bleecker y Kende, 2000; Jonson y Ecker, 1998), los cuales incluyen los siguientes:

- ☛ Induce la maduración de los frutos climatéricos.
- ☛ Estimula la germinación y rompe la dormición de las semillas.
- ☛ Induce la formación de raíces y de pelos radiculares.
- ☛ Juega un papel importante en la abscisión foliar, conjuntamente con las auxinas.
- ☛ Induce genes de degradación de pared en la zona de abscisión.
- ☛ Regula la abscisión natural de órganos percederos, como pétalos de flores.
- ☛ Controla las respuestas a diversos tipos de estrés.
- ☛ Promueve la maduración de frutos y la senescencia de flores.
- ☛ Induce la degradación de la pared celular, producción de pigmentos y endulzado.
- ☛ Promueve la abscisión de hojas y frutos.
- ☛ El etileno causa la “TRIPLE RESPUESTA” de plántulas etioladas que incluye la inhibición de la elongación y engrosamiento del tallo, incremento en la curvatura del gancho apical y crecimiento horizontal.

2.4.4. INHIBIDORES DE LA ACCIÓN DEL ETILENO.

Algunos de los inhibidores de la acción del etileno descritos por varios autores (Kende, 1993; Sisler y Serek, 1997; Jonson y Ecker, 1998; García, 1997; Zoffoli, 2002; Jobling, 2002; Mathooko, 1996; Sisler y Serek, 1999; Nakatsuka y col., 1998; Mercado-Silva y col., 2003) son:

- ☛ CO_2 Compite por el sitio de unión del etileno con el receptor
- ☛ Ag^+ (Tiosulfato de plata y nitrato de plata) Interfiere la unión del etileno con su receptor. Se utiliza para la conservación de flores.

- ❁ **2,5norboradieneo cis butano.** Inhibe la acción del etileno de manera competitiva al unirse al mismo receptor.
- ❁ **1-MCP** Compite por el sitio receptor de etileno en la membrana bloqueando la cascada de señales que llevan a la maduración

2.4.5. MECANISMO DE ACCIÓN DEL ETILENO

El entendimiento del mecanismo por el cual las células de las plantas perciben y traducen la señal del etileno ha sido un problema difícil de entender. Consideraciones fisicoquímicas han incitado un número de investigaciones para postular que el etileno puede interactuar con un receptor a través de una proteína unida a un metal tal como el Cu (I) (Bleecker y Schaller, 1996). La utilidad del etileno como una molécula señal depende de la capacidad de la célula para monitorear el cambio de concentración del etileno y traducir esta información en respuestas fisiológicas apropiadas al tipo de célula. Estudios fisiológicos revelan que el etileno es efectivo para muchas respuestas biológicas a concentraciones nanomolares indicando un requerimiento de alta afinidad de los receptores. Análisis de la acumulación de ARNm en tomate indican que 30 minutos después de la aplicación del etileno se da un incremento en la abundancia del ARNm (Bleecker y Kende, 2000).

A nivel de percepción la sensibilidad de hormonas puede ser regulada tanto espacial como temporalmente durante el ciclo de vida. Un ejemplo de regulación espacial son las diferentes respuestas a hormonas que ocurren durante la abscisión de órganos. Temporalmente, la sensibilidad de un órgano a una hormona puede cambiar durante la maduración, como ocurre durante la maduración de frutos (Klee y Tieman, 2002)

La acción del etileno se da principalmente al unirse a receptores que reconocen moléculas pequeñas de doble ligadura, debe ser una metal-proteína que contiene Cu o Zn (Marassi, 2005). Se sabe que la unión del etileno por el receptor es mediada por un cofactor que es el cobre. Mutantes que no unen el cobre son incapaces de unir al etileno (Klee y Tieman, 2002). Varios estudios han proporcionado evidencias estructurales de que la señalización del etileno está regulada por una familia de receptores que contienen cobre que

mandan la señalización a través de una ruta que tal vez incluye la cascada de las MAP Kinasas (Bleecker y Kende, 2000). Los receptores son principalmente dos: El ETR formado por dos elementos uno sensor y otro de respuesta y el ERS con un solo elemento, el sensor. Actúan en la traducción y amplificación de la señal de la hormona, al unirse el etileno a sus receptores, se desencadenan las reacciones que llevan a las respuestas, que en general se observa como aumento en la síntesis de enzimas (Marassi, 2005).

Los mayores efectos provocados por el etileno son a nivel de expresión génica. Existen varias vías de transducción de la señal de etileno hasta el núcleo, algunas de ellas bastante bien descritas. Todas ellas parecen implicar la unión del etileno a receptores de membrana situados en el retículo endoplásmico. Esta unión provoca la activación de una o más vías de transducción, que llevan a la respuesta celular (Bolarrios, 2006).

Según Smart (2004), el receptor es una proteína de membrana que forma un dímero y une al etileno en la membrana, el receptor tiene también un dominio proteína quinasa, el cual se activa cuando se une al etileno, autofosforilando el receptor, cuando el receptor es fosforilado, este se activa para activar la próxima proteína en la cadena de transducción de señal (Figura 3). Este es un tipo de señalización de dos componentes. En la Figura 4 se puede observar cómo se lleva a cabo la activación del receptor de etileno.

El receptor estimula la liberación de un segundo mensajero que induce la codificación genética en el ADN, que a su vez genera información en forma de ARNm para la síntesis de proteínas en los polirribosomas. Estas proteínas serán las enzimas que provoquen una respuesta real o visible del etileno, asociada al proceso de maduración (García, 1997). El gen receptor de etileno ha sido clonado para *Arabidopsis* y tomate (primer receptor identificado en plantas). Se han descrito algunos mutantes insensibles a la aplicación de etileno como ETR en *Arabidopsis* y Nr (nunca maduro) en tomate (Klee y Tieman, 2002; Klee, 2002).

Las interacciones genéticas y bioquímicas han identificado los componentes de la ruta de transducción de señales del etileno. Basados en análisis genéticos e interacciones bioquímicas han ordenado los componentes de la ruta de transducción de señales en un ruta

lineal hipotética Se piensa que el etileno regula negativamente una familia de receptores que se encuentran en la membrana. El dominio histidina-cinasa, miembro de esta familia de receptores, interactúa con el dominio regulador de la Raf-like cinasa del CTR1. El complejo “Receptor-CTR1” regula negativamente una proteína de membrana denominada EIN2 (relacionada a una superfamilia de transportadores de metales) de la cual el dominio del lado citoplasmático C-terminal manda una señal positiva al factor de transcripción de la familia EIN3 localizado en el núcleo. Uno de los objetivos del factor de transcripción EIN3 es ser el promotor del gen ERF1, que pertenece a una segunda familia de factores de transcripción. ERF1 rápidamente induce una respuesta al etileno y es capaz de activar un subconjunto de receptores de etileno cuando es expresado ectópicamente (Figura 5), (Bleecker y Kende, 2000).

Se han encontrado unas secuencias reguladoras denominadas “Elementos de respuesta al etileno” (ERE), que inducen la respuesta al etileno, éstas se mantienen inhibidas y una vez que el etileno está unido al receptor se inactiva un regulador negativo, y con ello se activan las secuencias ERE, lo que permite la activación de una proteína tipo canal transmembranal, y la entrada del correspondiente ion activará el factor de transcripción, que dará lugar al aumento de la transcripción de las secuencias ERE, mismas que dispararán la respuesta al etileno (Bolarinos, 2006).

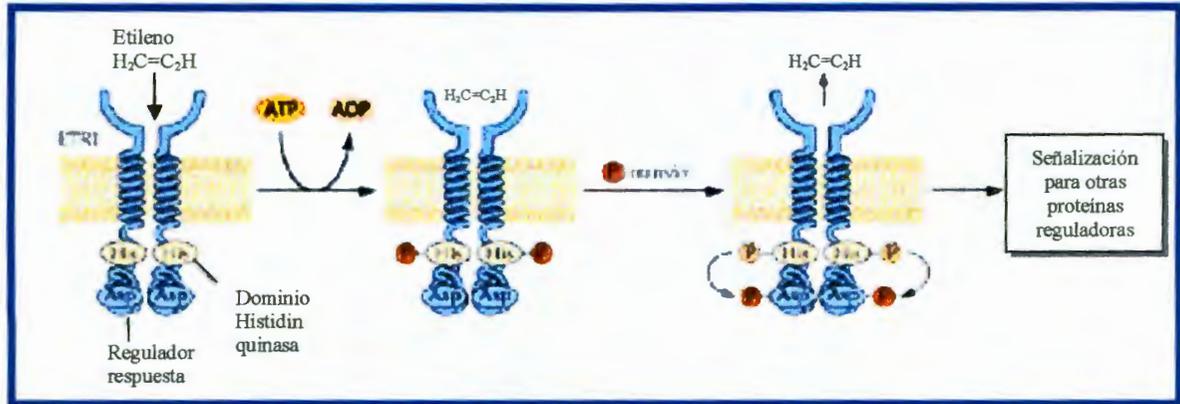


Figura 3. Receptor de etileno. Sistema híbrido encontrado en bacterias y plantas. La unión del etileno (al dominio sensor) con el receptor genera la dimerización del receptor, el cual contiene un dominio histidina quinasa, esta dimerización activa la quinasa y autofosforila un residuo conservado de histidina en el receptor, posteriormente el grupo fosfato se transfiere a un residuo conservado de aspartato donde una proteína reguladora de respuesta activa la inducción del cambio celular.

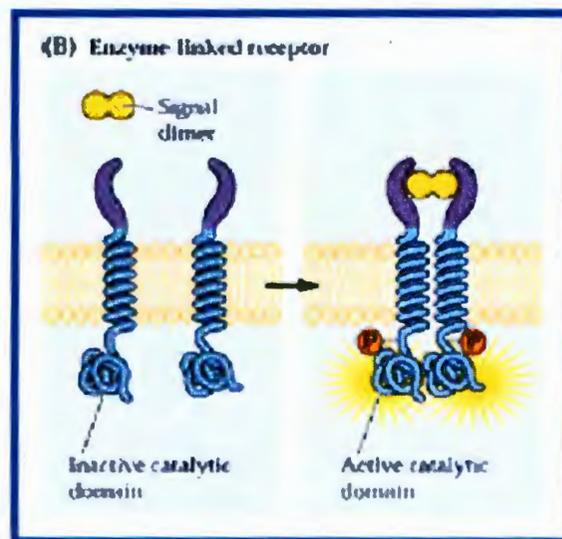


Figura 4. Activación del receptor de etileno. La unión del etileno con el receptor genera la autofosforilación de un residuo de histidina en el receptor, que lleva a cabo la activación del dominio para desencadenar las respuestas celulares.

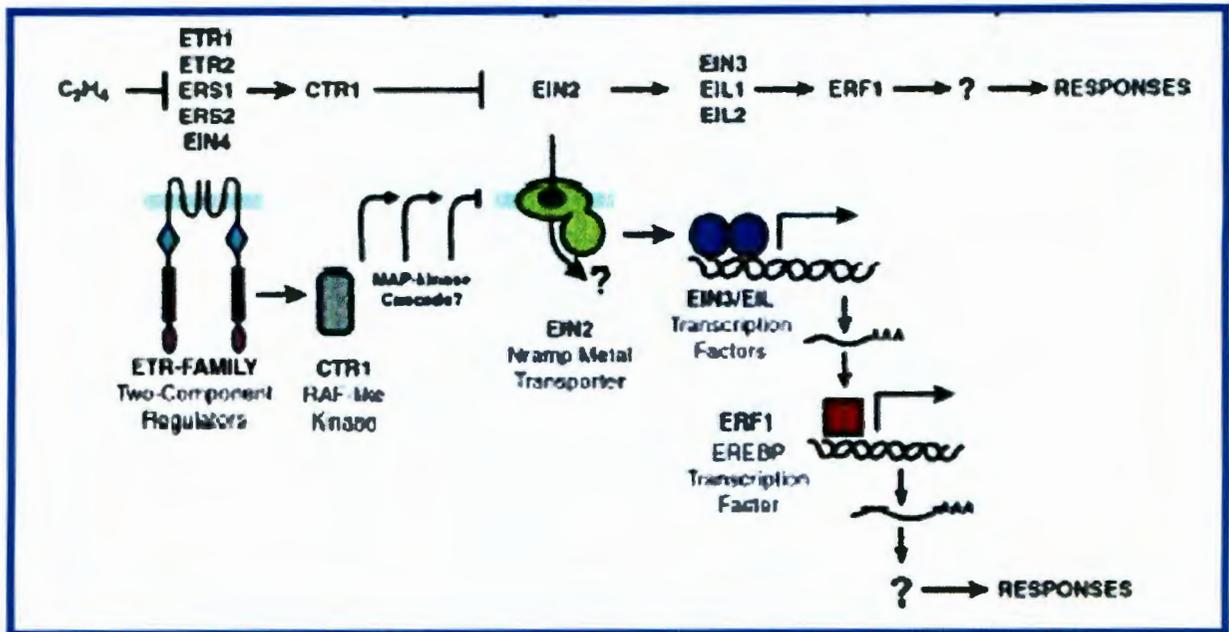


Figura 5. Ruta de transducción de señal del etileno. Se piensa que el etileno es regulado negativamente por una familia de receptores asociados a membrana. El dominio transmembranal histidina-kinasa de la familia de los receptores interactúa con el dominio regulador de la Raf-like kinasa CTR1. Este complejo “Receptor/CTR1” regula negativamente una proteína de membrana (EIN2). El C-terminal del dominio citoplasmático de EIN2 manda una señal positiva hacia abajo para la familia de factores transcritos localizada en el núcleo. Un objetivo del factor transcrito EIN3 es el promotor del gen ERF1 un miembro de una segunda familia de factores transcritos para posteriormente desencadenar las respuestas celulares.

Están descritos algunos experimentos donde usaron combinaciones del receptor de *Arabidopsis* indican que el receptor actúa como un regulador negativo de las respuestas al etileno. El receptor actúa para suprimir la expresión de genes inducibles por el etileno y un receptor incapaz de unir al etileno no puede apagar dicha expresión. Este modelo (regulación negativa) predice que menos receptores incrementan la sensibilidad al etileno mientras que más receptores reducen la sensibilidad. Sin embargo en todas las respuestas examinadas sobre la expresión del receptor solo se han observado incrementos del mismo. Es interesante conocer que no hay ejemplos de disminución de la expresión del gen receptor de etileno durante una

respuesta al etileno en tomate, indicando que la regulación de estos genes no es un mecanismo para incrementar la sensibilidad al etileno. En cambio parece que las respuestas al etileno son iniciadas a través de la regulación de la síntesis de etileno. Este sistema permite una rápida inducción de respuesta de etileno por un estallido de la síntesis del mismo seguido por una amortiguación de la respuesta por incremento del nivel de receptores (Klee y Tieman, 2002).

En la actualidad el conocimiento de la percepción y transducción de la señal del etileno es por medio de biología molecular usando mutantes de *Arabidopsis thaliana* ya que todos los esfuerzos por aislar y purificar receptores de etileno unidos a proteínas usando métodos bioquímicos han fallado (Lelievre y col., 1997). Lo que concuerda con Takahashi y col., (2002) mencionan que hay pocos conocimientos sobre el proceso de percepción del etileno hasta llegar al aislamiento del gen receptor de etileno, ya que los esfuerzos para aislar el receptor de etileno a través de aproximaciones bioquímicas han fracasado

Gutiérrez-Martínez y col. (2000), aislaron el gen que codifica para el receptor de etileno en mango, con el fin de profundizar en los mecanismos que regulan la percepción del etileno. Por análisis *Southern Blot* encontraron que existen dos o más genes ETR homólogos, que la secuencia de aminoácidos obtenida tiene una homología de 80% con genes ETR1 de manzana, melón y *Arabidopsis*. Por análisis *RNA blot* se analizó la expresión del gen en diferentes estados de madurez y ante un proceso de estrés (herida inducida), y se encontró que los niveles del ARNm aumentan paulatinamente durante el proceso de maduración y después de producirse el daño en el tejido, sugiriendo que la expresión del ARNm es inducida por estos estímulos.

Por otra parte, García-Velasco (1997) realizó tratamientos con etileno (ethrel y etileno en flujo continuo de aire) y no observó efecto significativo sobre el proceso de maduración del fruto de guayaba. De esto se puede concluir que existe una baja sensibilidad del fruto de guayaba a los tratamientos con etileno exógeno, que pueden atribuirse a una baja disponibilidad de receptores de etileno en las células del fruto. El estudio de los inhibidores de la acción del etileno permitió asegurar que la maduración del fruto de guayaba requiere etileno. Payton y col. (1996), aisló un gen receptor de etileno ETR1 homólogo que participa en

la maduración de tomate, cuya expresión se examinó en pericarpio de fruto, pétalos de flores y zonas de abscisión de tomate encontrando que un incremento en la expresión del tETR (Receptor de Etileno para tomate), esta asociado con un incremento en la sensibilidad del tejido al etileno. Por otra parte Bassett y col. (2002), clonaron y caracterizaron un gen homólogo de durazno que codifica para el receptor de etileno ppETR1 altamente similar a homólogos ETR1.

2.4.6. TRANSCRIPCION REVERSA-REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (RT-PCR)

Esta técnica permite la amplificación de una cantidad pequeña de moléculas diana (moléculas blanco) de ARN (tanto ARNm como ARN total) con gran especificidad, mediante la transcripción reversa del ARN a ADNc, que es posteriormente amplificado (Figura 6). La RT-PCR es más sensible que las otras técnicas para medir expresión génica como son *Northern blot* o *Dot Blot*, ensayos de protección de RNasa, hibridación in situ, y ensayos de nucleasa S1, y requiere menos ARN. Hay dos partes diferenciadas en cualquier RT-PCR; la transcripción reversa y la amplificación en ellas, la transcripción reversa (RT), es la etapa clave en la técnica.

Sato-Nara y col., (1999) aislaron dos ADNc de melón homólogos al gen receptor de etileno de Arabidopsis (ETR1 y ERS1), por medio de RT-PCR usando primers derivados de la secuencia de nucleótidos del gen receptor de etileno para Arabidopsis y tomate (*Lycopersicon esculentum*). Amplificaron fragmentos de ADNc de 1 Kb de longitud los cuales fueron 72% y 73% idénticos en la secuencia de nucleótidos para los genes ETR1 y el ERS1 de Arabidopsis, lo que indica que estos fragmentos amplificados son un fragmento parcial de un ETR1/ERS1 homologo.

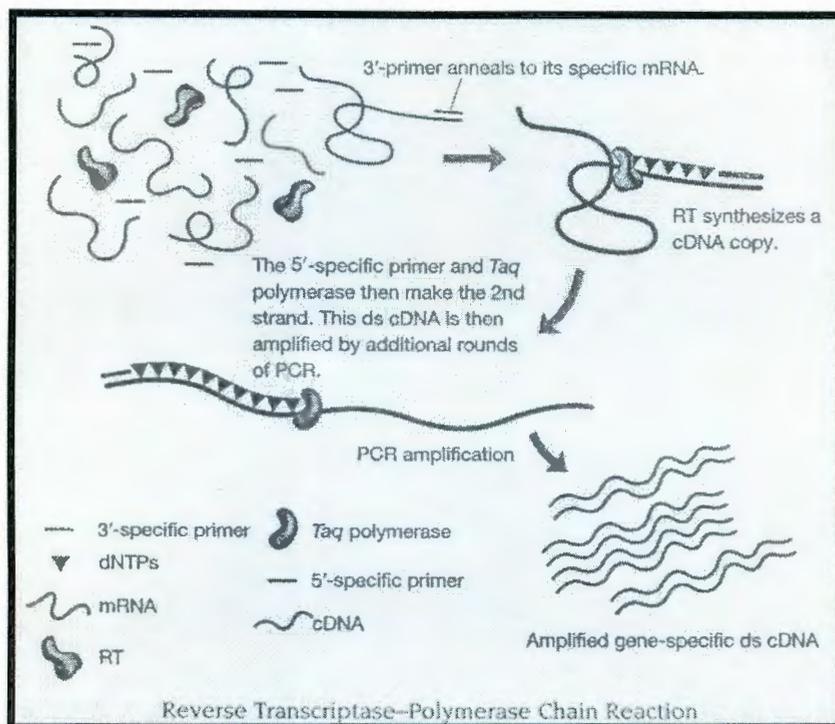


Figura 6. Representación esquemática de la técnica: Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR). Este método combina la síntesis de ADNc con la amplificación PCR. Inicialmente del ARNm se sintetiza un ADNc utilizando la enzima Transcriptasa reversa. Posteriormente del ADNc obtenido se realiza la amplificación de una secuencia específica mediante el uso de un par de iniciadores que cubren la región de dicha secuencia y utilizando la enzima Taq polimerasa se genera una copia del sitio de interés para posteriormente por varios ciclos de PCR amplificarse.

La expresión del gen receptor de etileno (Nr) en seis diferentes estados de madurez de tomate fue determinada por Nakatsuka, y col., (1998) extrayendo el ARN y aplicando RT-PCR usando primer degenerados obtenidos de la secuencia de nucleótidos del gen receptor de etileno Nr, la abundancia del ARNm en frutos en estado preclimaterico es decir frutos inmaduros y verde maduro es muy baja e incrementa repentinamente en el estado rompiente (primer aparición del color rosa) y se mantiene una fuerte señal durante la maduración, este incremento esta asociado con el incremento en la producción de etileno lo que indica que el ARNm de Nr en frutos de tomate es posiblemente regulado por el etileno.

De acuerdo con los antecedentes anteriormente expuestos, el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de los procesos de expresión de los genes que llevan a la síntesis de los recetores de guayaba durante su maduración así como el dar elementos científicos y tecnológicos para la elaboración de productos de guayaba mínimamente procesados que permitan ampliar las posibilidades de comercialización así como disminuir las presiones de sobreoferta del mismo.

III. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los cambios fisiológicos y de calidad de guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. 'Media China' mínimamente procesada almacenada a diferentes temperaturas y realizar estudios de la expresión genética de los receptores de etileno durante la maduración de frutos de guayaba.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✦ Determinar las mejores condiciones de temperatura de almacenamiento para guayabas mínimamente procesadas de la variedad 'Media China' producidas en Zitacuaro y Jungapeo, Michoacán, México.
- ✦ Evaluar la tasa de respiración y producción de etileno en diferentes estados de madurez de guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. 'Media China'.
- ✦ Evaluar la aceptabilidad de un producto mínimamente procesado de guayaba por medio de una evaluación sensorial
- ✦ Estudiar la expresión genética de los receptores de etileno en diferentes estados de madurez de guayaba cv. 'Media China'.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL BIOLÓGICO Y MANEJO DE MUESTRAS

4.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron guayabas (*Psidium guajava* L.) de la variedad ‘Media China’ producidas en los municipios de Zitacuaro y Jungapeo Michoacán, México y cosechadas durante los meses de Agosto de 2004 a Abril de 2005.

4.1.2 MANEJO DE LOS FRUTOS

Las frutas se cosecharon de manera cuidadosa para evitar daños mecánicos, se seleccionaron frutos con diámetros de 4 a 5 cm, en estado maduro firme (‘amarillo firme’), utilizando como criterio general del estado de madurez, el color externo de los frutos. Los frutos cosechados se preenfriaron en campo a 5° C durante 10 minutos a través de una mezcla de agua con hielo, posteriormente se escurrieron, se empacaron cuidadosamente en cajas de cartón protegidos con una almohadilla de algodón (“guata”) de 2.5 cm de espesor colocadas entre cada una de las capas de guayaba (Figura 7), no estibando más de tres capas de fruta en cada caja con el objeto de evitar al máximo los daños mecánicos a los frutos durante su transporte al laboratorio. En el laboratorio se almacenaron a 10 ° C durante ocho horas aproximadamente.

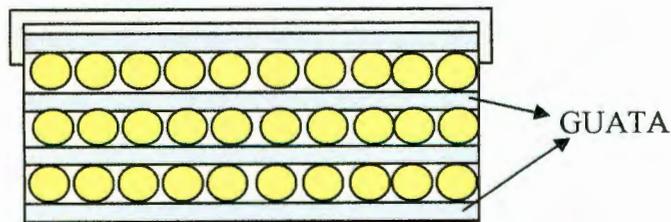


Figura 7. Empacado de guayabas en cajas de cartón. Las Guayabas fueron protegidas del daño mecánico con una almohadilla de algodón (“guata”) de 2.5 cm de espesor colocada entre cada capa de fruta, no estibando más de tres capas por caja.

Para los estudios de expresión genética de los receptores de etileno; se emplearon frutos en distintos estados de madurez (desde verde profundo hasta amarillo firme) los cuales fueron cosechados, preenfriados, manejados y almacenados en el laboratorio de manera similar a lo descrito en el párrafo anterior.

4.2 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

4.2.1 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL GENERAL

En la Figura 8 ilustra la estrategia experimental general que se aplicó en este trabajo. En ella se consignan las operaciones para cada uno de los aspectos abordados durante el desarrollo de este trabajo. La cosecha, enfriado y selección del fruto en dos lotes guayabas en estado maduro firme para experimentos sobre productos mínimamente procesados y guayabas en diferentes estados de madurez para determinar la expresión genética de los receptores de etileno.

4.2.2 ESTUDIO DE LA FISIOLÓGÍA DE GUAYABA MÍNIMAMENTE PROCESADA

La Figura 9 muestra las operaciones seguidas para el estudio de la fisiología de frutos de guayaba mínimamente procesada. Se seleccionaron 2290 frutos amarillo firmes, sanos, de 4 a 5 cm de diámetro externo, sin pecas, o daños mecánicos; se lavaron en agua con hipoclorito de sodio (200 ppm de cloro activo); y posteriormente se dividieron en dos grupos para estudiar el efecto del pelado con sosa y sin pelado. Dentro de cada grupo se estudió el efecto del partido de los frutos y eliminación de semillas en la calidad durante su almacenamiento a diferentes temperaturas.

1.- *Guayabas mínimamente procesadas con pelado químico.*- A los 1120 frutos de estos tratamientos se les eliminó el pericarpio con una solución de NaOH al 2%, durante 2 minutos a 85°C (Esquivel y Guerrero, 1998). Después de este tiempo, se lavaron con agua limpia a presión para facilitar el desprendimiento de la piel y eliminar los residuos de sosa

(prueba negativa con fenolftaleína en las aguas de lavado), se eliminaron los extremos peduncular y floral y los frutos así obtenidos se dividieron en dos subconjuntos; guayabas enteras y en mitades sin semillas, mismos que se colocaron en recipientes de plástico limpios y desinfectados de 500 mL cubiertos con manta de cielo para facilitar la respiración de las muestras. Las muestras se almacenaron a 0, 4, 10 y 15° C durante dos semanas.

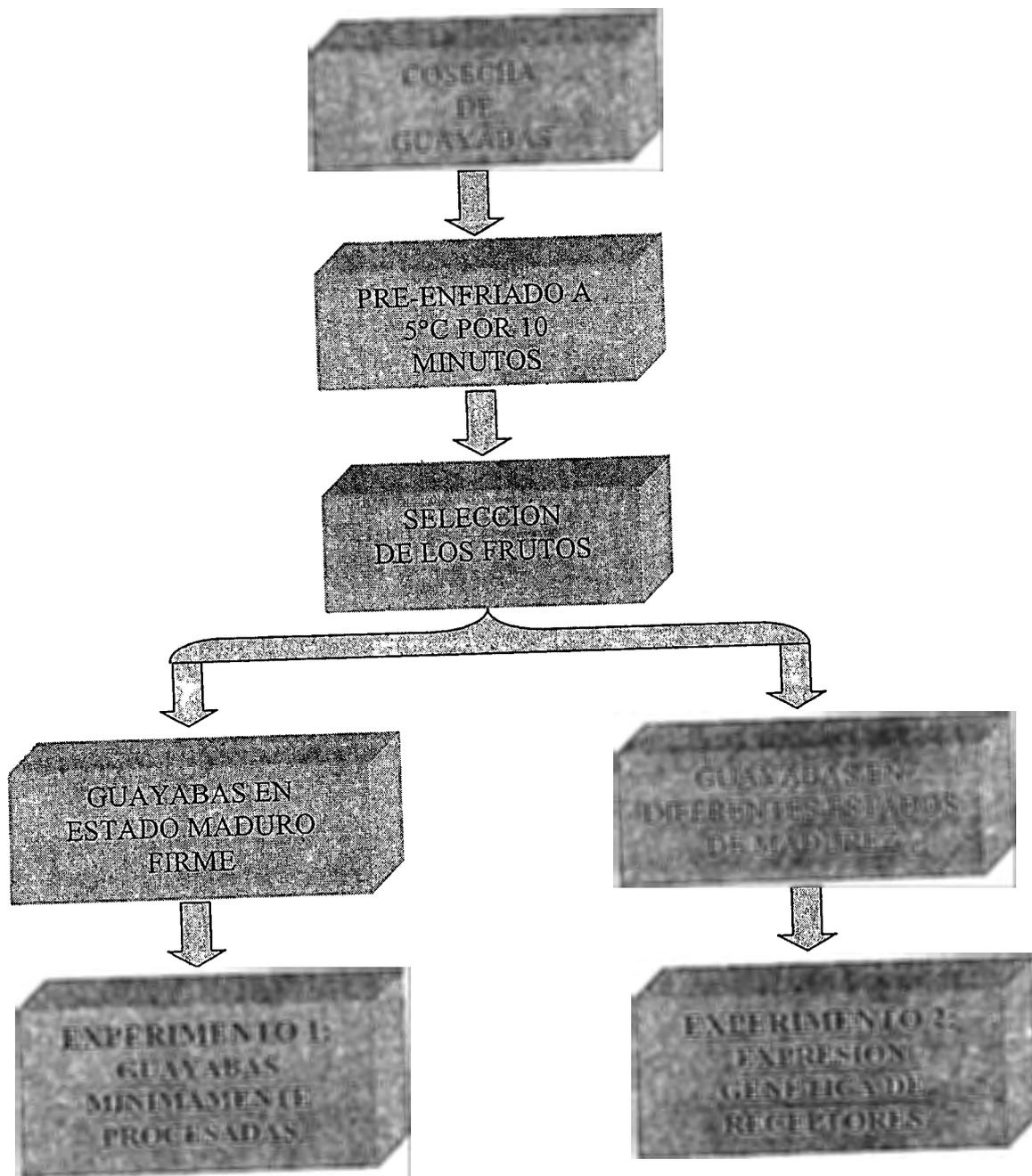


Figura 8. Estrategia experimental general.

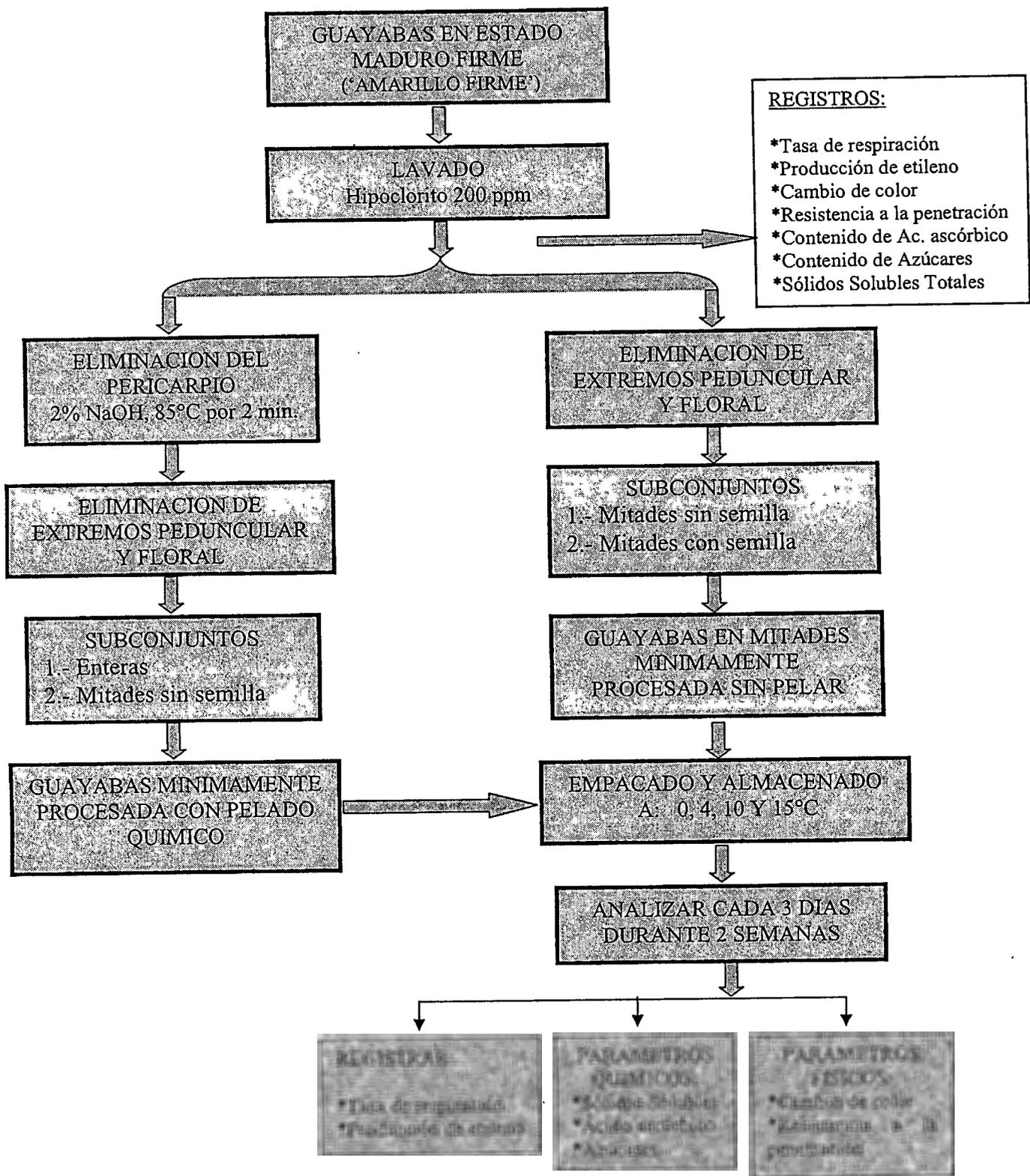


Figura 9. Estrategia experimental desarrollada para el estudio de la fisiología de guayaba mínimamente procesada.

2.- *Guayabas en mitades mínimamente procesadas sin pelar.*- A un grupo de 540 guayabas se les eliminó los extremos peduncular y florar, se partieron a la mitad y de estos se subdividieron en dos subconjuntos; mitades sin semilla y mitades con semilla, las cuales se colocaron en recipientes limpios y desinfectados de 500 mL cubiertos con manta de cielo y se almacenaron a 0, 4 y 10° C durante dos semanas.

Para cada uno de los grupos anteriores se incluyó un control que consistió en guayabas sin ningún tratamiento. Un frasco con 5 frutas se consideró como la unidad experimental. El experimento fue realizado por triplicado. Cada tres días y durante dos semanas se midieron los siguientes parámetros: tasa de respiración, producción de etileno, cambio de color, textura a través de la resistencia a la penetración, contenido de ácido ascórbico, contenido de sólidos solubles y contenido de azúcares totales. Para el primer grupo (guayabas mínimamente procesadas con pelado químico), se realizó una evaluación sensorial para determinar la aceptabilidad del producto.

4.2.3 ESTUDIO DE LA FISIOLOGÍA DE LA MADURACIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE ETILENO EN GUAYABA

Teniendo en cuenta el cambio de color que muestran los frutos de guayaba durante su maduración, se seleccionaron 10 diferentes estados de madurez (3 frutos de cada estado de madurez) a cada fruta se le midió, el color (escala L*, a* y b*), su tasa de respiración y producción de etileno a través de los procedimientos que se señalan en la sección 4.3. Después de estas determinaciones, los frutos se partieron en mitades, se les eliminó las semillas y posteriormente se les congeló en nitrógeno líquido y se almacenaron a -72° C, hasta su análisis de expresión de receptores de etileno

Los estudios de la expresión de receptores de etileno se llevaron a cabo en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) unidad Irapuato en el laboratorio 15: Salud Humana y Plantas Tropicales. La Figura 10 describe la estrategia experimental seguida para llevar a cabo el estudio; el ARNm se aisló a partir de las muestras de pulpa congelada en nitrógeno líquido previamente obtenido de los frutos con distintos estados de

madurez utilizados en los estudios fisiológicos. En ellos se aplicó la técnica Trascrición Reversa- Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR) para identificar y cuantificar la expresión de genes que codifican para los receptores de etileno. Los detalles de cada una de las técnicas empleadas se describen en la sección 4.3.8 y 4.3.9.

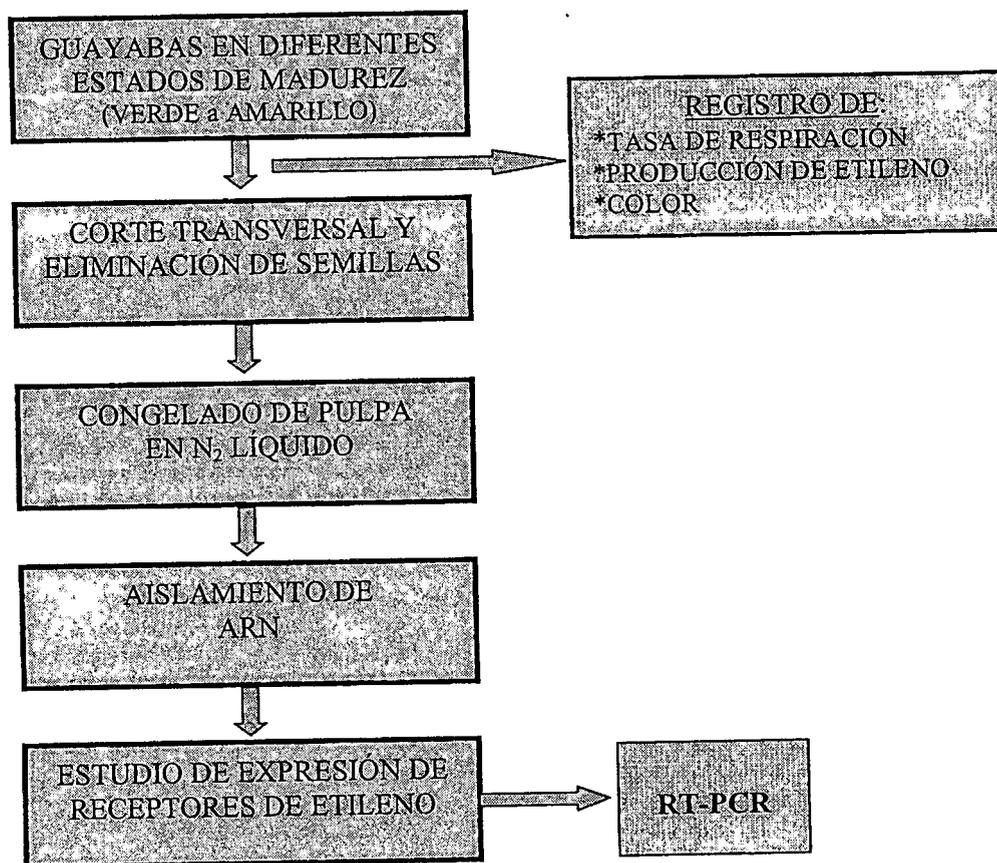


Figura 10. Estrategia experimental para el estudio de fisiología de la maduración y expresión de receptores de etileno.

4.3. MÉTODOS

4.3.1. TASA DE RESPIRACIÓN Y PRODUCCIÓN DE ETILENO

La tasa de respiración y la producción de etileno se midieron en 345 frutos utilizando el método estático. Cada fruto se pesó previamente, se colocó individualmente, durante una hora, en un recipiente cerrado de volumen conocido provisto de una manguera de hule látex para facilitar el muestreo del aire; se calculó el volumen del espacio de cabeza mediante la diferencia entre el volumen de cada recipiente y el peso de cada fruto. Después de una hora, de cada recipiente, se tomaron muestras de 1 mL del espacio de cabeza para su análisis de composición y cuantificación de bióxido de carbono (CO₂) y etileno en la muestra de aire. La Figura 11 muestra el esquema del método estático (Kays, 1991).

La tasa de respiración se midió como la velocidad de producción de CO₂ y se expresó como mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹. El CO₂ producido por la fruta se cuantificó por medio de cromatografía de gases utilizando un cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer Autosystem equipado con un loop de 20 µL, dos columnas conectadas en serie; una de ellas Poraplot y la otra Monsieve 5a, un detector de conductividad térmica (TCD). La cuantificación de etileno se realizó en forma simultánea a la cuantificación de CO₂, utilizando el mismo sistema de separación pero los gases de salida del TCD fueron enviados a un detector de ionización de flama (FID), y los resultados se expresaron como µL etileno Kg⁻¹ h⁻¹. La cuantificación se realizó utilizando estándares externos certificados de 5.0% de CO₂ y 10.4 ppm de etileno en aire. Las condiciones analíticas del cromatógrafo fueron las siguientes:

Temperatura del horno:	80 °C
Detector TCD a:	180 °C
Gas acarreador:	Helio a 5.2 ml min ⁻¹
Columna Poraplot de:	0.5 mm para los gases de respiración
Columna Molsieve 5 ^a :	Conectada en serie con la columna Poraplot.
Detector (FID) a:	220 °C

Temperatura del puerto de inyección: 80 °C

El sistema de separación se encontraba conectado de tal forma que los gases de la muestra pasaron primero por el detector TCD y después por el FID. Los tiempos de residencia de la muestra en cada una de las columnas fueron controlados a través de una válvula de desvío de flujos que permitió operar el sistema en tiempos definidos en un sentido de flujo y en otros en contracorriente con lo cual se logró una adecuada separación de todos los gases.

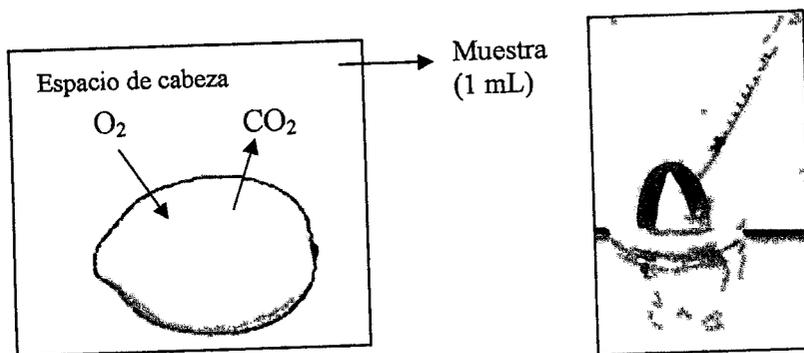


Figura 11. Esquema del método estático para medir la tasa de respiración y producción de etileno. El fruto se coloca en un recipiente cerrado de volumen conocido durante una hora. Al finalizar el tiempo se toma la muestra de aire del espacio de cabeza para su análisis por cromatografía de gases. Los resultados se calculan por medio del cambio de concentración (disminución de oxígeno o incremento de dióxido de carbono) como una función de tiempo.

Los cálculos fueron como sigue para el CO₂ (Kays, 1991):

$$\frac{\text{mL CO}_2}{\text{Kg h}} = \frac{\% \Delta \text{CO}_2 \cdot 10 \cdot V}{P \cdot T}$$

$$\% \Delta \text{CO}_2 = \frac{(A_{\text{muestra}} - A_{\text{aire}}) \cdot \% S}{A_{\text{es tan dar}}}$$

Y para el etileno:

$$\frac{\mu\text{L Etileno}}{\text{Kg} \cdot \text{h}} = \frac{[E] \cdot V}{P \cdot T}$$

$$[E] = \frac{A_{\text{muestra}} \cdot 10.4 \text{ppm}}{A_{\text{es tan dar}}}$$

Donde:

$\% \Delta \text{CO}_2$	Cambio en la concentración del CO_2 dentro del contenedor con el tiempo
E	Concentración de Etileno ($\mu\text{L L}^{-1}$)
V	Volumen del espacio libre del contenedor en Litros
P	Peso del fruto en Kilogramos
T	Tiempo en el cual el fruto estuvo encerrado en el contenedor en horas
$\%S$	Porcentaje del estándar del CO_2
A_{muestra}	Área del pico del CO_2 ó Etileno según la muestra reportado por el cromatógrafo ($\text{uV} \cdot \text{s}$)
A_{aire}	Área del pico del CO_2 reportado por el cromatógrafo para el aire ($\text{uV} \cdot \text{s}$)
A_{estandar}	Área del pico del CO_2 ó Etileno según el estándar reportado por el cromatógrafo ($\text{uV} \cdot \text{s}$)

4.3.2. CAMBIO DE COLOR

En cada experimento descrito anteriormente, el color se midió en cada uno de los frutos utilizados, sobre la epidermis a la altura del eje ecuatorial del fruto, en tres zonas diferentes y por triplicado para cada tratamiento, con un colorímetro Minolta CM-2002, utilizándose el software Spectra magic versión v. 1.01, Copyring© 1996-97 CyberChrome, inc. Minolta Co., Ltd, el cual fue primeramente calibrado y empleándose el sistema internacional de medición de color CIELAB, utilizando un iluminante C y un observador a 10 grados, registrándose los valores L^* , a^* , b^* y el índice de matiz Hue (H°). Para los experimentos de guayaba mínimamente procesada también se determinó la diferencia de color (ΔE^*) respecto a la muestra inicial a partir de la siguiente ecuación, Rivas (2002).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

$$\Delta L^* = L^* - L^*_i$$

$$\Delta a^* = a^* - a^*_i$$

$$\Delta b^* = b^* - b^*_i$$

Donde L^* , a^* y b^* , son los parámetros de color al inicio del experimento y L^*_t , a^*_t y b^*_t corresponden a los parámetros al final del experimento.

Las lecturas del colorímetro están dadas en función de 3 curvas espectrométricas X, Y y Z, donde X es esencialmente el color rojo, Y el verde y Z el azul., a lo cual se le llama “triestimulus” (tres dimensiones), los cuales se usan para determinar “valores de color” y los valores estándares de estos están dados por el Internacional Committee on Illumination (ICI) o Comité Internacional de Iluminación

La Figura 12. es un diagrama del sistema de coordenadas tridimensionales para colores. Los valores Hunter para L (luminosidad) son directamente comparables a los de Y del sistema ICI. Los valores Hunter de “a” mide la intensidad de rojo (cuando es positivo), gris (cuando es cero) e intensidad de verde (cuando es negativo). El valor Hunter para “b” mide la intensidad de amarillo (cuando es positivo), gris (cuando es cero) e intensidad de azul (cuando es negativo).

4.3.3. RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN

La textura medida como la resistencia a la penetración se midió usando un analizador de textura TA-HD Stable micro Systems previamente calibrado operado con un software Texture Analyser- XT-RA Dimension versión 3.7 A (Stable Micro Systems) y equipado con una sonda de acero inoxidable de 4 mm de diámetro, la cual penetró 3.5 mm de profundidad a una velocidad de 1 mm/s. De todos los frutos se tomaron muestras de 1 cm² de la zona ecuatorial del mesocarpio de la fruta (enteras, mitades con semilla y mitades sin semilla), por lo que el espesor de la muestra fue igual al grosor del mesocarpio. Las muestras así preparadas fueron colocadas sobre una placa metálica plana desde donde fue sometida al ensayo. El software del equipo registró una curva de fuerza contra distancia donde se registraron los datos de fuerza máxima para romper el tejido y la distancia recorrida antes de romper el tejido (Benito-Bautista, 2002).

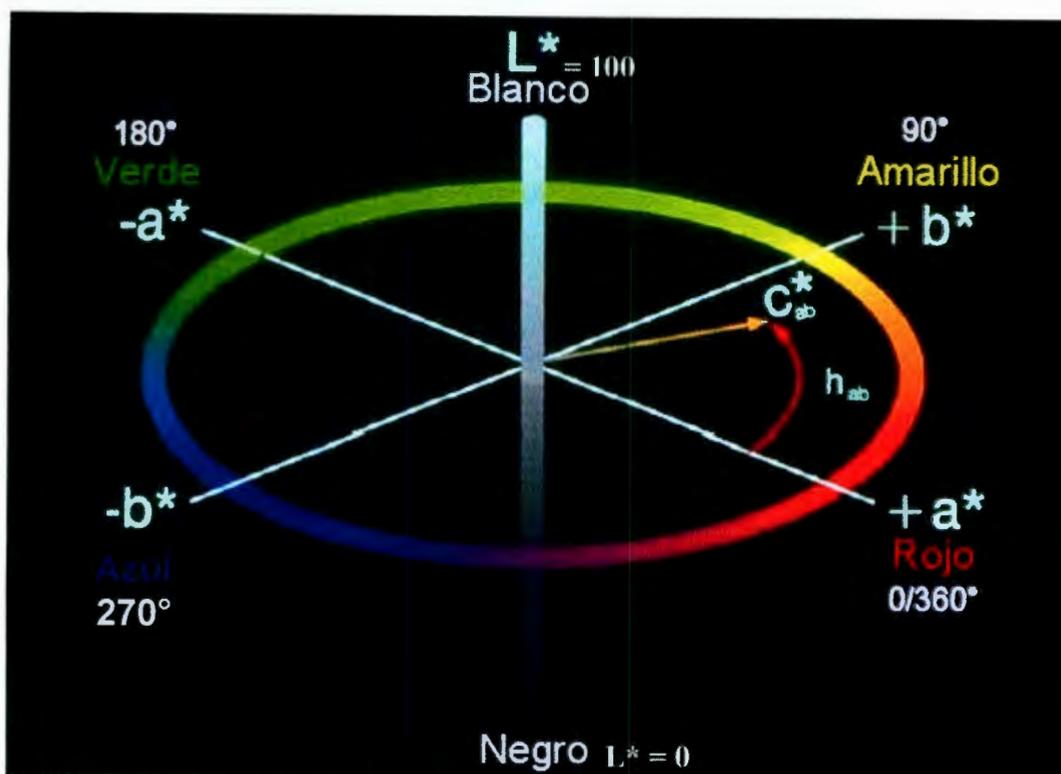


Figura 12. Sistema de Coordenadas tridimensionales para colores

5.3.4. CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

La cuantificación de este componente se realizó usando el método de titulación con el 2,6 diclorofenolindofenol descrito por Ranganna (1977) el cual se basa en la reducción del 2,6 diclorofenolindofenol por el ácido ascórbico siendo la reacción cuantitativa y prácticamente específica para el ácido ascórbico en un intervalo de pH de 1 a 3.5. Para ello se pesó 1 ± 0.1 g de muestra (mesocarpio), se mezcló con 9 mL de ácido metafosfórico al 3%, se homogeneizó durante 30s a 9500 rpm, el homogeneizado se filtró. Una alícuota de 5mL de este filtrado se tituló con la solución de 2,6 diclorofenolindofenol previamente estandarizado con una solución estándar de ácido ascórbico. La determinación del contenido de ácido ascórbico expresada en (mg de ácido ascórbico/100g de muestra) se calculó con la siguiente ecuación (Rivas, 2002):

$$\frac{\text{mg \u00e1c. ascorbico}}{100\text{g muestra}} = \frac{V \cdot F \cdot V_a \cdot 100}{A \cdot P}$$

Donde:

- V Volumen de titulaci\u00f3n en mL
- F Factor del tinte
- Va Volumen de aforo en mL
- A Al\u00edcuota del extracto en mL
- P Peso o volumen de muestra en g

PREPARACION DE REACTIVOS

- A) \u00c1cido metafosf\u00f3rico 3%: Se pesaron 3 g de \u00e1cido metafosf\u00f3rico (HPO_3), se disolvieron y aforaron a 100 mL con agua destilada.
- B) Soluci\u00f3n est\u00e1ndar de \u00e1cido asc\u00f3rbico: En balanza anal\u00edtica se pes\u00f3 exactamente 100 mg de \u00e1cido L-asc\u00f3rbico y se transfirieron de forma cuantitativa a un matraz volum\u00e9trico de 100 mL, se afor\u00f3 con la soluci\u00f3n de \u00e1cido metafosf\u00f3rico al 3% para obtener una soluci\u00f3n de 1mg de \u00e1cido asc\u00f3rbico / mL.
10 mL de la soluci\u00f3n est\u00e1ndar anterior se aforo a 100 mL con soluci\u00f3n de \u00e1cido metafosf\u00f3rico al 3% para tener una soluci\u00f3n 0.1 mg de \u00e1cido asc\u00f3rbico / mL, con la cual se estandarizo el 2,6 diclorofenolindofenol.
- C) Soluci\u00f3n colorante del 2,6 diclorofenolindofenol: 50 mg de sal de sodio del 2,6 diclorofenolindofenol se disolvieron en 50 mL de agua destilada, se adicion\u00f3 42 mg de bicarbonato de sodio (Na HCO_3), se agit\u00f3 vigorosamente, se aforo a 200 mL con agua destilada, se filtr\u00f3 y se almacen\u00f3 en refrigeraci\u00f3n en envase \u00e1mbar. La soluci\u00f3n se estandariz\u00f3 en cada ocasi\u00f3n que se utiliz\u00f3.
- D) Estandarizaci\u00f3n del colorante: A 5mL de la soluci\u00f3n est\u00e1ndar de 0.1 mg de \u00e1cido asc\u00f3rbico/mL, se le adicion\u00f3 5 mL de \u00e1cido metafosf\u00f3rico al 3 %, y se titul\u00f3 con la

solución colorante a estandarizar hasta que alcanzó una tonalidad rosa durante 15 s. El factor del tinte (mg de ácido ascórbico por mL de solución colorante), se determinó mediante la siguiente expresión:

$$\text{Factor de tinte} = \frac{0.5}{\text{Volumen de Titulación}}$$

4.3.5. CONTENIDO DE AZÚCARES TOTALES

Para la cuantificación de azúcares totales, se utilizó el método espectrofotométrico descrito por Dubois (1956) modificado por Buysse-Mercky (1993). Los carbohidratos son deshidratados en presencia de ácido sulfúrico concentrado para dar derivados del furfural, los cuales se condensan con el fenol obteniéndose complejos amarillo-naranja que se pueden leer a una longitud de onda de 490 nm. La reacción es sensible y el color es estable por varias horas.

Para la extracción se pesó un gramo de tejido fresco se le adicionó 5.5 mL de etanol al 95%. Se homogenizó y se almacenó a -20°C durante 12 horas, posteriormente se filtró al vacío con papel whatman # 1. Una alícuota de 250 µL del extracto se aforó a 25 mL con agua destilada, a partir de este extracto se hizo una dilución 1:4 en agua destilada. A 0.5 mL de esta dilución se le adicionó 0.5 mL de fenol al 5% y 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado el cual se adicionó lo más rápidamente posible, se homogenizó 30s en vortex, se dejó reaccionar durante 10 a 20 minutos a temperatura ambiente, y 10 minutos más en baño de agua a 25-30°C. Posteriormente se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 490 nm. La cuantificación se llevó a cabo a través de una curva de calibración.

Curva de calibración: Se preparó una solución estándar de glucosa a una concentración de 0.1 mg/mL con agua destilada, y se le adicionó 0.02% de azida de sodio. A partir de esta solución se prepararon diluciones en tubos que contenían 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 y 500 µL de la solución estándar y se llevaron a un volumen de 500 µL con agua destilada, se les adicionó fenol y ácido sulfúrico concentrado y se procesaron de la misma

manera que para las muestras como se indica en el párrafo anterior. Con los resultados obtenidos, se obtuvo la curva de calibración con la cual se calculó la concentración de azúcar en las muestras.

4.3.6. CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Se utilizó el método 938.17, de la AOAC, (1990) que consiste en moler 10 g de pulpa, filtrarlos, y dos gotas del filtrado se leyeron en un refractómetro Abbé, a 20° C, previamente calibrado con agua destilada.

4.3.7. EVALUACION SENSORIAL

Los productos obtenidos se evaluaron sensorialmente siguiendo el método descrito por Pedrero y Pangborn (1989), clasificándose esta evaluación dentro de los métodos afectivos (nivel de consumidor), por medio de una escala hedónica no estructurada (nivel de agrado), con gusto y disgusto en los extremos o lo que aplicará según el atributo a evaluar, la escala contenía además un indicador de punto medio, a fin de facilitar al juez consumidor la localización de un punto de indiferencia de la muestra, dicha escala reflejó las respuestas relacionadas con la calidad de un atributo dentro de un conjunto de condiciones determinadas. Esta prueba se realizó con 10 jueces no entrenados. Las muestras fueron únicas (apropiado para determinar la aceptación de un producto alimenticio nuevo o no usual, donde no hay productos similares para comparar). Para el análisis de los datos, la escala hedónica se convirtió en numérica transformando las respuestas a centímetros de distancia, y con ellos se aplicó un análisis estadístico de comparación de medias que determinó la diferencia entre las muestras degustadas. Los atributos que se midieron fueron color, aroma, sabor, textura (apariencia, granulosis) y aceptabilidad, así como una comparación entre dos diferentes tipos de guayabas (enteras y en mitades de guayaba sin semillas). Cabe mencionar que la evaluación sensorial solo se realizó para las muestras de guayaba mínimamente procesadas sin pericarpio. En la Figura 13 y 14 se muestran los formatos de las hojas de respuesta para la evaluación sensorial tanto para muestras únicas como para la comparación entre los diferentes tipos, respectivamente.

ANALISIS SENSORIAL DE GUAYABAS

PRODUCTO: Guayabas Mínimamente Procesadas

NOMBRE: _____ FECHA: _____

NUMERO DE PRUEBA: _____ NUMERO DE MUESTRA: _____

INSTRUCCIONES: Pruebe y observe el producto que se presenta ante usted y señale con una línea vertical su grado de aceptabilidad dependiendo del atributo indicado.

COLOR	Extremadamente Desagradable	Ni me agrada, ni me desagrada	Extremadamente Agradable
	0	5	10
AROMA	Extremadamente Desagradable	Ni me agrada, ni me desagrada	Extremadamente Agradable
	0	5	10
SABOR	Extremadamente Desagradable	Ni me agrada, ni me desagrada	Extremadamente Agradable
	0	5	10
TEXTURA	Extremadamente blando		Extremadamente duro
	0		10
Apariencia	Extremadamente malo		Extremadamente bueno
	0		10
Granulosidad	Extremadamente poca		Extremadamente mucha
	0		10
ACEPTABILIDAD (De manera general le producto presentado ante usted es)			
	NO Aceptable	Indiferente	Aceptable
	0	5	10

NOTAS: _____

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Figura 13. Formato para la evaluación sensorial de diferentes atributos en muestras únicas de guayaba.

ANALISIS SENSORIAL DE GUAYABAS

PRODUCTO: Guayabas mínimamente procesadas

NOMBRE: _____ FECHA: _____

NUMERO DE PRUEBA: _____ NUMERO DE MUESTRA: _____

INSTRUCCIONES: Observe y compare los productos que se presentan ante usted y señale con una cruz (X) cual le agrada más:

MUESTRA	Me agrada mas:
Guayaba con semillas	
Guayaba sin semillas	

De la muestra que eligió señale con una cruz (X) su grado de aceptabilidad

MUESTRA:	Guayaba con semillas (entera)	Guayaba sin semillas (partida)
ACEPTABILIDAD		
Extremadamente desagradable		
Muy desagradable		
Bastante desagradable		
Desagradable		
Ni desagradable, ni agradable		
Agradable		
Bastante Agradable		
Muy agradable		
Extremadamente Agradable		

NOTAS: _____

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Figura 14. Formato para la evaluación sensorial para comparar diferentes tipos de muestras de guayaba.

4.3.8. MÉTODO PARA AISLAR ARN TOTAL DEL TEJIDO DE GUAYABA

Para analizar la expresión de los receptores de etileno durante la maduración de guayaba, se requirió aislar el ARN total, mismo que se obtuvo de las pulpas libre de semillas y cáscara de los frutos en diferentes estadios de madurez que se utilizaron en los análisis fisiológicos y que se encontraban almacenadas a -72°C .

Las muestras congeladas se transportaron al CINVESTAV unidad Irapuato, en hieleras con hielo seco y a su llegada se almacenaron a -72°C , para posteriormente proceder a la extracción de ARNm, para ello se siguió la técnica descrita por Chang y col. (1993). El tejido (mesocarpio del fruto) congelado se pulverizó en presencia de nitrógeno líquido. Se pesaron de 2 a 3 g de este tejido y se mezclaron por inversión con 15 mL de buffer de extracción (CTAB al 2%; PVP 30 al 2%, TRIS 1M pH=8.0; espermidina; EDTA 0.5 M pH=8.0; Na Cl 5M. Ver apéndice Preparación de reactivos), y se calentó a 65°C en baño maría por 5 minutos.

Posteriormente en campana de flujo laminar se adicionaron 300 μL de β -mercapto-etanol y se calentó en baño maría a 65°C por 5 minutos, esta mezcla fue extraída primero con 15 mL de cloroformo:alcohol isoamílico 24:1, se mezcló en vortex y se centrifugó a 10,000 X g a 4°C por 10 minutos, se realizó una segunda extracción a la fase acuosa de la misma manera que la primera. El ARN fue precipitado de la fase acuosa con cloruro de litio 10M (1/3 del volumen de la fase acuosa obtenida) y almacenándolo a 4°C toda la noche.

Al día siguiente se centrifugó el precipitado a 11,000 X g a 4°C por 35 minutos. La pastilla se resuspendió con 500 μL de buffer SSTE (Na Cl 5M; SDS al 20%; Tris pH=8.0; EDTA 5M y Agua DEPC. Ver apéndice Preparación de reactivos) calentado previamente a 65°C , se transfirió a un tubo eppendorf estéril. Se extrajo con 500 μL de cloroformo:alcohol isoamílico 24:1, se homogenizó y se centrifugó en microcentrifuga a 12,000 X g a 4°C por 10 minutos. La fase acuosa se volvió a extraer. El ARN fue recuperado de la fase acuosa y se lavó con etanol absoluto (2 a 3 veces del volumen de la fase acuosa obtenida) a -70°C por 30

minutos y centrifugando en microcentrífuga a 12,000 X g a 4° C por 30 min. Se decantó y la pastilla (ARN total) se dejó secar a temperatura ambiente para eliminar los restos de alcohol. Una vez seca la pastilla se resuspendió con 20 µL de agua DPEC estéril (agua inyectable o de ampollita).

Posteriormente se analizó la integridad de la molécula en gel de agarosa 1% el cual contenía bromuro de etidio (1µL por 100 mL de gel). El gel se visualizó en un UV transiluminator kodak EDAS 290 y se tomó fotografía del gel. La concentración del ARN fue estimada por densidad óptica (D. O.) a 260 nm con un espectrofotómetro usando la siguiente expresión:

$$[\text{ARN}] = \frac{(\text{D.O. } 260\text{nm}) \cdot (40) \cdot (F)}{1000}$$

Donde:

[ANR]	Concentración de ARN en µg µL ⁻¹
D.O.	Densidad óptica medida a 260 nm
F	Factor de dilución

Una vez medida la concentración de ARN, este se llevó a una concentración final de 150 ng µL⁻¹ con agua DPEC estéril (agua inyectable o de ampollita) y se almacenó a -70°C para su posterior utilización en la RT-PCR.

4.3.9. TRANSCRIPCIÓN REVERSA-REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RT-PCR)

Esta técnica permite la amplificación de una cantidad pequeña de moléculas diana (moléculas blanco) de ARN (tanto ARNm como ARN total) con gran especificidad, mediante la transcripción reversa del ARN a ADNc, que es posteriormente amplificado (Figura 15). La RT-PCR es más sensible que las otras técnicas para medir expresión génica como son *Northern blot* o *Dot Blot*, ensayos de protección de RNasa, hibridación in situ, y ensayos de nucleasa S1, y requiere menos ARN. Hay dos partes diferenciadas en cualquier RT-PCR; la

transcripción reversa (RT) y la amplificación (PCR), de ellas la primera es la etapa clave de la técnica.

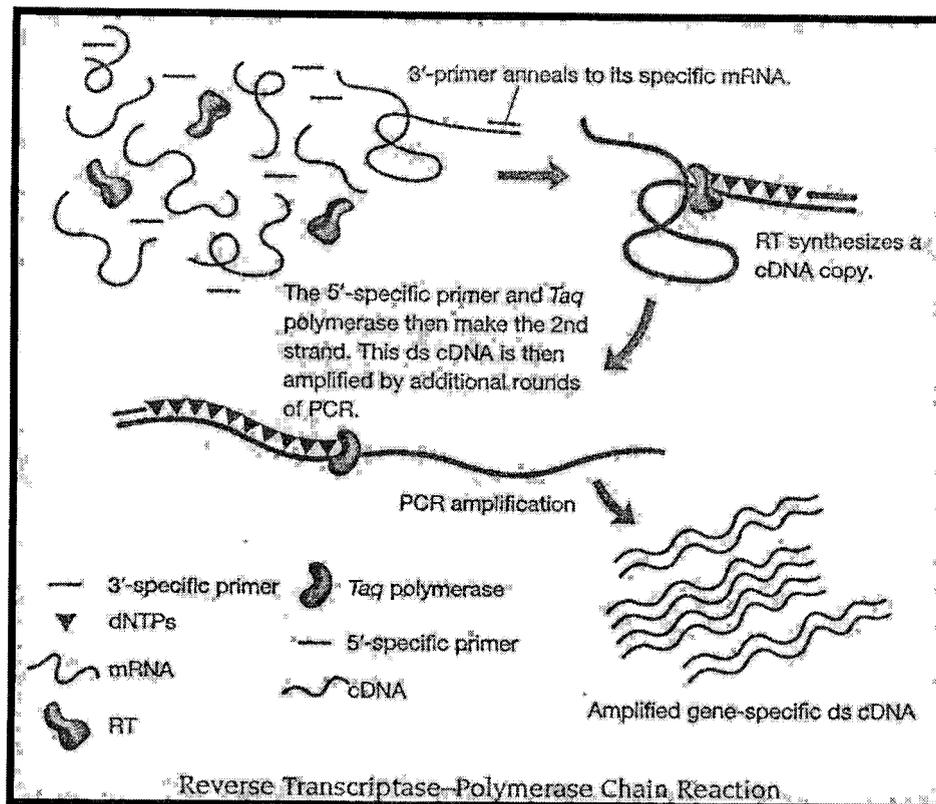


Figura 15. Representación esquemática de la técnica: Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR). Este método combina la síntesis de ADNc con la amplificación PCR. Inicialmente del ARNm se sintetiza un ADNc utilizando la enzima Transcriptasa reversa. Posteriormente del ADNc obtenido se realiza la amplificación de una secuencia específica mediante el uso de un par de iniciadores que cubren la región de dicha secuencia y utilizando la enzima Taq polimerasa se genera una copia del sitio de interés para posteriormente por varios ciclos de PCR amplificarse.

4.3.9.1. TRANSCRIPCIÓN REVERSA (RT)

Se siguió la técnica descrita por Sato-Nara y col., (1999). En tubos eppendorf pequeños estériles se hizo la mezcla de la reacción, (volumen total de 20 μ L) se adicionaron 7.5 μ L de Agua destilada; 4 μ L de Buffer 5X 1 cadena; 2 μ L de DTT 0.1 M; 2 μ L de dNTP's (250 μ M);

2 μL de TIIXN ($2\mu\text{M}$) y 2.0 μL de ARN ($150\text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$); 0.5 μL de 'Transcriptasa Reverse' esta se agrega en el tercer ciclo una vez dentro del termociclador. Los tubos con la mezcla se colocaron en el termociclador (Tgradient, Biometra), y la transcripción reversa consistió en un ciclo de 5 minutos a 65°C ; un ciclo de 10 minutos a 37°C ; un ciclo de 5 minutos a 20°C (durante este ciclo se agregó la 'Transcriptasa Reverse' a cada muestra); un ciclo de 50 minutos a 37°C ; un ciclo de 5 minutos a 95°C y se bajo la temperatura a 4°C . De aquí se obtuvo el ADNc de las muestras que se utilizó en la amplificación.

4.3.9.2. SELECCIÓN DE LOS OLIGONUCLEÓTIDOS

Para poder realizar la amplificación de los ARNm de los receptores se requiere seleccionar los oligos de receptores los cuales se dedujeron de la secuencia de nucleótidos del gen receptor de etileno de *Arabidopsis* y tomate (*Lycopersicon esculentum*) según lo reportado por Sato-Nara y col., (1999). Las secuencias de los oligos degenerados fueron las siguientes:

*Oligo 1: 5' CCGGAATTCGCAGTTTGGWGCYTTTAT 3'

*Oligo 2: 5' CGCGGATCCCATCTTCNARYCTAGAAA 3'

4.3.9.3. SELECCIÓN DE LA TEMPERATURA DE HIBRIDACIÓN

Este factor es muy importante en los estudios de PCR por ser la temperatura a la cual se da el alineamiento de los oligos. Para su selección, se hizo un gradiente de temperatura desde 45 hasta 55°C , teniendo las siguientes temperaturas en el termociclador:

No. Tubo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Temperatura $^\circ\text{C}$	45.0	45.9	48.2	49.4	50.6	51.8	52.9	54.0	54.7	55.0

Se realizó un PCR con la mezcla de reacción de volumen total de 20 μL , con las siguientes condiciones un ciclo a 94.0°C por 2 minutos, 40 ciclos de 1 minuto a 94°C , 1 minuto a diferente temperatura según número de tubo como se indica en la tabla anterior y 1.5

minutos a 72° C, y un ciclo de 10 minutos a 72° C para finalmente bajar la temperatura hasta 4° C. Posteriormente se analizó la calidad de la señal en gel de agarosa al 1 %, se visualizó y se tomo fotografía del gel en un UV transiluminador kodak EDAS 290. De aquí se eligió la temperatura en la cual se observaba la señal más clara y concentrada, misma que se utilizó para la amplificación.

4.3.9.4. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Se siguió la técnica descrita por Sato-Nara y col., (1999). La mezcla de la reacción para la amplificación (PCR) de un volumen total de 40 μL se hizo en tubos eppendorf pequeños estériles y consistió en 20.5 μL de agua destilada estéril; 3.0 μL de Cloruro de magnesio (MgCl_2); 4.0 μL de Buffer 10 X PCR; 3.0 μL de dNTP's; 2.0 μL de cada uno de los oligos a una concentración de 100 ng μL^{-1} ; 5.0 μL de ADNc; y 0.5 μL de Taq DNA Polimerase recombinant. Todo esto se adiciono en campana de flujo laminar.

Como control positivo se utilizó el ADNc que codifica para el ETR de mango (Figura 36) donado por el CINVESTAV, Irapuato y como control negativo se utilizó agua destilada estéril.

La amplificación (PCR) tuvo las siguientes condiciones: primeramente el ADNc se desnaturalizó a 94.0° C por 2 minutos, posteriormente se llevó a cabo la amplificación con 40 ciclos de 1 minuto a 94° C, 1 minuto a 50° C y 1.5 minutos a 72° C, después de estos ciclos la amplificación se extendió por 10 minutos mas a 72° C y finalmente se bajó la temperatura hasta 4° C.

Los fragmentos amplificados se separaron en un gel de agarosa al 1%, empleando un marcador de peso molecular de Lambda ADN digerido con Hind III-ECO R1. El gel se visualizó en un UV transiluminador kodak EDAS 290 y se tomo fotografía para su análisis.

4.4. ANALISIS ESTADISTICOS

4.4.1. ESTUDIO DE LA FISIOLÓGIA DE GUAYABA MÍNIMAMENTE PROCESADA

Para determinar la mejor presentación y temperatura de almacenamiento, se utilizó un diseño experimental factorial 2 x 4, que considera dos tipos de presentación y cuatro temperaturas de almacenamiento.

A) *Guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente.*

Factores: A. Tipo de Presentación de la guayaba (2): Enteras y mitades sin semilla.
B. Temperatura de almacenamiento (2): 0, 4, 10 y 15°C

Unidad experimental: Un frasco con cinco guayabas

Número de repeticiones: Tres

Variables de respuesta: Y1 = Tasa de respiración. ($\text{mLCO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$)
Y2 = Producción de Etileno ($\text{ppm kg}^{-1}\text{h}^{-1}$)
Y3 = Cambio de Color (Índice de matiz (Hue)).
Y4 = Textura (Resistencia a la penetración (N))
Y5 = Sólidos Solubles (°Brix)
Y6 = Ácido ascórbico (mg g^{-1})
Y7 = Azúcares totales (mg g^{-1})

B) *Guayabas mínimamente procesadas sin pelar.* Igual que en las guayabas mínimamente procesadas sin pericarpio, se utilizó un diseño experimental factorial 2 x 3, que considera dos tipos de presentación factor A el cual comprende: Mitades sin semilla y mitades con semilla y tres temperaturas de almacenamiento 0, 4 y 10° C.

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente por un análisis de varianza y las diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos así como sus interacciones, se analizaron a través de la prueba de medias de Tukey a un nivel de significancia de 95%

($\alpha=0.05$), utilizando el paquete estadístico JMP versión 4.0. Estos experimentos nos indican la mejor forma de fruta, la mejor condición de temperatura de almacenamiento y tiempo para este tipo de producto.

4.4.2. ESTUDIO DE LA MADURACIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE ETILENO EN GUAYABA.

Los datos obtenidos de la tasa de respiración, producción de etileno y cambios de color se analizaron estadísticamente por medio de un análisis de varianza entre estados de madurez de los frutos, utilizando el paquete estadístico JMP versión 4.0.

<u>Factor:</u>	Estado de madurez
<u>Unidad experimental:</u>	Una guayaba
<u>Número de repeticiones:</u>	Tres
<u>Variables de respuesta:</u>	Y1 = Tasa de respiración ($\text{mL Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$). Y2 = Producción de Etileno ($\text{ppm Kg}^{-1}\text{h}^{-1}$). Y3 = Color (Índice de matiz (Hue)).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO DE GUAYABA MÍNIMAMENTE PROCESADA

Se analizan de manera conjunta y para cada variable, los resultados de guayaba mínimamente procesada tanto pelada químicamente como sin pelar, para observar los efectos de ambos tipos de procesado mínimo durante el almacenamiento de los frutos a diferentes temperaturas.

5.1.1. EFECTO EN LA TASA DE RESPIRACIÓN

La tasa de respiración de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente se incrementó gradualmente al transcurrir el tiempo de almacenamiento. No obstante, es importante resaltar que esta tasa de respiración fue de 2 a 10 veces mayor ($100-700 \text{ mL CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$) (Figura 16a) respecto de lo reportado por Akamine y Goo, (1979) quienes indicaron valores de $50-70 \text{ mL CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) en el máximo climatérico de guayaba almacenada a temperatura ambiente (20° C); y también respecto de lo reportado por Mercado-Silva y col., (2003) quienes también informaron máximos climatéricos de $80 \pm 5 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en el estado de madurez de consumo. De forma opuesta, las muestras sin pelado químico mostraron tasas de respiración notablemente menores (Figura 16b) respecto de las peladas químicamente lo cual indicó que el pelado químico, y muy probablemente el estrés térmico aplicado, indujo el notable incremento del metabolismo de las muestras.

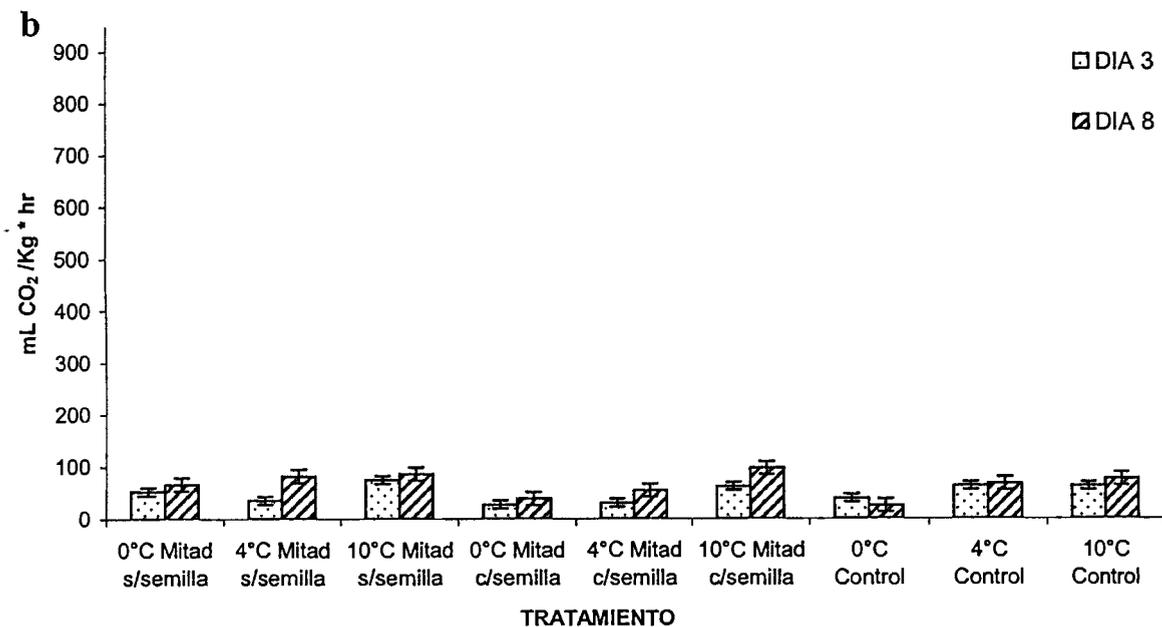
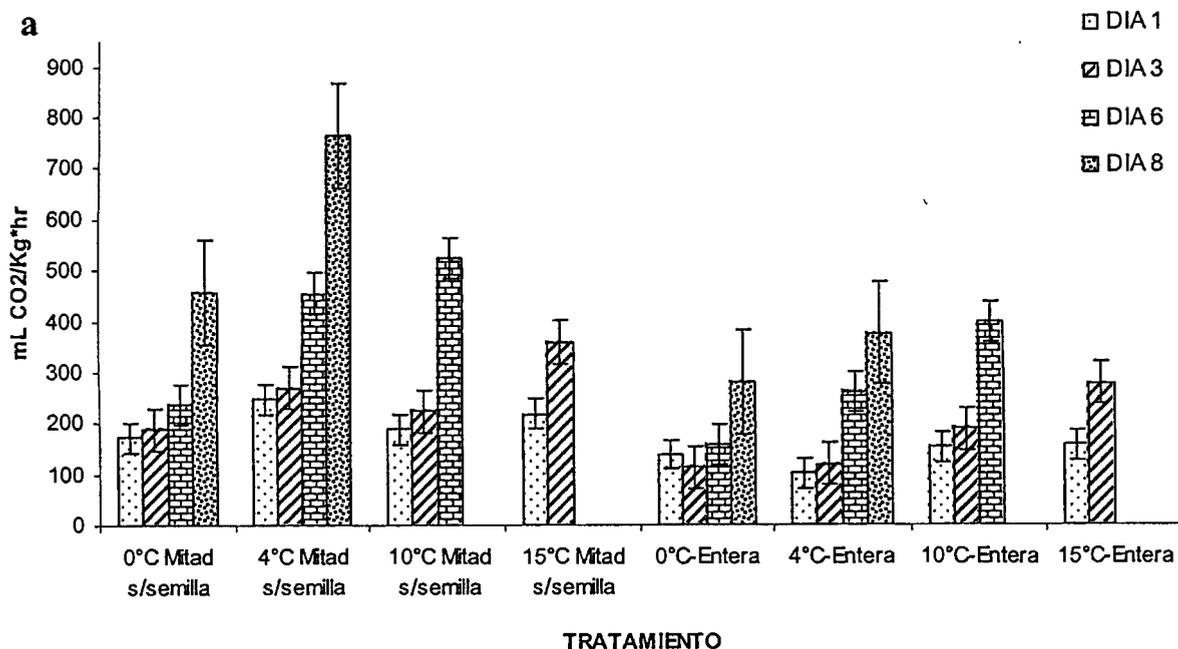


Figura 16. Tasa de respiración de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente (a) y sin pelar (b); enteras, en mitades con y sin semillas comparadas con frutos intactos (controles). Almacenadas a diferentes temperaturas.

Los Cuadro 3 y 4 muestran la comparación de medias de las tasas de respiración para guayabas mínimamente procesadas durante su almacenamiento a distintas temperaturas. Así mismo se muestra la significancia estadística de los factores tipo de presentación y temperatura. La comparación de los datos de ambos cuadros indica que el pelado químico incrementó de manera acentuada la tasa de respiración, lo cual indica que este procedimiento no es adecuado para este tipo de productos. Analizados por separado estos cuadros indican, para el caso de las muestras peladas químicamente, que el tipo de guayaba mínimamente procesada fue altamente significativo durante todo el almacenamiento; siendo las mitades de guayabas sin semilla las que mostraron las más altas tasas de respiración respecto de las enteras. El factor temperatura de almacenamiento no fue significativo en el primer día y octavo pero si lo fue en los días intermedios observándose (de forma lógica) una mayor tasa de respiración para las temperaturas más altas. La interacción temperatura y tipo de guayaba no fue significativa por lo que solo es importante presentar la guayaba mínimamente procesada con semillas y mantenerla a temperaturas bajas.

El Cuadro 4 muestra la comparación de medias para cada uno de los dos factores que fueron estadísticamente significativos con los factores, tipo de guayaba o temperatura, confundidos para cada caso. Aunque se aprecia con más claridad que las temperaturas altas deben de evitarse y que el daño mecánico es el factor que multiplica la actividad respiratoria.

Para el caso de las muestras sin pelado (Cuadro 5), el factor tipo de guayaba fue significativo hasta antes de 8 días de almacenamiento siendo las muestras enteras o en mitades con semilla las que mostraron menores tasas de respiración (Figura 16b); mientras que el factor temperatura fue altamente significativo observándose nuevamente que a menor temperatura las tasas de respiración fueron menores. La interacción tipo de presentación-temperatura tampoco fue significativa en este tipo de muestras siendo nuevamente importante el presentar los frutos solamente partidos y conservarlos a baja temperatura.

Cuadro 3. Comparación de medias de la **tasa de respiración** (mL CO₂ Kg⁻¹ hr⁻¹) de frutos enteros y en mitades sin semilla de guayaba mínimamente procesada pelada químicamente almacenadas a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	173.15 ^{ab}	188.46 ^{ab}	237.51 ^{ab}	457.29 ^{ab}
	Enteras	138.04 ^{ab}	113.71 ^a	157.59 ^a	280.46 ^a
4	Mitades sin semilla	248.13 ^b	269.13 ^{ab}	454.99 ^c	763.41 ^b
	Enteras	100.52 ^a	119.39 ^a	258.63 ^{ab}	376.40 ^{ab}
10	Mitades sin semilla	188.92 ^{ab}	224.03 ^{ab}	525.15 ^c	
	Enteras	152.33 ^{ab}	188.12 ^{ab}	399.61 ^{bc}	
15	Mitades sin semilla	217.38 ^{ab}	358.95 ^b		
	Enteras	156.59 ^{ab}	277.59 ^{ab}		
Temperatura		NS	**	***	NS
Tipo de guayaba		**	*	**	*
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		144.18	204.59	189.18	461.82

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre columna indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 4. Comparación de medias de factores individuales (temperatura y tipo de guayaba) de la **tasa de respiración** (mL CO₂ Kg⁻¹ hr⁻¹) de frutos de guayaba mínimamente procesadas peladas químicamente en distintas temperaturas de almacenamiento.

FACTOR	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
Temperatura (°C)				
0	155.59 ^a	151.09 ^b	197.55 ^b	368.87 ^a
4	174.32 ^a	194.26 ^b	356.81 ^a	569.90 ^a
10	170.62 ^a	206.08 ^{ab}	462.38 ^a	HONGOS
15	186.98 ^a	318.27 ^a	HONGOS	HONGOS
Tipo de Guayaba				
Partidas	260.89 ^a	260.14 ^a	405.88 ^a	610.35 ^a
Enteras	136.87 ^b	174.70 ^b	271.94 ^b	328.43 ^b

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre columna indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 5. Comparación de medias de la **tasa de respiración** (mL CO₂ Kg⁻¹ hr⁻¹) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar en distintas temperaturas de almacenamiento.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 3	Día 8
0	Mitades sin semilla	52.44 ^{ab}	66.57 ^{ab}
	Mitades con semilla	27.47 ^a	39.13 ^{ab}
	Control	39.12 ^{ab}	25.40 ^a
4	Mitades sin semilla	35.62 ^a	82.02 ^{ab}
	Mitades con semilla	30.46 ^a	54.64 ^{ab}
	Control	63.05 ^{ab}	67.25 ^{ab}
10	Mitades sin semilla	74.78 ^b	86.21 ^{ab}
	Mitades con semilla	62.07 ^{ab}	97.17 ^b
	Control	62.44 ^{ab}	76.02 ^{ab}
Factor: Temperatura	0°C	39.68 ^b	43.70 ^b
	4°C	43.04 ^b	67.97 ^{ab}
	10°C	66.43 ^a	86.47 ^a
Temperatura		***	**
Tipo de guayaba		*	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		38.32	61.76

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Los anteriores resultados mostraron que el procesado mínimo (pelado químico) indujo un fuerte estrés a las frutas y que este se incrementó aún más si las muestras eran cortadas, lo cual concuerda con lo expuesto por Salveit (1999), quien indicó que a mayor nivel de daño se induce una mayor respuesta metabólica del tejido. Se sabe que un incremento en la tasa de respiración es una respuesta común en los tejidos que han sufrido un daño mecánico (Ramírez 2000). El daño mecánico lleva a cambios fisiológicos que alteran la apariencia, lo cual está asociado a una senescencia acelerada y cambios en las rutas metabólicas que pueden generar olores indeseables probablemente asociados al incremento en la tasa de respiración y producción de etileno en los tejidos dañados (Ben-Hur, Durigan, y Durival Junior, 2003).

Se conoce que uno de los síntomas más comunes de deterioro de los productos mínimamente procesados es el desarrollo de bacterias y hongos (Kader, 1992 citado por

Ramírez, 2000). Las muestras de guayaba mínimamente procesadas peladas químicamente y almacenadas a 15°C mostraron una alta sensibilidad al ataque de hongos (Figura 17), por lo que su vida de anaquel fue muy corta (3 días); por ello su evaluación se suspendió después de ese periodo. Las muestras almacenadas a 10°C también presentaron el mismo problema después de 6 días por lo que también se suspendió su análisis. Esta situación mostró claramente el efecto que tendría el abuso de temperatura en la distribución de estos productos y señala nuevamente la importancia de mantener baja la temperatura de almacenamiento.



Figura 17. Ataque de microorganismos en guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente, almacenadas tres días a 15° C.

5.1.2. PRODUCCIÓN DE ETILENO

La producción de etileno en las muestras a las que se aplicó el pelado químico se alteró drásticamente (Figura 18a) en general éste tratamiento disminuyó fuertemente la producción de esta fitohormona y solo se detectaron muy pequeñas producciones en los tratamientos a 0°C con guayabas enteras y a 4° C en guayabas en mitades durante el primer día de almacenamiento (2.2 y 2.6 $\mu\text{L etileno Kg}^{-1}\text{hr}^{-1}$ respectivamente). No obstante, estas producciones no fueron diferentes significativamente entre los distintos tratamientos (Cuadro 6). Este resultado indicó claramente que la síntesis de etileno fue fuertemente bloqueada de manera irreversible debido al tratamiento alcalino y más probablemente al térmico (2% NaOH, 85°C por 2 min.) que se aplicó.

Respecto de las guayabas mínimamente procesadas sin pelado químico con las mismas formas de presentación, éstas no mostraron diferencia significativa en la interacción de los factores temperatura y el tipo de presentación, en tanto que la temperatura de almacenamiento fue el factor que fue estadísticamente significativo (Cuadro 7 y Figura 18b). La producción de etileno fue menor en los frutos almacenados a 0° C respecto del control, aunque no se encontró diferencia estadísticamente significativa. La producción de etileno para guayabas mínimamente procesadas sin pelado cortadas parece estar dentro del rango de lo reportado por Mercado-Silva y col. (1998) quienes indicaron producciones en frutos intactos de 10-40 $\mu\text{L etileno Kg}^{-1} \text{hr}^{-1}$ a temperatura ambiente, además indicaron que la síntesis de etileno en los tejidos vegetales se inhibe cuando la temperatura sobrepasa los 32° C. Por su parte Lurie, (1998) indicó que durante el calentamiento, no solamente se inhibe la producción de etileno sino que también el tejido no responde al etileno exógeno y esto indica una pérdida o inactivación de los receptores de etileno o una incapacidad para transferir la señal de los subsecuentes eventos que llevan a la maduración. No obstante Watada y col. (1990) citado por Ben-Hur y col. (2003) mencionan que el daño mecánico en bananas y kiwi mínimamente procesados, generó un aumento en la velocidad de producción de etileno, la cual aceleró el deterioro y la senescencia de los tejidos. Los resultados de guayaba mínimamente procesada pelada químicamente no fueron los esperados; esto se puede explicar por el hecho ya conocido

que la actividad de la enzima ACC oxidasa se ve drásticamente disminuida cuando el tejido se somete a bajas y altas temperaturas como lo observó Regalado (1999) en frutos intactos. Es decir que el tratamiento térmico alteró la síntesis de etileno y por lo tanto no se registró producción del mismo. Lo que llama la atención es que la tasa de respiración se elevó aunque la producción de etileno no debido a que se inhibieron enzimas responsable del proceso de producción al tratamiento térmico alcalino (2% NaOH, 85° C por 2 min.) que se aplicó.

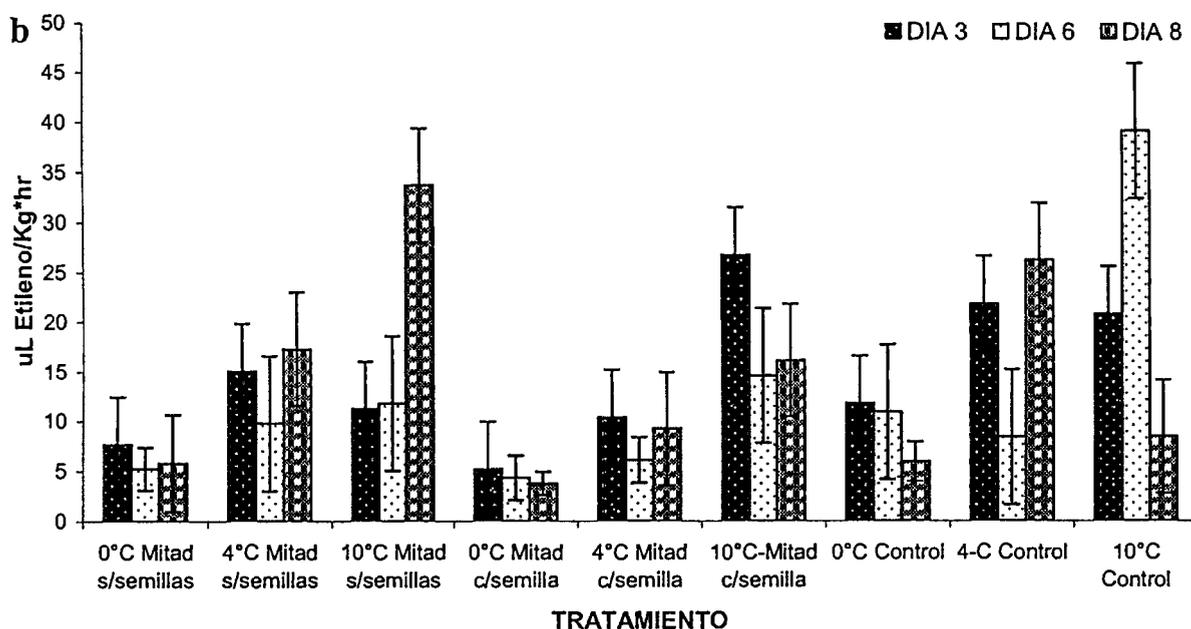
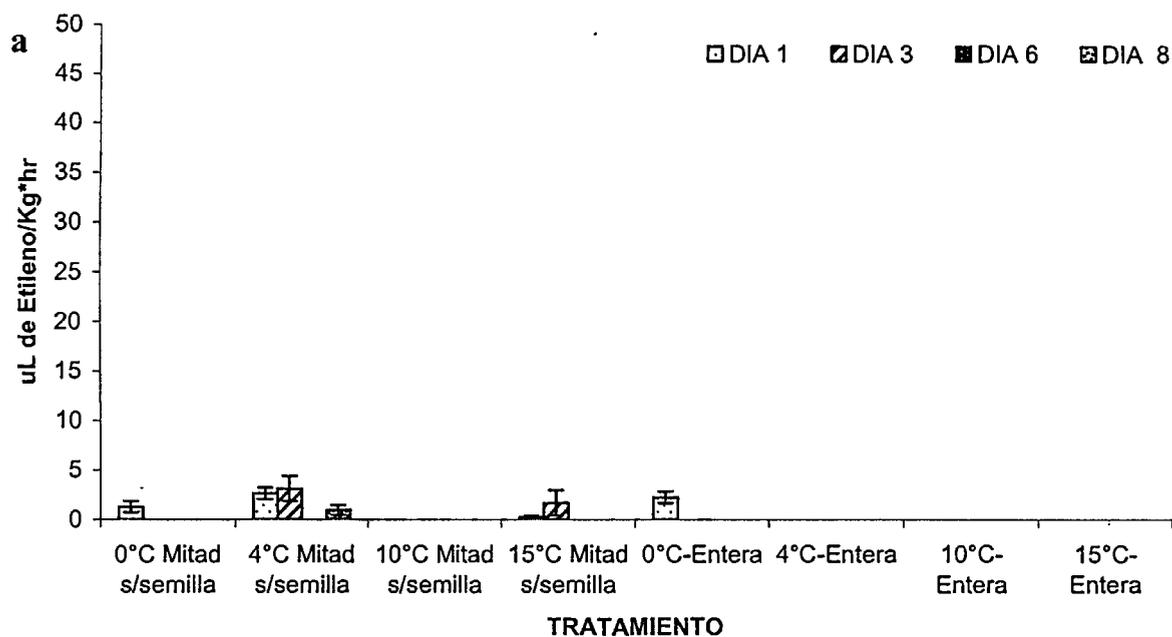


Figura 18. Producción de etileno de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente (a) en mitades sin semillas y enteras; (b) sin pelar en mitades con y sin semilla y frutos intactos (control). Almacenadas a diferentes temperaturas.

Cuadro 6. Comparación de medias de la **producción de etileno** ($\mu\text{L Etileno Kg}^{-1} \text{hr}^{-1}$) de frutos de guayaba mínimamente procesadas peladas químicamente en distintas temperaturas de almacenamiento.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	1.28 ^a	0.00 ^a	0.00	0.00 ^a
	Enteras	2.24 ^a	0.00 ^a	0.00	0.00 ^a
4	Mitades sin semilla	2.64 ^a	3.10 ^a	0.00	0.97 ^a
	Enteras	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00	0.00 ^a
10	Mitades sin semilla	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00	
	Enteras	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00	
15	Mitades sin semilla	2.83 ^a	1.70 ^a		
	Enteras	0.00 ^a	0.00 ^a		
Temperatura		*	NS		NS
Tipo de guayaba		NS	NS		NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		*	NS		NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		2.84	6.13	0	2.20

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 7. Comparación de medias de la **producción de etileno** ($\mu\text{L Etileno Kg}^{-1} \text{hr}^{-1}$) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, cortadas, con y sin semillas en diferentes temperaturas de almacenamiento.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	7.66 ^a	5.25 ^a	5.80 ^{ab}
	Mitades con semilla	5.17 ^a	4.32 ^a	3.76 ^a
	Control	11.81 ^a	10.93 ^{ab}	5.93 ^{ab}
4	Mitades sin semilla	15.08 ^a	9.79 ^{ab}	17.30 ^{ab}
	Mitades con semilla	10.40 ^a	6.09 ^{ab}	9.26 ^{ab}
	Control	21.85 ^a	8.43 ^{ab}	26.27 ^{ab}
10	Mitades sin semilla	11.25 ^a	11.80 ^{ab}	33.72 ^b
	Mitades con semilla	26.73 ^a	14.60 ^{ab}	16.16 ^{ab}
	Control	20.81 ^a	39.22 ^b	8.43 ^{ab}
Temperatura		*	*	*
Tipo de guayaba		NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		24.00	33.71	28.67

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

5.1.3. CAMBIOS DE COLOR

Para el consumidor, el color es el factor más importante para determinar la calidad de los productos agrícolas debido a que éste se relaciona con el resto de los atributos sensoriales (Medlicott y col., 1992 citado por Benito-Bautista, 2002). El índice de matiz, Hue (H°), de guayabas mínimamente procesadas con pelado químico varió desde 80° a 90° mientras que para las no peladas este intervalo fue mayor (90 a 95) lo que indicó que el pelado químico alteró drásticamente este factor mientras que el no pelarlas por este procedimiento mantuvo un valor más alto (Figura 19). No existen datos de color de guayabas mínimamente procesadas; no obstante, Reyes y Paull, (1995) citado por Benito Bautista, (2002) reportaron valores de ángulo de matiz de 84 para guayaba intacta de la variedad 'Media China' en madurez media (50% de color amarillo) almacenada a 10° C. La comparación de medias tanto en frutos pelados químicamente como no pelados (Cuadro 8 y Cuadro 9), indicó que no hubo un efecto significativo del tipo de presentación de los frutos en ambos tipos de muestras; mientras que la temperatura si tuvo un efecto altamente significativo en ambos tipos de procesos observándose que las muestras almacenadas a temperaturas más bajas mostraron valores más altos. La interacción temperatura-tipo de presentación presentó un efecto significativo en las muestras peladas químicamente mientras que en las no peladas esta misma interacción no fue significativa (Cuadro 9).

No existen en la bibliografía datos de cambio de color en guayabas mínimamente procesadas que permitan comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo y aunque un poco distante de este trabajo y con diferentes objetivos; García-Velasco, (1997) aplicó tratamientos hidrotérmicos en guayabas intactas durante 30 minutos a 46° C observando un retraso en la evolución de color con valores de índice de matiz superiores al grupo no tratado, esto concuerda parcialmente con los resultados obtenidos para guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente aunque el intervalo de valores fue menor para el caso de las muestras mínimamente procesadas.

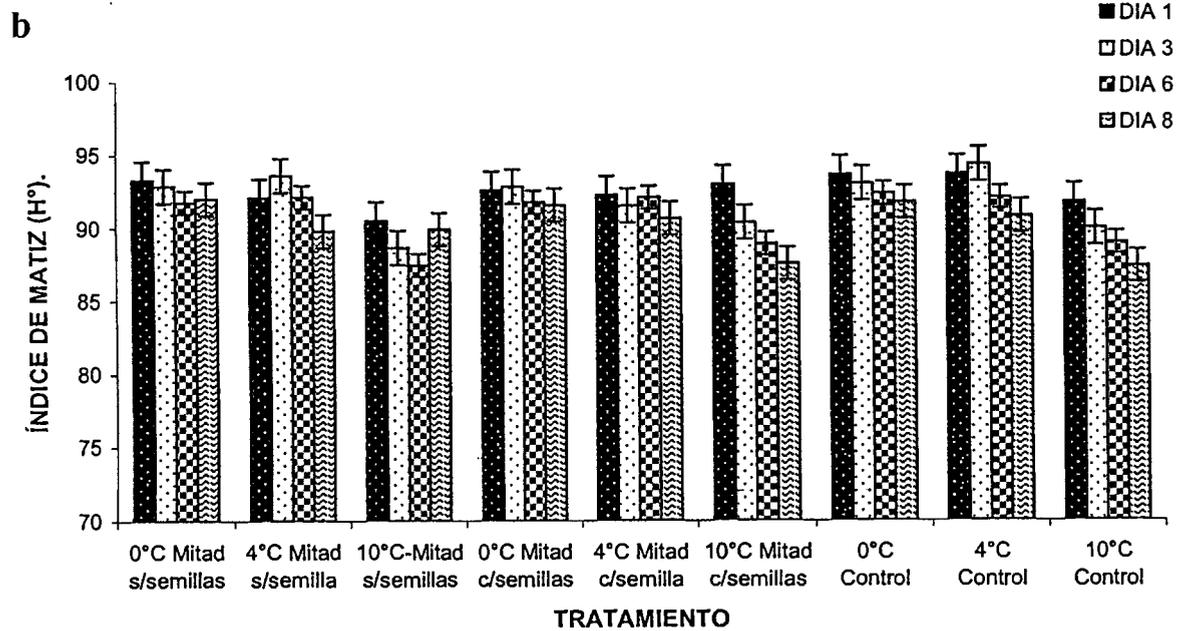
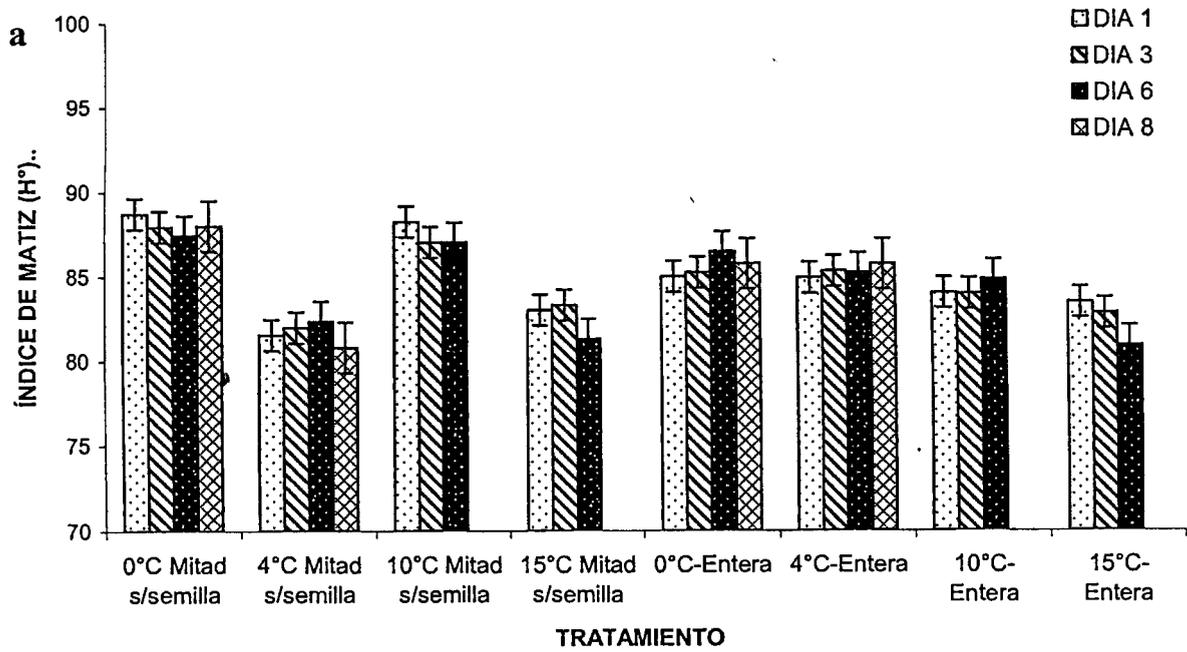


Figura 19. Cambio del índice de matiz en guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente (a) y sin pelar (b) en forma entera, en mitades con y sin semillas así como frutos intactos (controles). Almacenadas a diferentes temperaturas.

Cuadro 8. Comparación de medias del índice de matiz de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente en distintas presentaciones y diferentes temperaturas de almacenamiento.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	88.71 ^c	87.96 ^c	87.46 ^c	88.01 ^b
	Enteras	85.04 ^{abc}	85.28 ^{abc}	86.53 ^{abc}	85.80 ^{ab}
4	Mitades sin semilla	81.56 ^a	82.01 ^a	82.39 ^{abc}	80.82 ^a
	Enteras	84.96 ^{abc}	85.36 ^{abc}	85.26 ^{abc}	85.78 ^{ab}
10	Mitades sin semilla	88.27 ^{bc}	87.06 ^{bc}	87.07 ^{bc}	HONGOS
	Enteras	84.07 ^{ab}	84.01 ^{abc}	84.86 ^{abc}	HONGOS
15	Mitades sin semilla	83.05 ^a	83.35 ^{ab}	81.36 ^{ab}	HONGOS
	Enteras	83.50 ^a	82.86 ^{ab}	80.95 ^a	HONGOS
Temperatura		**	**	***	*
Tipo de guayaba		NS	NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		**	*	NS	*
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		4.40	4.50	5.72	6.78

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 9. Comparación de medias del índice de matiz de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, en distintas presentaciones, diferentes temperaturas de almacenamiento.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	93.30 ^a	92.87 ^a	91.78 ^b	92.01 ^a
	Mitades con semilla	92.57 ^a	92.83 ^a	91.76 ^b	91.57 ^a
	Control	93.65 ^a	93.05 ^a	92.36 ^b	91.77 ^a
4	Mitades sin semilla	92.09 ^a	93.60 ^a	92.12 ^b	89.80 ^a
	Mitades con semilla	92.26 ^a	91.52 ^a	92.09 ^b	90.66 ^a
	Control	93.30 ^a	94.35 ^a	92.18 ^b	90.82 ^a
10	Mitades sin semilla	90.51 ^a	88.66 ^a	87.45 ^a	89.92 ^a
	Mitades con semilla	92.97 ^a	90.38 ^a	88.92 ^{ab}	87.55 ^a
	Control	91.78 ^a	89.99 ^a	88.98 ^{ab}	87.36 ^a
Temperatura		NS	**	***	**
Tipo de guayaba		NS	NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		6.33	5.79	3.89	5.59

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Mientras que el índice de matiz mide un ángulo cuya tangente está dado por el valor b^*/a^* ; la diferencia de color (ΔE) permite comparar los cambios de color respecto de una muestra inicial además de considerar los tres parámetros que definen el color (L^* , a^* y b^*). Para las muestras con pelado químico, el factor tipo de presentación solo fue significativo hasta el día seis de almacenamiento (Cuadro 10) mostrando las mayores diferencias las muestras en mitades con semillas y las que presentaron menor cambio de color fueron las enteras como era lógico esperar; no obstante después de ese día este factor ya no fue significativamente diferente. También el factor temperatura fue estadísticamente significativo teniendo menores cambios de color las muestras almacenadas a 0°C aunque esta significancia solo se presentó el día tres de almacenamiento. La interacción entre la temperatura-tipo de presentación no fue significativa. La Figura 20a muestra también que el ΔE fue menor en las muestras enteras las cuales presentan una tendencia descendente mientras que las muestras en mitades sin semilla presentaron una tendencia ascendente.

En las muestras sin pelar, en términos prácticos no se detectaron diferencias significativas en el cambio de color ΔE para el tipo de presentación, temperatura e interacción de estos dos factores, aunque este último mostró significancia en el primer día de almacenamiento pero después ya no se detectó este efecto (Cuadro 11). La Figura 20b muestra que los valores de ΔE fueron mayores para las muestras a 0° y 10°C en comparación con sus respectivos controles.

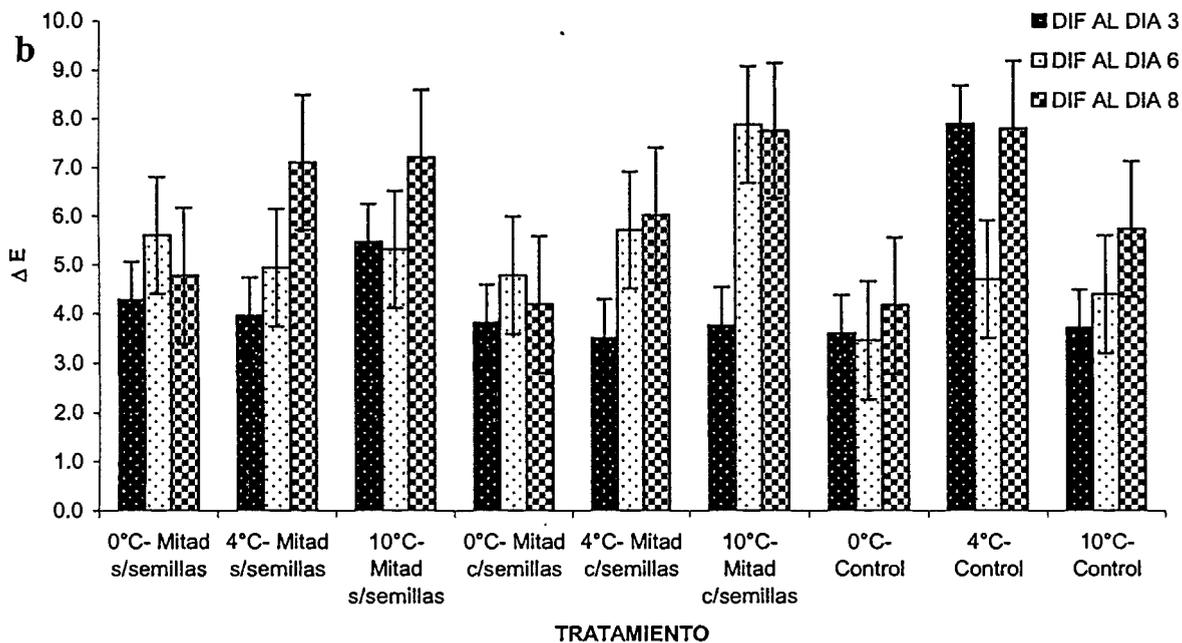
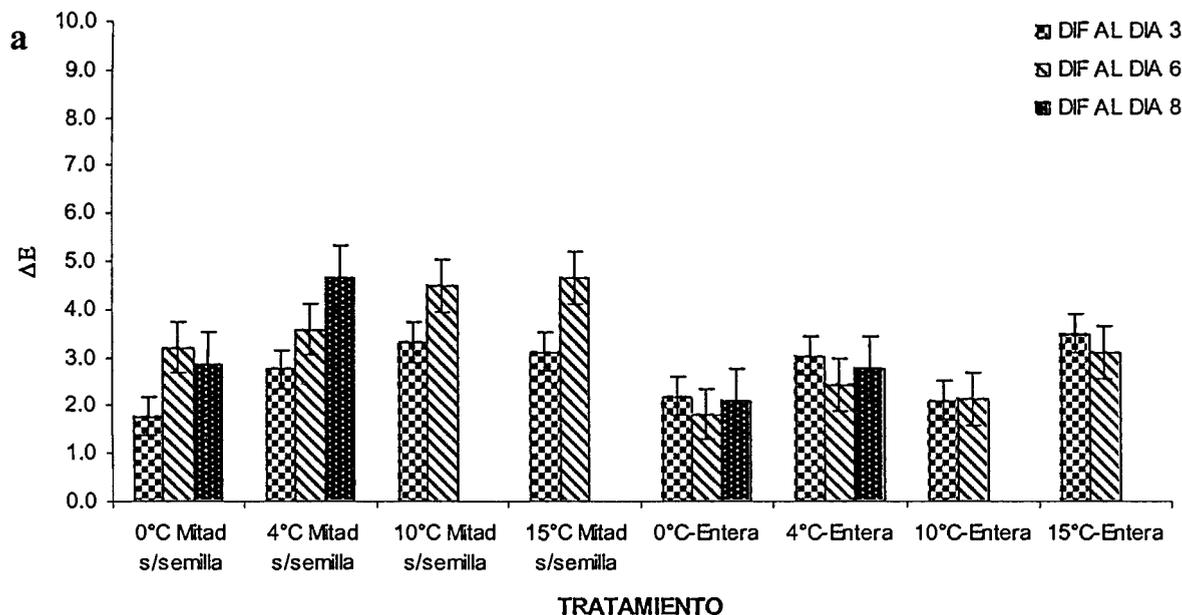


Figura 20. Cambio de color (ΔE) de frutos de guayaba mínimamente procesada, con pelado químico (a) y sin pelar (b) enteras, en mitades con y sin semilla y frutos intactos (control). Almacenados a diferentes temperaturas.

Cuadro 10. Comparación de medias del **cambio de color (ΔE)**, en frutos de guayaba mínimamente procesada con pelado químico, en diferentes tipos de presentación. Almacenadas a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Dif. Día 3	Dif. Día 6	Dif. Día 8
0	Mitades sin semilla	1.77 ^a	3.21 ^{ab}	2.87 ^a
	Enteras	2.20 ^a	1.82 ^a	2.11 ^a
4	Mitades sin semilla	2.75 ^a	3.58 ^{ab}	4.68 ^a
	Enteras	3.03 ^a	2.43 ^{ab}	2.77 ^a
10	Mitades sin semilla	3.31 ^a	4.49 ^b	HONGOS
	Enteras	2.11 ^a	2.14 ^{ab}	HONGOS
15	Mitades sin semilla	3.11 ^a	4.65 ^b	HONGOS
	Enteras	3.49 ^a	3.12 ^{ab}	HONGOS
Temperatura		*	NS	NS
Tipo de guayaba		NS	***	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		1.97	2.65	3.07

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo. Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 11. Comparación de medias del **cambio de color (ΔE)**, en frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, en diferentes presentaciones. Almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Dif. Día 3	Dif. Día 6	Dif. Día 8
0	Mitades sin semilla	4.28 ^{ab}	5.60 ^a	4.77 ^a
	Mitades con semilla	3.82 ^a	4.79 ^a	4.19 ^a
	Control	3.60 ^a	3.47 ^a	4.18 ^a
4	Mitades sin semilla	3.96 ^a	4.94 ^a	7.10 ^a
	Mitades con semilla	3.52 ^a	5.72 ^a	6.02 ^a
	Control	7.91 ^b	4.71 ^a	7.80 ^a
10	Mitades sin semilla	5.46 ^{ab}	5.32 ^a	7.21 ^a
	Mitades con semilla	3.77 ^a	7.89 ^a	7.76 ^a
	Control	3.73 ^a	4.41 ^a	5.75 ^a
Temperatura		NS	NS	NS
Tipo de guayaba		NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		*	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		3.86	5.98	6.92

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo. Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

5.1.4. RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN

La actividad metabólica del procesado mínimo de las guayabas, implicó una serie de cambios dentro del tejido que alteraron sus características estructurales. Las guayabas mínimamente procesadas con pelado químico mostraron un efecto altamente significativo del tipo de guayaba y la interacción temperatura-tipo de guayaba a partir del tercer día (Cuadro 12). Esto también puede observarse más claramente en la Figura 21a la cual muestra una mayor resistencia a la penetración en las guayabas en mitades sin semilla respecto de las guayabas enteras, además también se observa una caída drástica de la resistencia a la penetración al tercer día de almacenamiento con un posterior incremento, lo cual se piensa que se debió primeramente a un ablandamiento del tejido generado por el daño químico y mecánico ocasionado, y posteriormente la deshidratación del tejido provocó un endurecimiento del fruto mismo que incremento la resistencia a la penetración. Gorny y Kader, (1996) mencionan que los productos mínimamente procesados son mas susceptibles a la pérdida de agua que los productos intactos, porque las barreras que evitan la pérdida de agua son removidas durante su procesamiento y Lurie, (1998) indicó que los tratamientos térmicos generalmente proporcionan productos con una mejor firmeza respecto de frutos no tratados y esto lo atribuyó a que el tratamiento inactiva las enzimas responsables de la degradación de las pectinas con lo cual se mantiene la firmeza del tejido.

En las guayabas mínimamente procesadas sin pelar el tipo de guayaba fue el factor que presento diferencia estadísticamente significativa, así como la interacción temperatura-tipo de guayaba solamente para los días primero y tercero de almacenamiento, (Cuadro 13). En la Figura 21b se puede observar que las muestras control presentaron mayores valores de resistencia a la penetración en comparación con las guayabas procesadas, así como también la resistencia a la penetración fue menor en las guayabas en mitades sin semilla comparadas con las enteras a las diferentes temperaturas de almacenamiento, esto concuerda con lo descrito por Salveit, (1999) quien indicó que a mayor nivel de daño se induce una mayor respuesta metabólica al tejido, ocasionando en este caso que las muestras mayormente dañadas tanto química como mecánicamente sufrieran un mayor ablandamiento. Watada, Abe y Yamauchi, (1990) citado por Ben-Hur y col., (2003) mencionan que cuando los tejidos vegetales son

lesionados ocurre aumento en la velocidad de producción de etileno. Este etileno acelera el deterioro y la senescencia de tejidos vegetales, lo que promueve modificaciones en la textura de productos mínimamente procesados.

García-Velasco, (1997) aplicó tratamientos hidrotérmicos (46° C durante 30 minutos) en guayabas intactas, identificando un retraso en la pérdida de firmeza de los frutos tratados respecto al grupo control aunque estos se igualaron después de cinco días de almacenamiento. Los mayores valores de resistencia a la penetración observados en las muestras en mitades tratadas con el pelado químico parecen coincidir con los datos aportados por esa autora no obstante no se explica el porque los frutos enteros mostraron valores notablemente menores. Para el caso de los frutos no tratados con el pelado químico en los que hubo una mayor disminución de la firmeza, se puede indicar que el estrés mecánico incrementó el metabolismo y aceleró los procesos de degradación de la pared celular. Por otro lado y en un estudio de conservación de frutos intactos, Benito-Bautista, (2002) reportó resistencias a la penetración de 83 ± 27 N en guayabas cv. 'Media China' en estado maduro (amarillo), que disminuyó a 56 N durante el proceso de maduración que contrastan notablemente con los valores menores obtenidos en guayabas mínimamente procesadas ($2-13 \pm 1$ N).

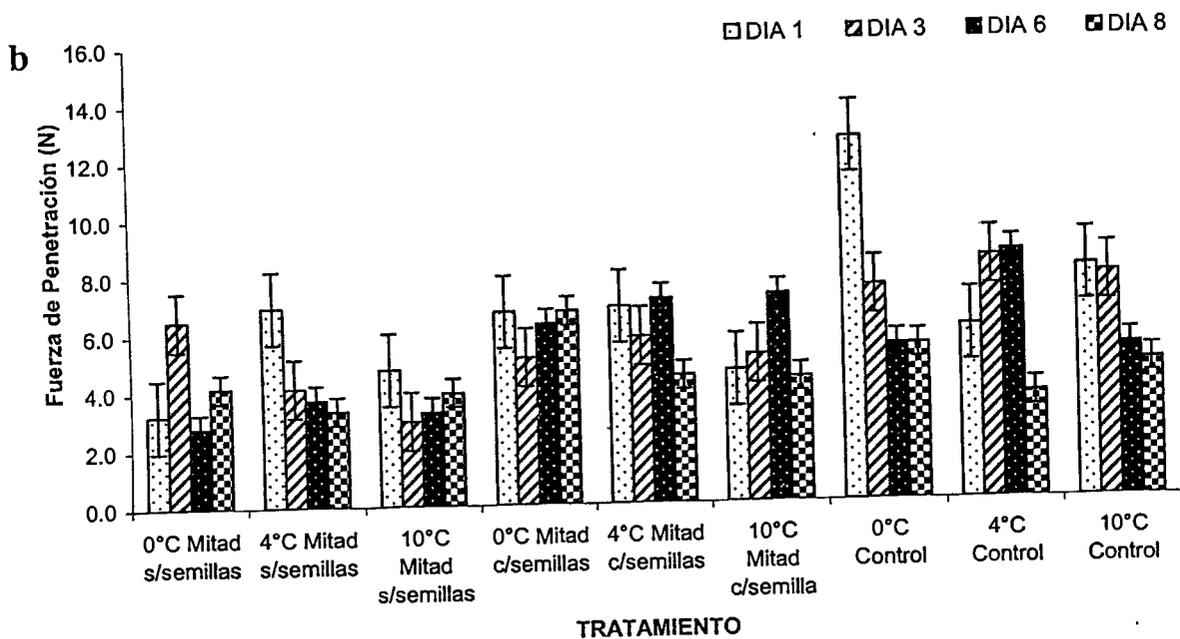
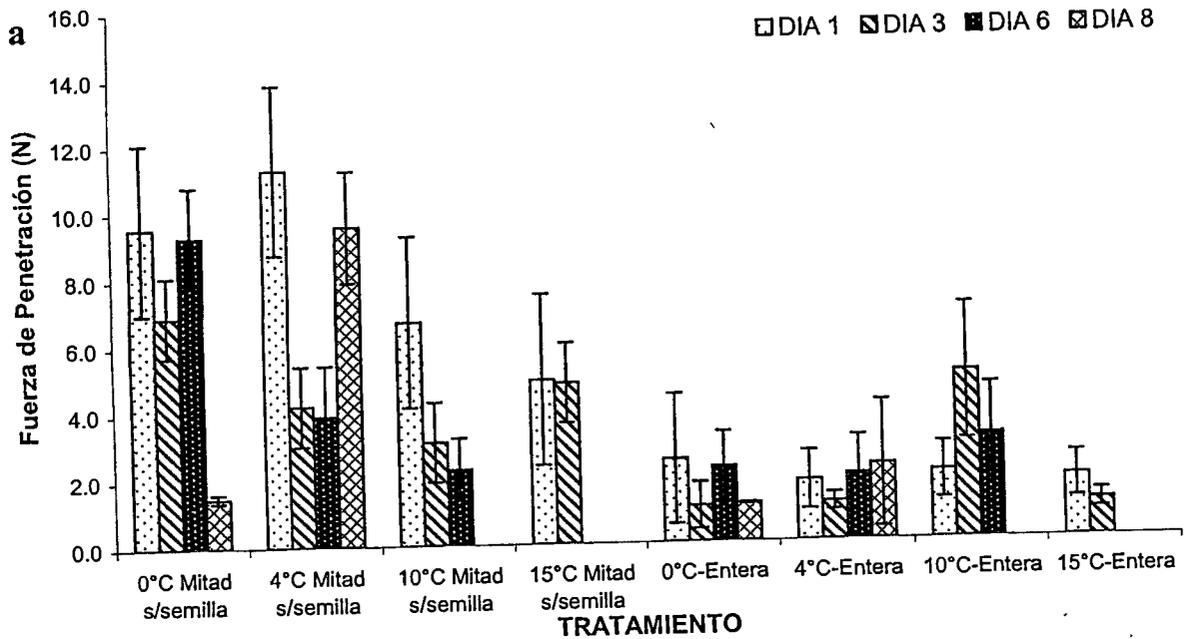


Figura 21. Resistencia a la Penetración de frutos de guayaba mínimamente procesada, con pelado químico (a) y sin pelar (b) enteras, mitades con y sin semillas y frutos intactos (controles). Almacenas a diferentes temperaturas.

Cuadro 12. Comparación de medias de la resistencia a la penetración (N) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	9.54 ^a	6.90 ^a	9.29 ^b	1.48 ^a
	Enteras	2.50 ^a	1.09 ^a	2.25 ^{ab}	1.14 ^a
4	Mitades sin semilla	11.28 ^a	4.22 ^a	3.92 ^{ab}	9.56 ^b
	Enteras	1.81 ^a	1.16 ^a	1.98 ^a	2.26 ^{ab}
10	Mitades sin semilla	6.70 ^a	3.11 ^a	2.28 ^{ab}	
	Mitades sin semilla	2.04 ^a	5.00 ^a	3.12 ^{ab}	
15	Enteras	4.93 ^a	4.83 ^a		
	Mitades con semilla	1.85 ^a	1.12 ^a		
Temperatura		NS	NS	NS	*
Tipo de guayaba		**	**	*	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	*	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		12.52	5.82	7.16	7.60

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo. Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 13. Comparación de medias de la resistencia a la penetración (N) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar. Almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	3.22 ^a	6.48 ^{ab}	2.77 ^a	4.15 ^b
	Mitades con semilla	6.70 ^{ab}	5.11 ^{ab}	6.26 ^{cd}	6.70 ^a
	Control	12.63 ^b	7.43 ^{ab}	5.38 ^{bc}	5.39 ^{ab}
4	Mitades sin semilla	6.92 ^{ab}	4.13 ^{ab}	3.71 ^{ab}	3.33 ^b
	Mitades con semilla	6.82 ^{ab}	5.78 ^{ab}	7.08 ^{cd}	4.41 ^{ab}
	Control	6.01 ^a	8.40 ^b	8.58 ^d	3.65 ^b
10	Mitades sin semilla	4.74 ^a	2.95 ^a	3.26 ^{ab}	3.92 ^b
	Mitades con semilla	4.57 ^a	5.11 ^{ab}	7.19 ^{cd}	4.29 ^{ab}
	Control	8.03 ^{ab}	7.78 ^{ab}	5.28 ^{bc}	4.73 ^{ab}
Temperatura		NS	NS	**	**
Tipo de guayaba		**	**	***	*
Temperatura * Tipo de Guayaba		*	NS	*	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		6.24	5.02	2.48	2.43

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo. Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

5.1.5. CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

La guayaba es una fruta con alto contenido de ácido ascórbico, por ello es importante determinar los cambios en esta vitamina cuando es procesada. Las Figura 22a y 22b muestran los cambios de esta vitamina en las muestras peladas químicamente como sin pelar respectivamente.

El contenido de ácido ascórbico en los frutos de guayaba pelados químicamente, varió de 55 a 240 mg por 100g de tejido a lo largo del almacenamiento; valores que están notablemente por debajo de lo señalado por Padilla y col., (2003) quienes reportaron contenidos de 217 a 485 mg por 100g de tejido en 24 selecciones de guayaba, de los reportados por Benito-Bautista, (2002) de 398 mg por 100g de muestra en guayabas 'Media China' maduras y de los señalados por González-Gaona y col., (2002) de 350 a 400 mg de ácido ascórbico. Esto muestra que el pelado químico y el daño mecánico afectaron negativamente el contenido nutricional de estos frutos. En el Cuadro 14, también se aprecia que esta disminución se acentuó a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento.

El análisis estadístico de los contenidos de ácido ascórbico de los frutos mínimamente procesados pelados químicamente solamente indicó diferencia estadísticamente significativa para el factor temperatura en el primer día (Cuadro 14) y ya no lo fue en los siguientes días de muestreo. Tanto el tipo de muestra como la interacción tipo de muestra-temperatura no fueron significativamente significativos. En la Figura 22a, se observa que las muestras enteras tienen cierta tendencia a presentar valores de ácido ascórbico mayores en comparación con las muestras de guayabas en mitades sin semilla.

En la Figura 22b, muestra los cambios de esta vitamina en los frutos de guayaba sin pelar. El contenido de ácido ascórbico fue mayor respecto de los frutos pelados químicamente y varió de 258 a 487 mg por 100g de tejido los cuales son similares a lo reportado por Padilla y col., (2003), Benito-Bautista, (2002), González-Gaona y col., (2002) y Regalado-Contreras,

(1999). Lo anterior indica que este tipo de presentación es la mejor opción para guayaba mínimamente procesada.

El análisis estadístico de este tipo de muestras de guayaba mínimamente procesadas sin pelar (Cuadro 15) no mostró diferencias estadísticamente significativas tanto del factor temperatura como tipo de presentación y solo la interacción entre ambos factores para el tercer día de almacenamiento y del factor temperatura para el sexto día de almacenamiento; no obstante, estas diferencias no son importantes desde el punto de vista práctico.

Ben-Hur y col., (2003) indicaron valores de ácido ascórbico de ($377.13 \text{ mg Kg}^{-1}$ y $153.18 \text{ mg Kg}^{-1}$) para guayabas mínimamente procesadas de la variedad 'Paluma' y 'Pedro Sato' respectivamente (peladas manualmente, sin semilla y almacenadas 10 días a 3°C) y también observaron una pérdida del contenido de ácido ascórbico durante el almacenamiento lo cual coincide con lo reportado en el presente trabajo.

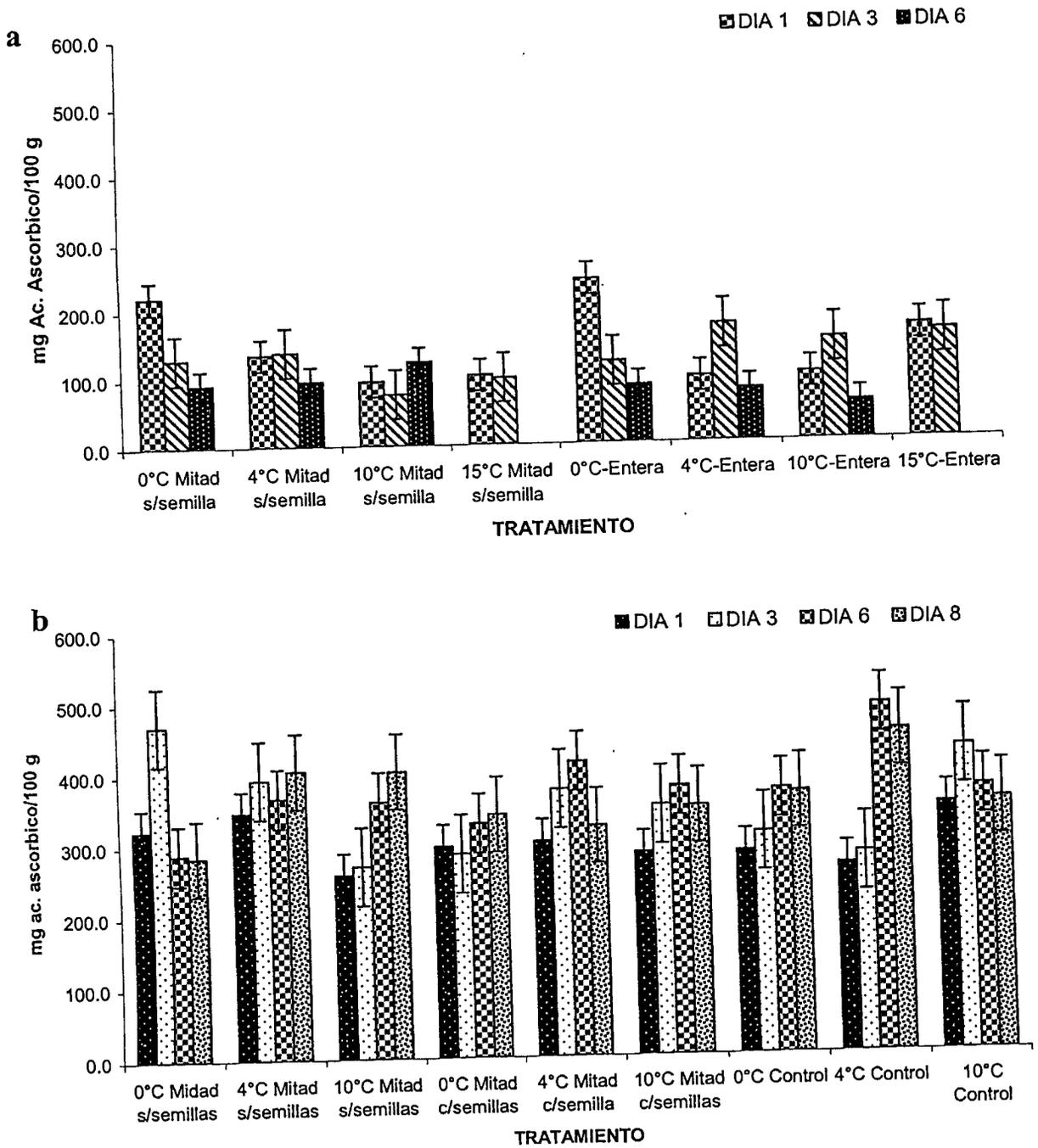


Figura 22. Contenido de **Ácido Ascórbico** (mg ác. ascórbico por 100g muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente (a) y sin pelar (b); tanto en mitades con y sin semillas, enteras, y frutos intactos (controles), almacenados a diferentes temperaturas.

Cuadro 14. Comparación de medias del contenido de **Ácido Ascórbico** (mg de ácido ascórbico por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada pelados químicamente, almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6
0	Mitades sin semilla	221.36 ^b	129.43 ^a	91.93 ^a
	Enteras	241.93 ^b	119.76 ^a	84.70 ^a
4	Mitades sin semilla	135.50 ^{ab}	138.70 ^a	95.96 ^a
	Enteras	95.96 ^a	172.56 ^a	76.60 ^a
10	Mitades sin semilla	95.16 ^a	75.80 ^a	123.40 ^a
	Enteras	99.20 ^a	149.16 ^a	55.63 ^a
15	Mitades sin semilla	102.43 ^a	98.40 ^a	
	Enteras	166.93 ^{ab}	158.9 ^a	
Temperatura		***	NS	NS
Tipo de guayaba		NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		113.93	176.87	98.26

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.
 Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 15. Comparación de medias del contenido de **Ácido Ascórbico** (mg de ác. Ascórbico por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar, almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	322.58 ^a	469.75 ^a	288.30 ^a	284.27 ^a
	Mitades con semilla	296.37 ^a	286.29 ^a	328.63 ^a	340.72 ^a
	Control	284.27 ^a	310.48 ^a	370.96 ^a	366.93 ^a
4	Mitades sin semilla	346.77 ^a	393.14 ^a	366.93 ^a	405.24 ^a
	Mitades con semilla	302.42 ^a	375.00 ^a	413.30 ^a	322.58 ^a
	Control	264.11 ^a	280.24 ^a	487.90 ^a	451.61 ^a
10	Mitades sin semilla	258.06 ^a	270.16 ^a	360.88 ^a	403.22 ^a
	Mitades con semilla	284.27 ^a	350.80 ^a	377.01 ^a	348.79 ^a
	Control	346.77 ^a	427.42 ^a	370.96 ^a	352.82 ^a
Temperatura		NS	NS	*	NS
Tipo de guayaba		NS	NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	*	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		150.92	272.01	205.71	261.43

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.
 Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

5.1.6. CONTENIDO DE AZÚCARES

La Figura 23a muestra los cambios del contenido de azúcares en los frutos procesados con pelado químico en sus distintas presentaciones almacenados a distintas temperaturas; en tanto que en el Cuadro 16 se muestra el análisis estadístico general del efecto de esos factores y de sus interacciones. Tanto la temperatura como la interacción temperatura-tipo de presentación no mostraron diferencias estadísticamente significativas para cada uno de los días de almacenamiento considerados; mientras que el tipo de muestra solo fue significativo a los tres días de almacenamiento donde los frutos enteros y almacenados a 0°C fueron los que mostraron mayor contenido de azúcares; no obstante antes y después de este día el efecto no fue significativo. De acuerdo con la Figura 23a se puede notar una tendencia a disminuir el contenido de azúcares en las muestras en mitades, en tanto que los frutos enteros hubo una tendencia contraria al menos en los primeros tres días de almacenamiento. Una posible explicación a este comportamiento pudiera fundarse en que la tasa de respiración de las muestras en mitades y sin semillas se incrementó notablemente lo cual pudo consumir fuertemente los azúcares disponibles en tanto que en los frutos enteros aunque tuvieron el estrés térmico, no se añadió el estrés mecánico y aquel probablemente indujo una mayor conversión de almidones en azúcares.

En la Figura 23b se muestra el contenido de azúcares para los frutos mínimamente procesados sin pelar tanto partidos como enteros (controles) almacenados a las temperaturas de estudio; así mismo el Cuadro 17 muestra el mismo análisis estadístico aplicado anteriormente. Al igual que en el caso anterior, en cada uno de los días analizados no se observó un efecto estadísticamente significativo de la temperatura, el tipo de muestra o de la interacción temperatura-tipo de muestra. No obstante, se puede apreciar en la Figura 23b que las guayabas partidas con y sin semilla mostraron valores mayores de contenido de azúcares respecto de sus controles. Este comportamiento puede ser explicado en función de la alta actividad metabólica que presentan estos frutos al procesado mínimo y que genera un proceso de hidrólisis de almidones. La comparación de este comportamiento y de los contenidos de azúcares parecen mostrar que el estrés mecánico acelera el metabolismo y provoca la hidrólisis de almidones pero si previamente se da un estrés térmico la alteración metabólica es

tan alta que provoca una disminución de los azúcares dentro de los tejidos tratados; Sin embargo, también debe de tomarse en cuenta que el proceso de lavado después del tratamiento seguramente lixivió nutrientes del los tejidos del fruto.

Dentro de los cambios arriba señalados, el contenido de azúcares varió de 4 a 9 g de azúcar por 100g de tejido. Los cuales salen del rango que otros trabajos han indicado como el reportado por García-Velasco, (1997) que indicó un intervalo de 3.8 a 5.5 g por 100 g de tejido mientras que González-Gaona y col., (2002). reportan valores de 8.85g por 100 g de porción comestible de guayaba aunque no indicaron las condiciones del fruto al momento de su análisis.

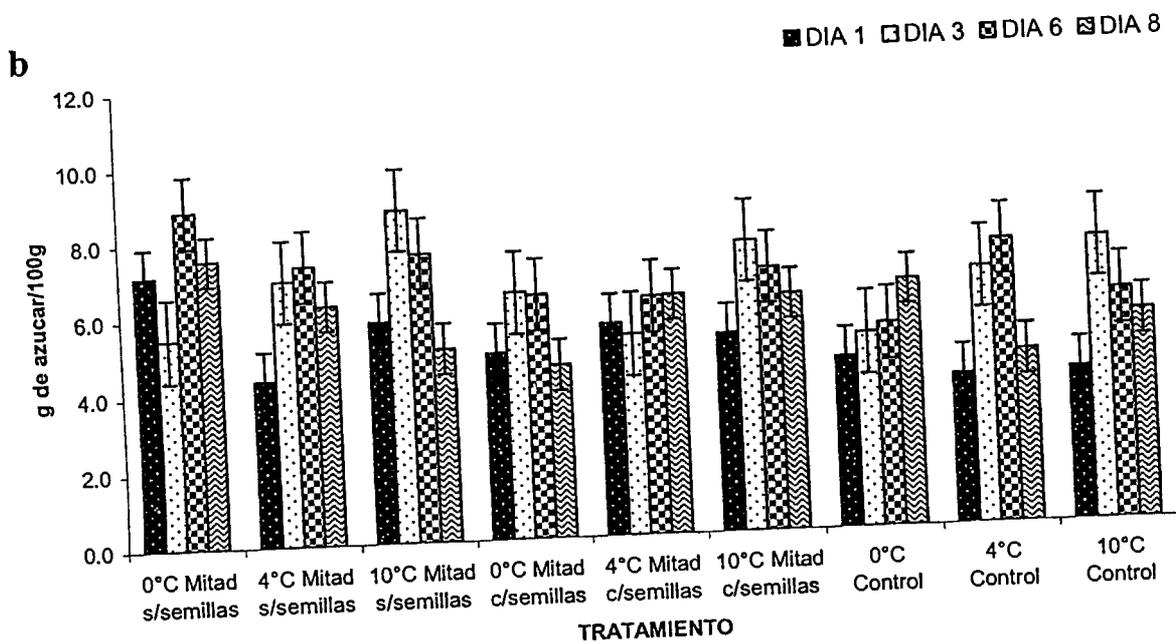
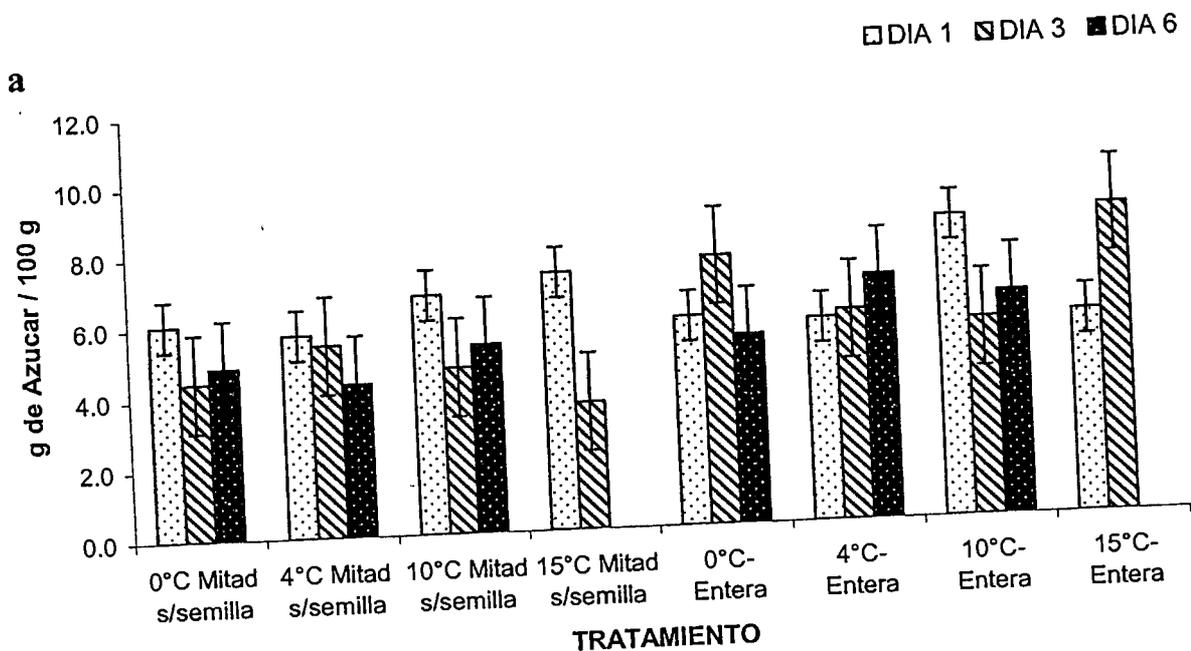


Figura 23. Contenido de azúcares (g de azúcar por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente (a) y sin pelar (b); en mitades con y sin semillas, enteras y frutos intactos (controles) almacenados a diferentes temperaturas.

Cuadro 16. Comparación de medias del **contenido de azúcares** (g de azúcar por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada peladas químicamente, almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6
0	Mitades sin semilla	6.08 ^a	4.60 ^a	5.17 ^a
	Enteras	5.91 ^a	7.73 ^a	5.50 ^a
4	Mitades sin semilla	5.74 ^a	5.60 ^a	4.60 ^a
	Enteras	5.73 ^a	6.05 ^a	7.13 ^a
10	Mitades sin semilla	6.76 ^a	4.88 ^a	5.72 ^a
	Enteras	8.51 ^a	5.74 ^a	6.67 ^a
15	Mitades sin semilla	7.29 ^a	4.06 ^a	
	Enteras	5.70 ^a	9.84 ^a	
Temperatura		NS	NS	NS
Tipo de guayaba		NS	*	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		3.5	6.7	6.3

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 17. Comparación de medias del **contenido de azúcares** (g de azúcar por 100g de muestra) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	7.14 ^a	5.48 ^a	8.85 ^a	7.54 ^a
	Mitades con semilla	4.90 ^a	6.46 ^a	6.38 ^a	4.54 ^a
	Control	4.47 ^a	5.09 ^a	5.31 ^a	6.44 ^a
4	Mitades sin semilla	4.36 ^a	6.95 ^a	7.33 ^a	6.27 ^a
	Mitades con semilla	5.56 ^a	5.27 ^a	6.23 ^a	6.25 ^a
	Control	3.92 ^a	6.71 ^a	7.42 ^a	4.51 ^a
10	Mitades sin semilla	5.80 ^a	8.74 ^a	7.58 ^a	5.06 ^a
	Mitades con semilla	5.19 ^a	7.61 ^a	6.89 ^a	6.17 ^a
	Control	4.01 ^a	7.41 ^a	6.01 ^a	5.45 ^a
Temperatura		NS	NS	NS	NS
Tipo de guayaba		NS	NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS	*
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		3.7	5.3	4.6	3.2

*, ** y *** significativo con $P \leq 0.05$, 0.01 y 0.001 respectivamente; NS no significativo.

Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

5.1.7. CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

En las Figura 24a y 24b se muestran los cambios en el contenido de sólidos solubles totales en las distintas presentaciones de los frutos mínimamente procesados tanto pelados químicamente o no, respectivamente. La simple observación de estas figuras indica que los frutos sometidos al tratamiento térmico alcalino mostraron menores contenidos de sólidos solubles respecto de los que mostraron aquellos frutos que no fueron preparados por este procedimiento. Es importante señalar que los frutos sometidos al tratamiento de pelado alcalino también fueron sometidos a un lavado con lo que se lixiviaron estos componentes.

En los Cuadro 18 y 19 se muestran los análisis estadísticos para observar el efecto de la temperatura, el tipo de muestra y la interacción de ambos factores durante los diferentes periodos de almacenamiento de los dos conjuntos de frutos mínimamente procesados. Los días 1 y 3 no se encontraron diferencias estadísticas significativas para cada uno de los factores y de sus respectivas interacciones. A los seis días de almacenamiento, en los frutos pelados químicamente se encontró un efecto estadísticamente significativo de la temperatura; identificándose que las muestras enteras almacenadas a 10° C mostraron el mayor valor de sólidos solubles (9.8°Brix) mientras que las mitades sin semillas almacenadas a 0° C mostraron el valor mas bajo (7.4°Brix); para ese mismo periodo y en el caso de los frutos no tratados con pelado químico el tipo de muestra fue estadísticamente significativo siendo las mitades sin semillas las que mostraron los valores más altos (13.7 a 14.9°Brix) que también fueron más altos que los frutos pelados químicamente (7.4 a 8.5°Brix). En el día 8 en los frutos sin pelado químico se identificó un efecto altamente significativo de la temperatura y de la interacción temperatura–tipo de muestra observándose que las muestras en mitades sin semilla y control almacenadas a 0° C tuvieron los valores más altos (12.7 a 14.5°Brix) mientras que los controles almacenados a 4° C tuvieron los valores más bajos (9.4°Brix).

Los datos anteriores parecen indicar también que el procesado mínimo sin pelado químico parece ser una mejor opción, ya que mantiene altos los contenidos de sólidos solubles y permite una vida de anaquel mayor (8 días).

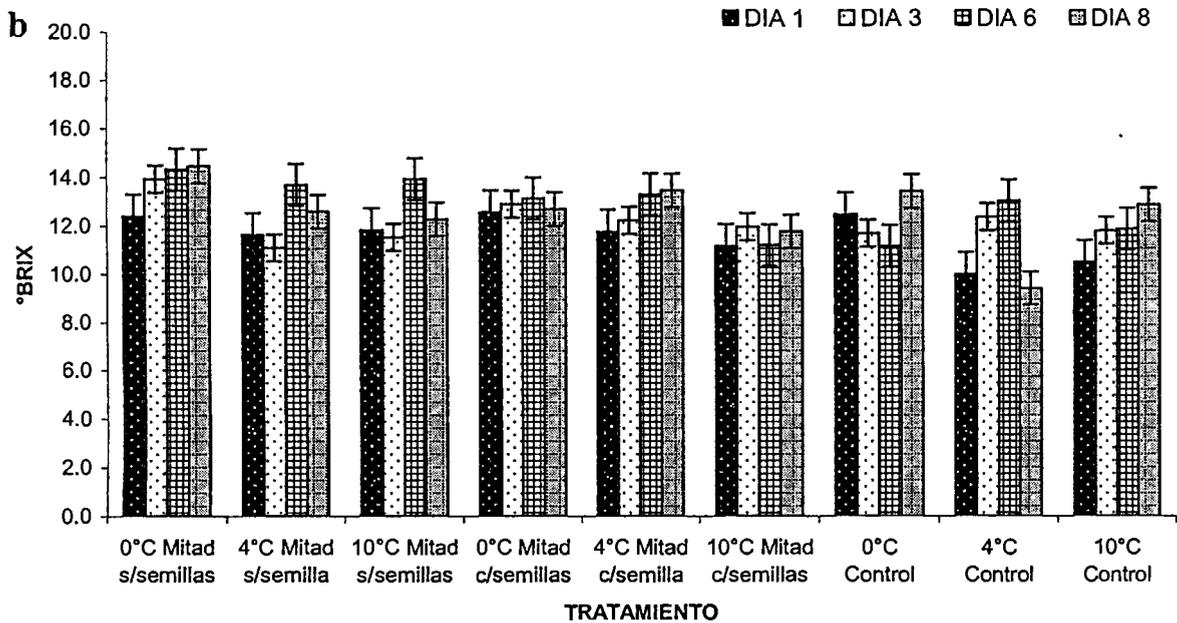
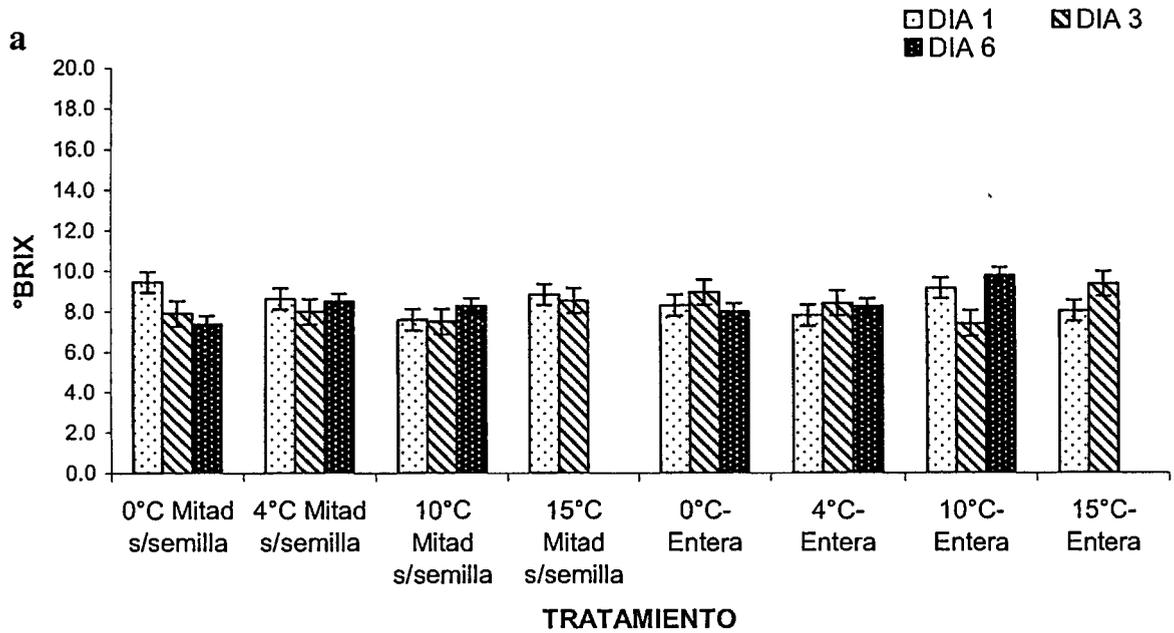


Figura 24. Contenido de Sólidos Solubles Totales (°Brix) de frutos de guayaba mínimamente procesadas pelados químicamente (a) y sin pelar (b); en mitades con y sin semillas, enteras y frutos intactos (controles) almacenados a diferentes temperaturas.

Cuadro 18. Comparación de medias del contenido de **sólidos solubles totales** (°Brix) de frutos de guayaba mínimamente procesada pelada químicamente y almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6
0	Mitades sin semilla	9.46 ^a	7.90 ^a	7.40 ^a
	Enteras	8.30 ^a	8.96 ^a	8.00 ^{ab}
4	Mitades sin semilla	8.63 ^a	8.00 ^a	8.50 ^{ab}
	Enteras	7.80 ^a	8.40 ^a	8.23 ^{ab}
10	Mitades sin semilla	7.60 ^a	7.50 ^a	8.26 ^{ab}
	Enteras	9.13 ^a	7.40 ^a	9.76 ^b
15	Mitades sin semilla	8.83 ^a	8.53 ^a	
	Enteras	8.00 ^a	9.33 ^a	
Temperatura		NS	NS	*
Tipo de guayaba		NS	NS	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		2.5	3.0	1.8

*significativo con $P \leq 0.05$; NS no significativo. Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuadro 19. Comparación de medias del contenido de **sólidos solubles totales** (°Brix) de frutos de guayaba mínimamente procesada sin pelar. Almacenadas a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Tipo de Guayaba	Día 1	Día 3	Día 6	Día 8
0	Mitades sin semilla	12.400 ^a	13.933 ^b	14.333 ^a	14.466 ^b
	Mitades con semilla	12.566 ^a	12.900 ^{ab}	13.133 ^a	12.700 ^{ab}
	Control	12.466 ^a	11.700 ^{ab}	11.166 ^a	13.433 ^b
4	Mitades sin semilla	11.633 ^a	11.100 ^a	13.700 ^a	12.600 ^{ab}
	Mitades con semilla	11.766 ^a	12.233 ^{ab}	13.300 ^a	13.466 ^b
	Control	10.000 ^a	12.366 ^{ab}	13.033 ^a	9.400 ^a
10	Mitades sin semilla	11.833 ^a	11.533 ^{ab}	13.933 ^a	12.266 ^{ab}
	Mitades con semilla	11.166 ^a	11.966 ^{ab}	11.200 ^a	11.766 ^{ab}
	Control	10.500 ^a	11.800 ^{ab}	11.866 ^a	12.866 ^b
Temperatura		NS	NS	NS	*
Tipo de guayaba		NS	NS	*	NS
Temperatura * Tipo de Guayaba		NS	NS	NS	**
D.M.S. Tukey $\alpha \leq 0.05$		4.5	2.7	4.2	3.4

* y ** significativo con $P \leq 0.05$ y 0.01 respectivamente; NS no significativo. Letras diferentes entre filas indican diferencia significativa por Tukey $\alpha \leq 0.05$.

La falta de información respecto de guayaba mínimamente procesada hace difícil hacer comparaciones; no obstante una de las condiciones que se tiene en mente dentro de los productos mínimamente procesados es tratar de que la calidad y composición de los productos sea lo más parecido a los productos intactos. Los valores de los frutos con pelado químico (9.4° a 14.4° Brix) en términos generales se encuentran por debajo del rango mencionado por Benito-Bautista, (2002) quien reporta contenidos de $14.0 \pm 3.0^\circ$ Brix para guayabas intactas de la variedad 'Media China' en madurez de consumo; y de los indicados por Padilla y col., (2003) quienes reportan un rango superior a 12° Brix para 24 selecciones de guayaba; por su parte Murkhejee y Dutta, (1967) y Teaotia y col., (1970) citado por Mercado-Silva, y col., (1998) recomiendan que el contenido de sólidos solubles totales debe estar en un rango entre 13 a 14 en guayabas maduras.

Cabe señalar que nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Ben-Hur y col., (2003) quienes encontraron que el contenido de sólidos solubles en guayaba mínimamente procesada de la variedad 'Pedro Sato' (pelada manualmente y sin pulpa) almacenada a 3°C por 10 días se mantuvo estable a lo largo del periodo de almacenamiento (7.55°Brix).

5.1.8. EVALUACIÓN SENSORIAL

Una de las ventajas de la evaluación sensorial, es que permite estimar la aceptabilidad de un producto con marca diferente respecto de otros existentes o evaluar el impacto de un producto nuevo en las preferencias de los posibles consumidores. No obstante, tanto las características de las muestras a evaluar así como de las muestras de referencia contra las que se que desee comparar los productos son aspectos sumamente importantes para poder sacar conclusiones útiles del análisis aplicado. Para el caso de guayaba mínimamente procesada, obtenida por pelado químico y dado que no hay el producto en forma comercial, se decidió comparar las muestras almacenadas con otras recién procesadas (RP) en el supuesto que en esta condición las características (aunque disminuidas por el proceso) estarían en una condición mayor que las muestras almacenadas . Como se indicó en la sección de métodos, las estimaciones asignadas conforme a una escala hedónica preestablecida permitieron indicar un valor de 6 como límite para la aceptabilidad de los productos.

Las Figura 25, 26, 27 y 28 muestran las evaluaciones de color y aroma; sabor y textura; apariencia y granulosis así como aceptabilidad general respectivamente. De forma general, las muestras que fueron recién preparadas tuvieron una calificación aceptable que superó a las muestras almacenadas por 8 o 10 días de almacenamiento; indicándose con esto que el pelado químico y su posterior almacenamiento a diferentes temperaturas afectaron drásticamente la calidad sensorial de las muestras lo que corrobora que este procedimiento de pelado no es adecuado para este tipo de producto.

Tratando de identificar algunos aspectos que ocurrieron en el procesado mínimo por pelado químico; las muestras en mitades sin semilla almacenadas a 0 y 10°C tuvieron calificaciones aceptables y las muestras enteras fueron las que obtuvieron las puntuaciones más bajas (Figura 25b). La razón por la que este procesado mínimo afectó negativamente el aroma de la guayaba puede deberse al efecto de lixiviación de compuestos durante el lavado o a la inactivación metabólica que afectó la producción de etileno, lo que provocó que los procesos de generación de aromas se inhibieran dando como resultado una baja calidad sensorial en este parámetro.

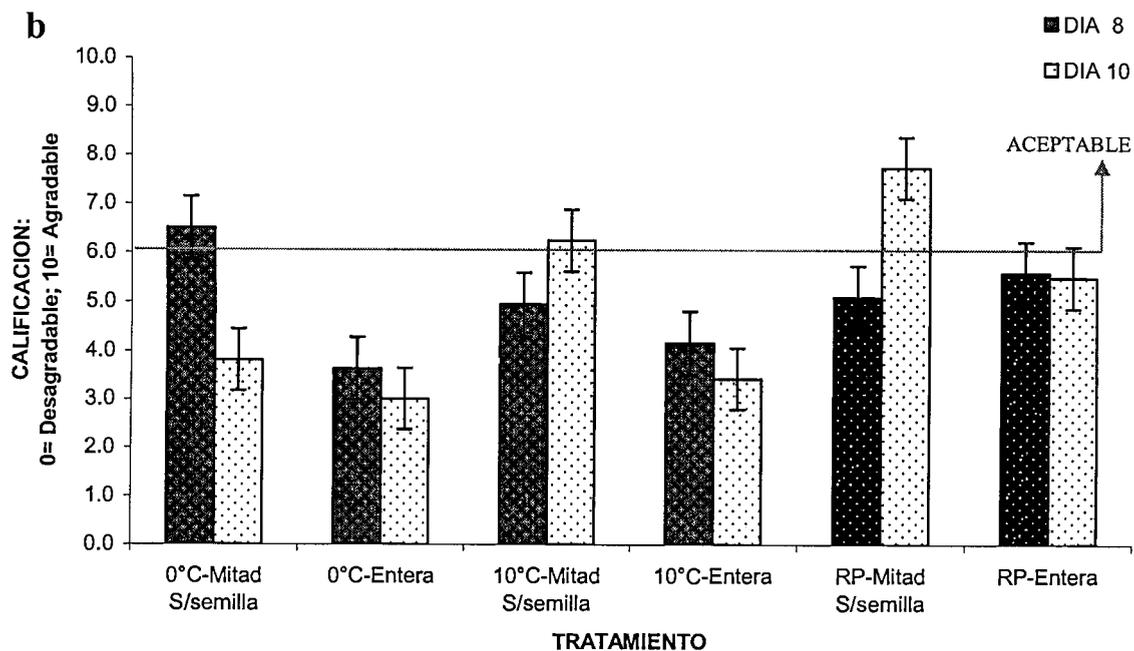
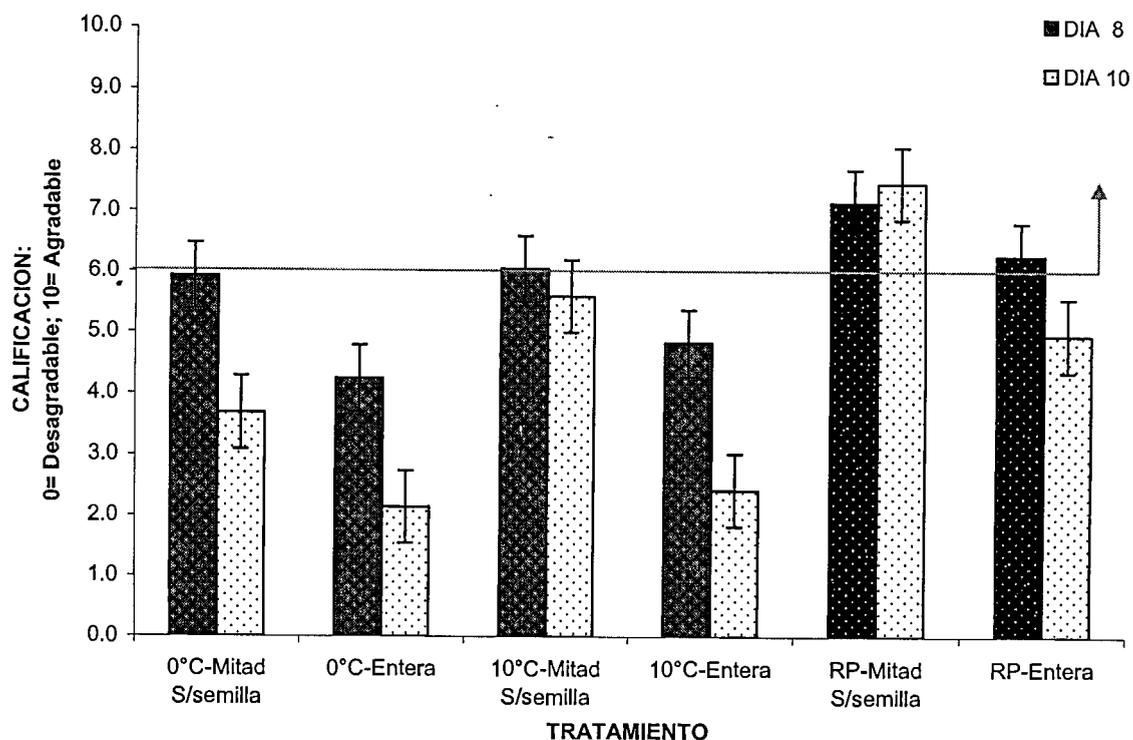


Figura 25. Evaluación sensorial de color (a) y de aroma (b) de frutos de guayaba sometidos a pelado químico y almacenados a 0° y 10°C comparados con guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente el día de la evaluación sensorial (RP = Recién procesadas).

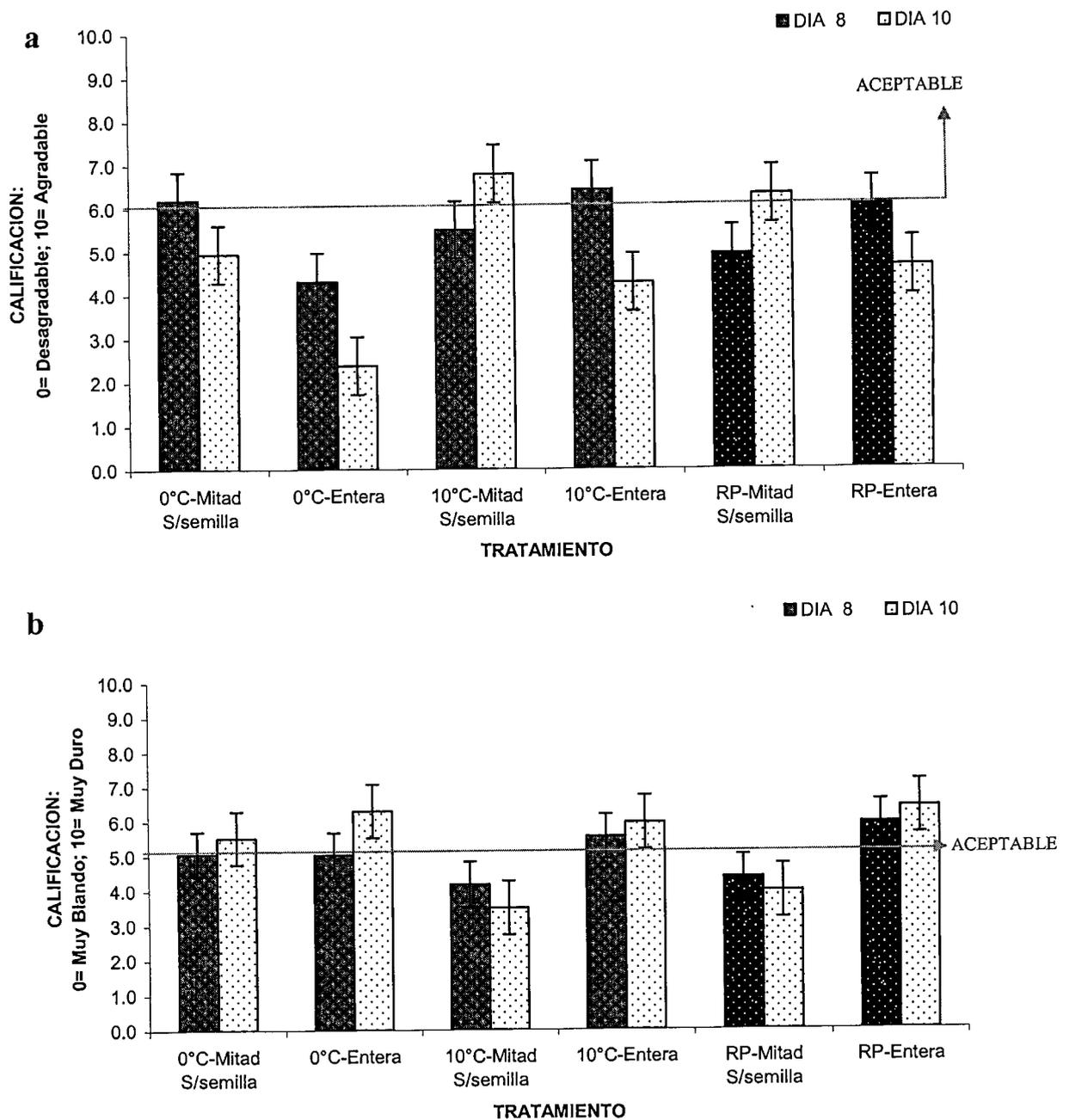


Figura 26. Evaluación sensorial de sabor (a) y de textura (b) de los frutos de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente, almacenados a 0° y 10° C comparadas con frutos mínimamente procesados el día de la evaluación sensorial (RP = Recién peladas).

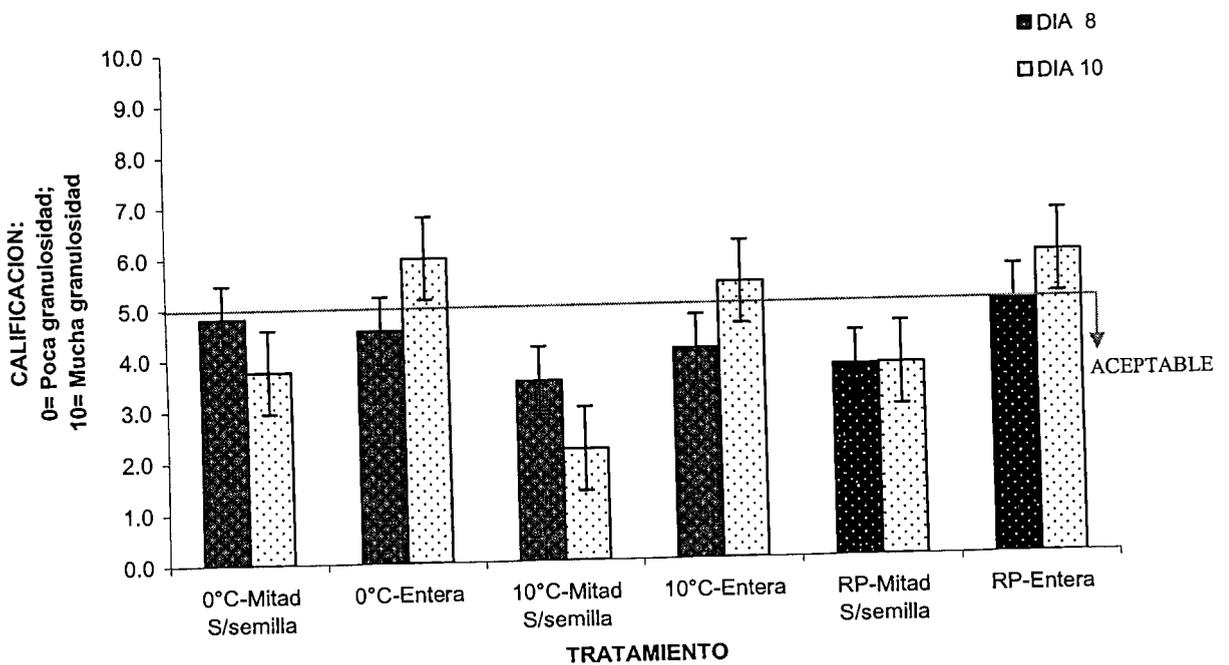
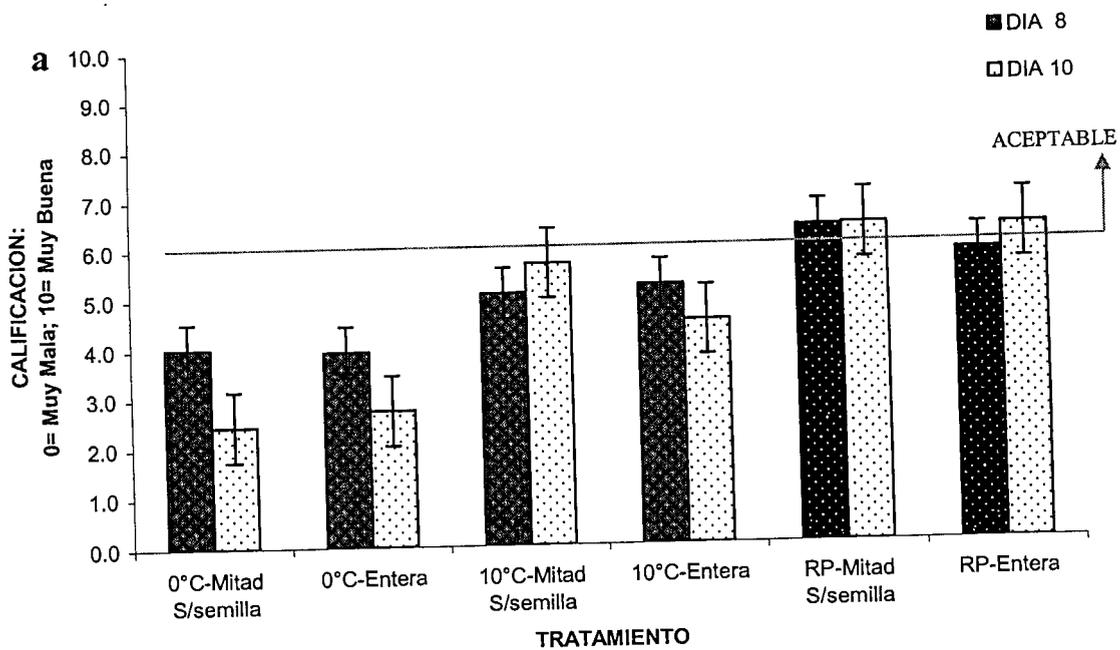


Figura 27. Evaluación sensorial (a) de apariencia y (b) de granulosidad de los diferentes tratamientos de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente almacenadas a 0° y 10° C, comparadas con guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente el día de la evaluación sensorial (RP = Recién peladas).

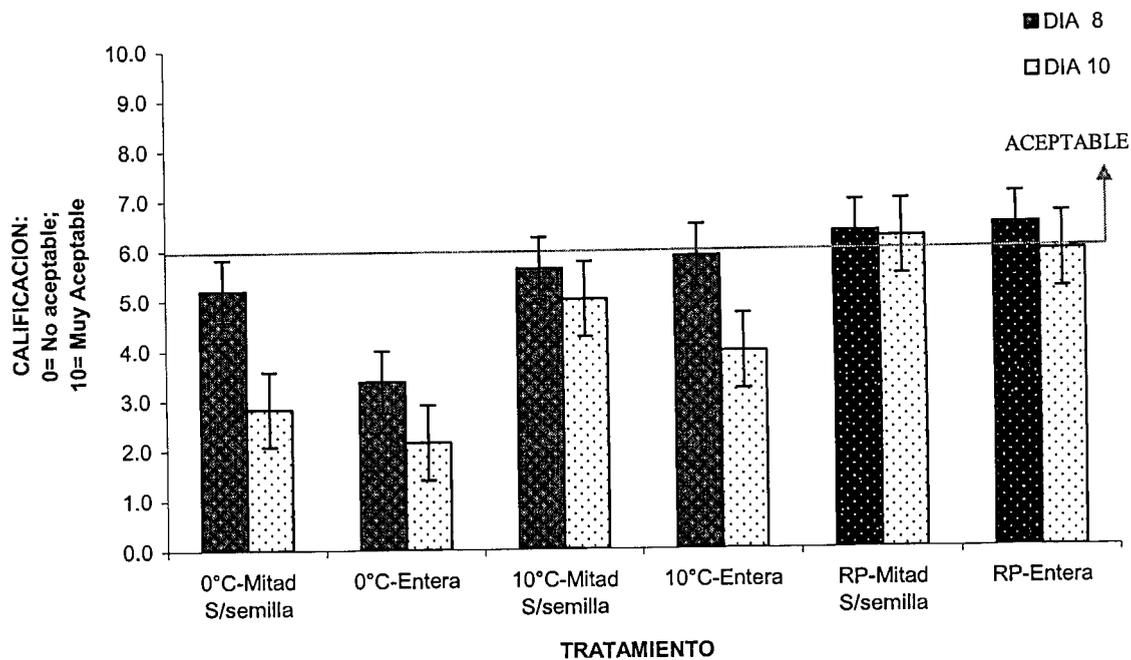


Figura 28. Evaluación sensorial de aceptabilidad general de los diferentes tratamientos de guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente, almacenadas a 0° y 10° C comparadas con guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente el día de la evaluación sensorial (RP = Recién peladas).

El sabor de las muestras recién procesadas (RP) solo obtuvieron calificaciones de agrado (Figura 26a), señalándose que el pelado químico le dio un ligero sabor a cocido.

La textura evaluada como el grado de firmeza de las muestras; fue mayor en las muestras enteras, y menor en las muestras en mitades sin semilla cuyo grosor no rebasaba 1cm (Figura 26b) se supone que una estructura más intacta mantiene de una mejor forma la firmeza del tejido y que en aquellas muestras más dañadas mecánicamente tendrían una menor resistencia.

Un parámetro muy importante es la primera impresión del consumidor ante un producto alimenticio nuevo y la decisión de consumirlo o no, se basa en la apariencia del mismo. En la Figura 27a se muestran los resultados de la evaluación sensorial de la apariencia de las guayabas mínimamente procesadas peladas químicamente, se puede observar que solamente las muestras recién procesadas mostraron calificaciones aceptables y ninguna de las muestras almacenadas alcanzo la aceptabilidad mínima, esto se debió probablemente a la pobre presentación del producto ante los jueces, por lo que dichas calificaciones se podrían mejorar si se presentara el producto en mayor cantidad o en combinación con otros productos como podría ser una ensalada de frutas.

Como era de esperarse las muestras de guayaba mínimamente procesadas peladas químicamente enteras, se presentaron calificaciones mayores en el parámetro de granulosidad debido al contenido de semillas y solo las muestras en mitades sin semilla almacenadas a 0° C por 8 días presentaron calificaciones apenas superiores a la indiferencia de dicho parámetro (Figura 27b), es deseable que las muestras presenten poca granulosidad debido a la sensación uniforme que se desea al paladear, de aquí que el mejor tratamiento en calificación fue las mitades sin semilla almacenadas a 10° C; además podemos observar que en muestras de guayaba recién procesadas (RP) en mitades sin semilla también presentaron calificaciones de menor granulosidad.

La evaluación sensorial permitió además determinar la aceptabilidad general del producto de guayaba mínimamente procesada pelada químicamente. En la Figura 28 se

observa que el producto recién procesado fue aceptado tanto en guayabas enteras como para mitades sin semilla, además se observó que las guayabas a 10° C tanto enteras como en mitades sin semilla fueron apenas aceptadas al octavo día de almacenamiento, sin embargo, las guayabas mínimamente procesadas en mitades sin semilla al octavo día de almacenamiento presentaron calificaciones apenas superiores a la indiferencia, lo que se contradice un poco con los parámetros sensoriales de color, aroma, sabor, textura y granulosidad, donde es aceptable este tipo de productos. Consideramos que la pobre calificación en la aceptabilidad de los frutos de guayaba mínimamente procesados pelados químicamente en mitades sin semilla se debió a que es un producto nuevo, y no se tiene referencia de comparación, al no estar acostumbrado a observarlo y compararlo, o simplemente el rechazo pudo ser debido a la pérdida de humedad del fruto, ya que en la observaciones de las encuestas a los jueces, se mencionó que el producto se encontraba un poco reseco, mismo que se debió al almacenamiento.

En general los parámetros de la evaluación sensorial presentaron mayor aceptación a los ocho días de almacenamiento y menores calificaciones después de diez días de almacenamiento tanto a 0° C como a 10° C para los frutos en mitades sin semilla. Cabe señalar que la textura de los frutos mostró mayor dureza con el almacenamiento debido a la pérdida de humedad del fruto.

Con otros objetivos Mercado-Silva y col., 2003 determinaron el efecto de la temperatura de conservación de frutos de guayaba en estado de madurez cambiante (verde amarillento), almacenándolos a $20\pm 3^{\circ}$ C y 65% HR y a 4 y 10° C a 85-90% HR haciendo transferencias cada semana a temperatura ambiente por tres días. El análisis estadístico de los parámetros de evaluación sensorial mostró que el color, aspecto, aroma y sabor fueron afectados por la temperatura, el tiempo de almacenamiento y la madurez del fruto, además la baja temperatura evitó el desarrollo del color y de los atributos del aroma. Estos resultados aunque no son de frutos mínimamente procesados permiten ver que también los resultados de la evaluación sensorial de los parámetros de color, aroma, sabor, textura, apariencia y aceptabilidad se vieron afectados con la temperatura de almacenamiento.

Algunos datos de interés son que hoy en día el mercado para consumo en fresco y para la industria prefiere frutos con excelentes cualidades sensoriales, con alto porcentaje de pulpa, bajo contenido de semillas y tamaños grandes (Padilla y col., 2003); que la temperatura recomendada para almacenar productos mínimamente procesados es 0° C, con ello se ayuda a mantener la calidad, textura, baja incidencia de microorganismos y por lo tanto se alarga la vida de anaquel del producto, sin embargo muchos de ellos son transportados a 5 y hasta 10° C (Watada y col., 1996 citado por Ramírez, 2000); por su parte Aquino-Bolaños, (1998) indico que a menor temperatura existió una menor pérdida de calidad en jícama mínimamente procesada. Además entre los consumidores la apariencia es uno de los factores mas importantes para la adquisición de un determinado producto vegetal en los supermercados (Ben Hur & Durian, 2001). Por lo que de los resultados de la evaluación sensorial el tratamiento con más posibilidades de comercialización serian las mitades sin semilla.

5.2. ESTUDIO DE LA MADURACIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE ETILENO EN GUAYABA.

5.2.1. TASA DE RESPIRACIÓN

La tasa de respiración ($\text{mL de CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$) a temperatura ambiente ($20 \pm 3^\circ \text{C}$), de los diferentes estados de madurez indicó un pico climatérico entre los estados séptimo y décimo (Figura 29), ubicándose el valor máximo en el noveno estado de madurez. Los valores de la tasa de respiración obtenidos para el pico climatérico fueron de entre 59 y 95 $\text{mL de CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ mismos que fueron similares a los reportado por Akamine y Goo, (1979) quienes señalaron picos climatéricos de entre 50 y 70 $\text{mL Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ para frutos de guayaba del cultivar *Psidium* especie *Eugenia*, mientras que Benito-Bautista, (2002) señaló valores de entre 85 y 125 $\text{mg Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ para frutos de guayaba cosechados en el periodo de otoño-invierno y almacenados a temperatura ambiente.

Con estos resultados se puede afirmar que la guayaba (*Psidium guajava* L.) cv 'Media China' presenta un patrón de respiración climatérico. Lo que esta de acuerdo con lo reportado por Mercado-Silva, Benito-Bautista y García-Velasco, (1998) autores que también indicaron que el crecimiento de los frutos de guayaba muestra una curva doble sigmoide con 3 estados característicos de madurez. En el estado I hay un rápido incremento del diámetro y peso del fruto; el estado II se caracteriza por pequeños cambio en el diámetro y peso, y en el estado III el fruto alcanza su tamaño final, es justamente en esta última etapa donde los principales cambios fisiológicos del fruto (de interés en poscosecha) pueden ocurrir.

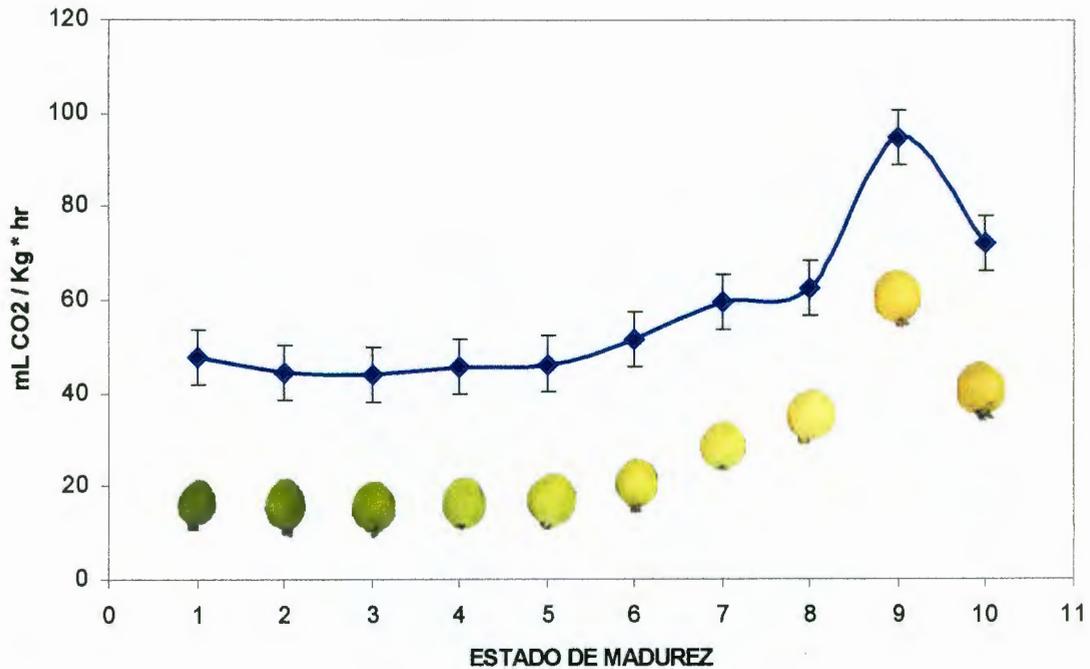


Figura 29. Tasa de respiración de frutos de guayaba en diez diferentes estados de madurez de guayaba establecidos en base al cambio de color.

5.2.2. PRODUCCIÓN DE ETILENO

La producción de etileno ($\mu\text{L Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$) a temperatura ambiente ($20\pm 3^\circ\text{C}$), presentó el pico climatérico al igual que la tasa de respiración entre el séptimo y el décimo estado de madurez (Figura 30), obteniendo el valor máximo en el noveno estado de madurez. Los valores de producción de etileno obtenidos para el pico climatérico fueron de entre 2 y 18 μL de etileno $\text{Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$. Akamine y Goo, (1979) reportaron picos climatéricos de entre 1 y 5 μL de etileno $\text{Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ en frutos de guayaba, mientras que Benito-Bautista, (2002) encontró valores de entre 13 y 27 μL de etileno $\text{Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ para la producción de etileno en frutos de guayaba cosechada en otoño invierno indicando que los frutos de guayaba ‘Media China’ muestran niveles altos en producción de etileno.

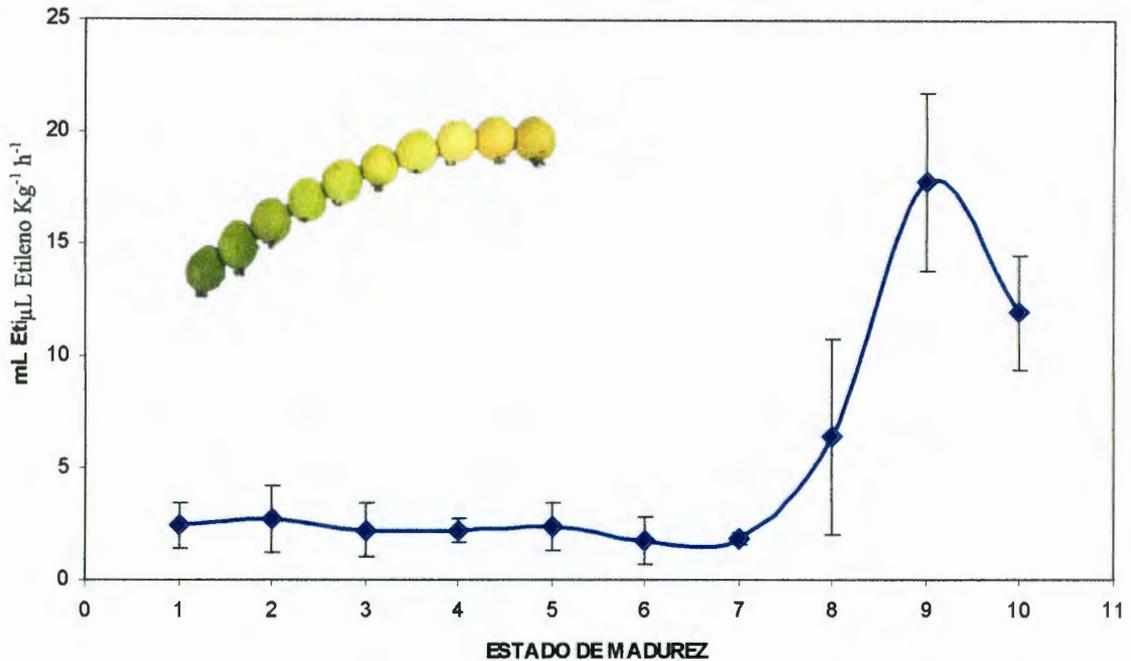


Figura 30. Producción de Etileno ($\mu\text{L Etileno Kg}^{-1} \text{hr}^{-1}$) de diez diferentes estados de madurez de guayaba establecidos a base del cambio de color.

Basados en los incrementos poscosecha de la velocidad de producción de CO_2 (dióxido de carbono) y etileno se puede concluir que las guayabas presentan un patrón de respiración climatérico.

5.2.3. CAMBIO DE COLOR

El color expresado como el índice de matiz (Hue) en guayaba permitió observar que dicho índice disminuye con la maduración del fruto de guayaba (Figura 31). Debido a que valores de Hue de mayor a menor van del verde al amarillo respectivamente. Los valores de Hue encontrados variaron desde 111° a 86° (Figura 31) desde el primer al décimo estado de madurez respectivamente, mismos que se encuentran dentro de lo reportado por Benito-Bautista, (2002) quien señaló valores de Hue de $105 \pm 5^\circ$ para frutos de guayaba verde maduro

apropiado para la cosecha, lo que concuerda con el estado de madurez cuatro (Figura 31) que representa el color verde maduro en nuestras muestras, con esto también nos damos cuenta de que el color externo del fruto es un buen índice de madurez.

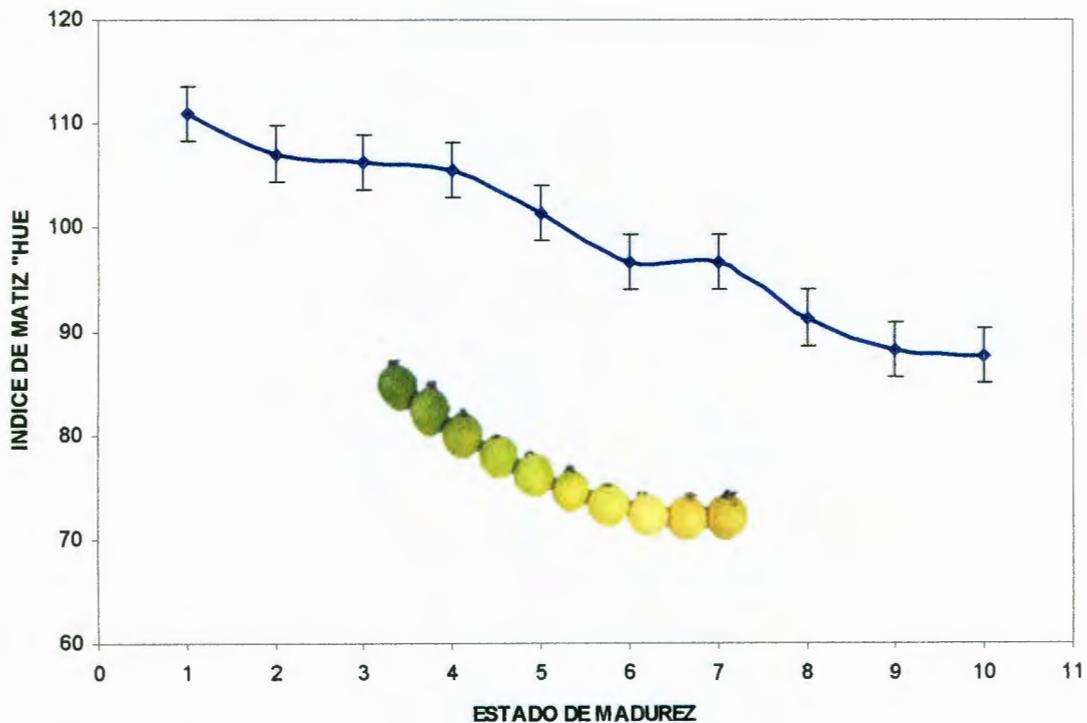


Figura 31. Índice de matiz Hue (H°) de los diferentes estados de madurez de guayaba cv. 'Media China'. Desde verde hasta amarillo maduro.

Por su parte el color expresado en el parámetro a^* que va de rojo a verde pasando por el amarillo nos permitió observar el cambio de color durante la maduración de los frutos de guayaba (Figura 32).

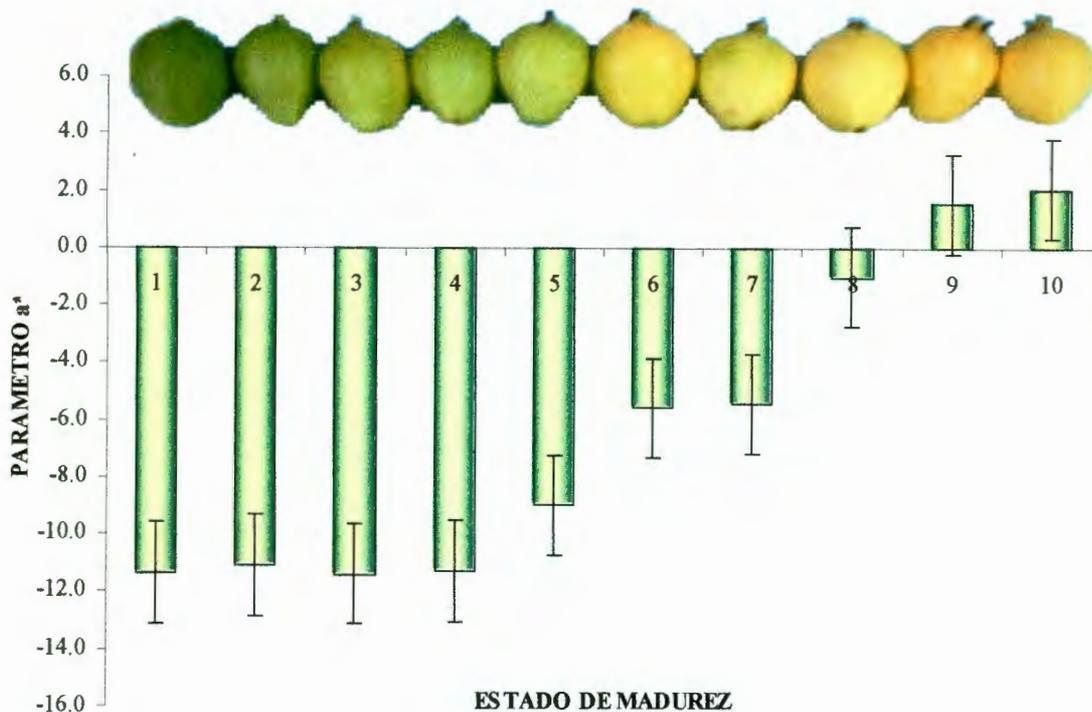


Figura 32. Valor a* de color de frutos de guayaba en diez diferentes estados de madurez. .

5.2.4. AISLAMIENTO DE ARN TOTAL DEL TEJIDO DE GUAYABA

Una vez obtenido el ARN total de cada muestra como se indica en el apartado de métodos, se midió la concentración del mismo por densidad óptica a 260 nm, se ajustó su concentración a $2.0 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ y se verificó la integridad de la molécula por electroforesis en gel de agarosa al 1%. La Figura 33 muestra la electroforesis en gel de agarosa del ARN total del mesocarpio de los frutos de guayaba de los 10 diferentes estados de madurez estudiados; la presencia de las bandas características 18S y 28S y la ausencia de otras bandas en los carriles durante la corrida de las muestras (no contaminación por DNA) indicó una adecuada integridad del RNA extraído de los tejidos.

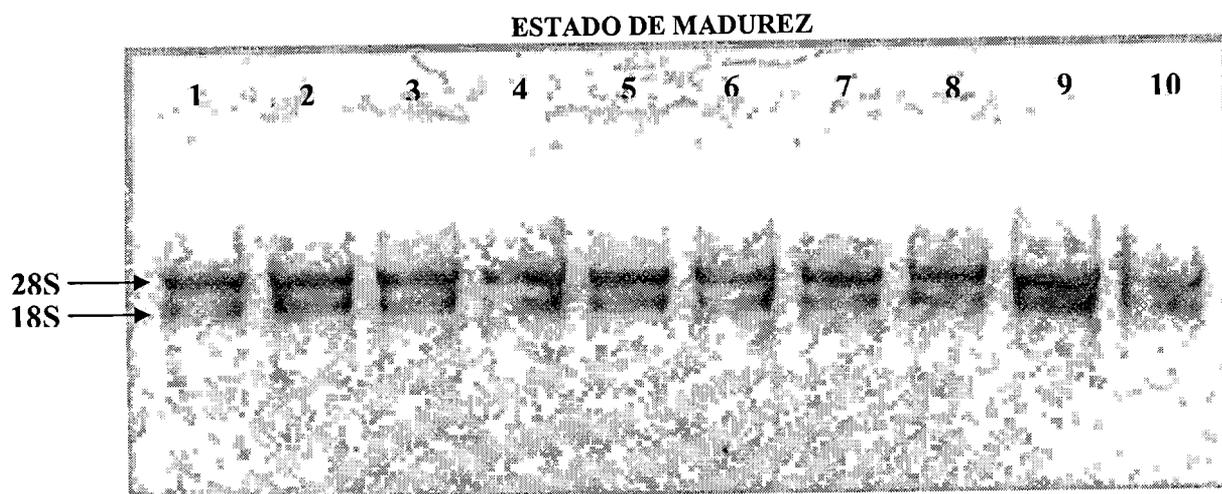


Figura 33. Verificación de integridad de la molécula de ARN total de mesocarpio de guayaba en gel de agarosa al 1% de 10 diferentes estados de madurez. Se analizó 1 μL de ARN a una concentración de 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Los números indican los diferentes estados de madurez donde 1 es verde y 10 es maduro.

5.2.5. TRANSCRIPCIÓN REVERSA-REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RT-PCR)

Una vez extraído el ARN se prosiguió a realizar la Transcripción Reversa (RT) como se indicó en la sección 4.3.9.1 de métodos para obtener el cADN. Con el fin de obtener una buena amplificación en PCR inicialmente se realizó un gradiente de temperatura de hibridación de 45° a 55° C (el cADN se desnaturalizó a 94.0° C por 2 min; 40 ciclos de 1 min a 94° C, 1 min a Temperatura de hibridación y 1.5 min a 72° C, después 10 min mas a 72° C y se bajó la temperatura a 4° C) con el objeto de seleccionar la mejor temperatura de hibridación de los primers, la cual sería la que presentara la mejor señal en la electroforesis en gel de agarosa, los controles positivo y negativo se colocaron a la misma temperatura de hibridación (55° C) en el Termociclador para la amplificación en PCR. La Figura 34 muestra la fotografía del gel de agarosa al 1% para el gradiente de temperatura, de ahí se observa que el carril 12 (control positivo) dio una buena señal, no obstante en el control negativo y en las en las muestras de ARN de guayaba no se observó amplificación por PCR, el experimento fue

repetido varias veces obteniendo los mismos resultados, por lo que se decidió tomar como temperatura de hibridación la de 50° C reportada por Sato-Nara y col. (1999), quien utilizó esta temperatura de hibridación para la amplificación en PCR de melón para los primers (mismos que nosotros utilizamos) derivados de la secuencia de Arabidopsis y Tomate (*Lycopersicon esculentum*). Las secuencias de los primers (Sato-Nara y col., 1999) degenerados fueron las siguientes:

*Primers 1: 5' CCGGAATTCGCAGTTTGGWGCYTTTAT 3'

*Primers 2: 5' CGCGGATCCCATCTTCNARYCTAGAAA 3'

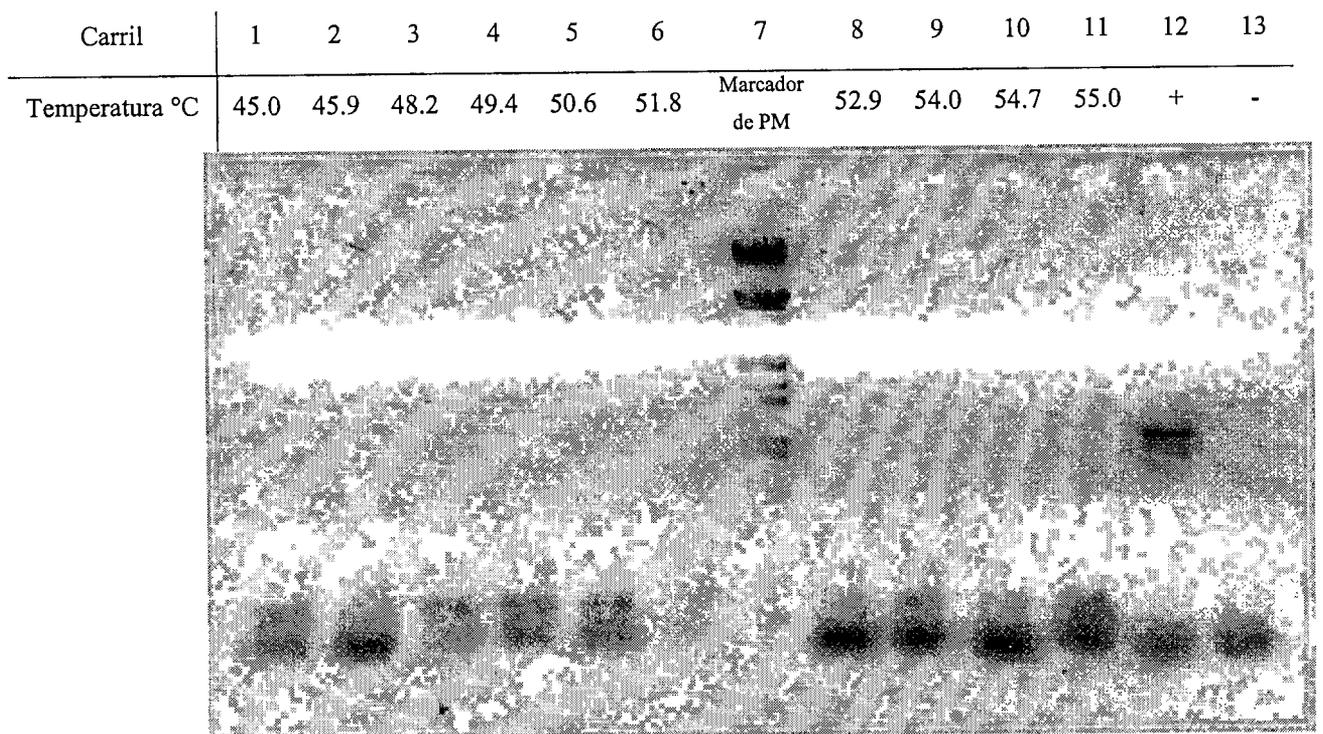


Figura 34. Gradiente de Temperatura en PCR de ARN de guayaba.

5.2.6. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Una vez elegida la temperatura de hibridación (50° C) en base a lo reportado por Sato-Nara y col., (1999) como se indicó en la sección anterior, se realizó la amplificación por PCR (sección 4.3.9.4 de métodos). La Figura 35 muestra la electroforesis del gel de agarosa al 1% del RT-PCR de ARN de muestras de guayaba en 10 diferentes estados de madurez, en la que se aprecia solamente una banda del control positivo (Figura 36) que presentó amplificación de un fragmento de aproximadamente 1375bp, mientras que ninguno de los ARN de guayaba en los diferentes estados de madurez ni el control negativo presentaron amplificación. Cabe señalar que se hicieron varias corridas de RT-PCR para tratar de amplificar el gen receptor de etileno en guayaba, pero no fue posible identificarlo. En la Figura 37 se muestra otro resultado con amplificación negativa, cuya temperatura de hibridación (55° C) fue la única que se cambió durante la amplificación (PCR).

Mientras que Sato-Nara y col., (1999) aislaron dos ADNc de melón homólogos al gen receptor de etileno de *Arabidopsis* (ETR1 y ERS1), por medio de RT-PCR usando primers derivados de la secuencia de nucleótidos del gen receptor de etileno para *Arabidopsis* y tomate (*Lycopersicon esculentum*), amplificaron fragmentos de ADNc de 1 Kb de longitud los cuales fueron 72% y 73% idénticos a las secuencia de los genes ETR1 y el ERS1 de *Arabidopsis*, lo que indicó que estos fragmentos amplificados son un fragmento parcial de un ETR1/ERS1 homólogo. Por su parte Nakatsuka, y col., (1998) extrajeron ARN y aplicaron RT-PCR para amplificar la secuencia utilizando primer degenerados (obtenidos de la secuencia de nucleótidos del gen receptor de etileno Nr). Estos autores mencionan que la abundancia del ARNm en frutos de tomate en estado preclimático (frutos inmaduros y verde maduro) es muy baja e incrementa repentinamente en el estado rompiente (primer aparición del color rosa) y se mantiene una fuerte señal durante la maduración, mismo que está asociado con el incremento en la producción de etileno, lo que indica que el ARNm de Nr en frutos de tomate es posiblemente regulado por el etileno. Estos dos autores con sus colaboradores lograron aislar fragmentos del gen receptor de etileno en melón y tomate respectivamente por medio de RT-PCR, por lo que creemos posible que en posteriores investigaciones y probando diferentes

condiciones para la técnica u otras técnicas, se pueda obtener una respuesta positiva para el receptor de etileno en guayaba.

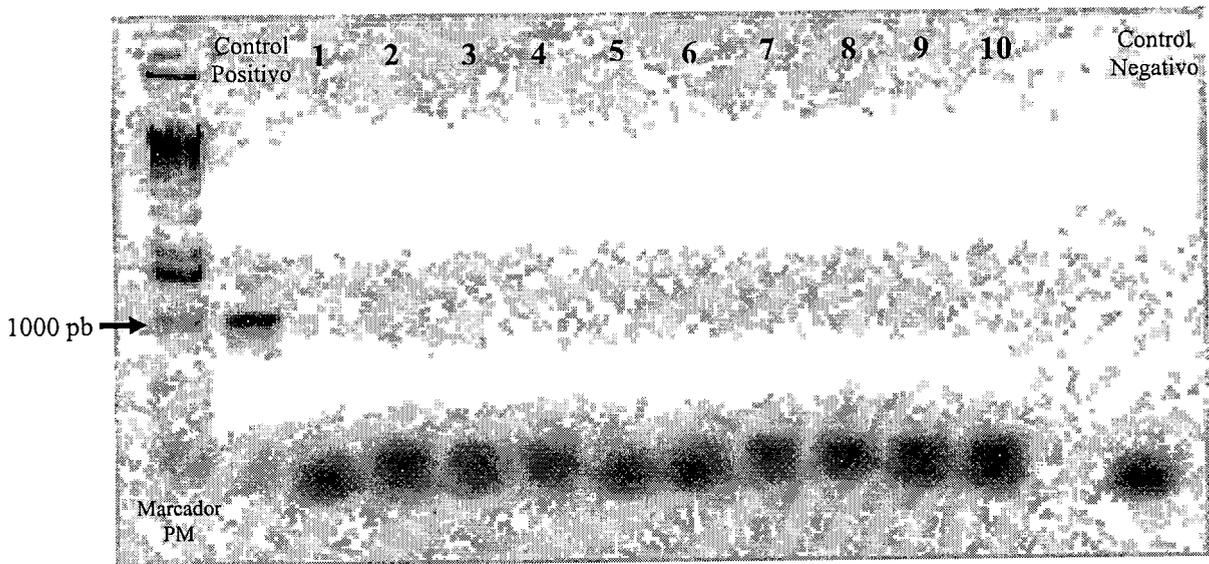


Figura 35. RT-PCR de ARN de guayaba de 10 diferentes estados de madurez (donde 1 es verde y 10 es amarillo maduro, serie B) utilizando 50° C como temperatura de hibridación para la amplificación.

Gutiérrez-Martínez, (2001) realizó experimentos para identificar el gen receptor de etileno en mango (Mi-ETR) en diferentes estados de madurez indicando que es difícil explicar por que el Mi-ETR es indetectable en madurez fisiológica. Por lo que propone dos posibilidades: 1.- Los bajos niveles del receptor son suficientes para que tejido sea capaz de madurar, o alternativamente 2.- Un miembro diferente de la familia de receptores de etileno en frutos de mango, pudiera ser responsable para la percepción inicial del etileno y disparar la maduración en frutos en madurez fisiológica (verde). Por su parte Payton, y col., (1996) aislaron un gen receptor de etileno ETR1 homólogo que participa en la maduración de tomate, cuya expresión se examinó en pericarpio de fruto, pétalos de flores y zonas de abscisión. Por ensayos de Protección de Ribonucleasas mostró que el ARNm del tETR fue indetectable en frutos inmaduros o en pre-senescencia de flores, incrementando abundantemente durante el inicio de la maduración y senescencia de las flores, mencionando que fue difícil de explicar el

por qué el tETR es indetectable en estado verde maduro del fruto de tomate. A lo que dan dos posibilidades: la primera que los niveles indetectables del receptor son suficientes para que el tejido sea capaz de madurar y los niveles del receptor se eleven masivamente cuando la producción de etileno alcanza niveles del umbral, o la segunda que el ETR1 puede ser responsable para iniciar la percepción de etileno y activar la maduración en frutos de tomate en estado verde maduro.

Por lo que se propone que en guayaba pueda ocurrir algo similar es decir que los niveles del receptor de etileno que fueron indetectables sean suficientes para madurar el tejido lo cual podría formar parte de las razones por las cuales no fue posible identificar y amplificar el gen receptor de etileno por medio de las condiciones utilizadas en la trascrición reversa y en la amplificación (PCR).

El conocimiento del papel específico que juega el etileno en la maduración de guayaba permitiría dar recomendaciones sobre el mejor manejo del fruto (García Velasco, 1997). Por lo que recomendamos seguir investigando acerca del papel que juega el etileno en la maduración de guayaba y su relación con los receptores de etileno.

ATAATGTTATGGGCAACGAGTTTCTCGTGCCGAATTTGGCCAGGAGGAGATCTCGAAGTGGGTCTCATGTGGTCTCATGAATGTT
 CACCGAGCTTCAAGGCTTGGAAATATGAGTGTCCAAACCCCTTATGGACCTACTGGAAAGATACAAAATATAAATCTATTGGGGCATGT
 M E S C N C I E P Q W P A D E L L M
 AAAGGAGTAAGTAACAGCTGAGGTGGTTCAATCAAGATGGAGTCTTGCACCTGCAATTGAGCCACAATGGCCAGCTGATBAATGTTGAT
 K Y O Y I S D F F I A I A Y F S I P I E L L Y F V K K S A V
 GAAGTATCAATATATTTCCGATTCTTCAATGGCACTTGTATTATTTTCGATTCTCTAGAGCTGATCTACTTTGTGAAGAAATGCTGCTGT
 F P Y R W V I V O F G A F I V I C G A T H L I N I W T E S M
 GTTCCATATAGATGGGTCTGTCAGTGTGGCTTTCATAGTTTGTGTGGGGCAACACATCTTATAACTTGTGGACTTTTAGTAT
 H S R T V A I V M T T A K V F T A A V S C A T A I M I V H I
 GCATTCAAGAACTGTGGCAATAGTAATGACCACTGCCAAGGTTTCACTGCTGTGTCTTGTGCGACGGCCCTTATGCTGCTGATAT
 I P D I S V K T R E L F L K N K A A E L D R E M G L I R T
 AATTCCTGATCTGTTAAGTGTAAACAAAGAGAATATTTTGAACAAAGGCTGCAGAACTTGATAGAGAAAATGGCCCTGATCCGCA
 H E E T G R H V R M L T H E I R S T L D R H T I L K T T L V
 ACACGAAAGAACCGGTGGCAGTGTAGGATGTTGACGCGATGAGATCAGAAGCACTTTGGATAGACATACCATACTAAAGACCACTTGT
 E L G R T L A L E E C A L W M P T O T G L E L Q L S Y T L H
 CGAATTTGGAAAGAACTTTGGCACTGGAAGAGTGTGCCTTATGGATGCCAGCGCAAACTGGTTTAGAGCTTCAACTCTACACACTTCA
 O N P V G Y T V P I O L P V I S Q V F T S N H A V K I S P
 TCAACAGAACTCGTGGTATACTGTGCCATCCAACTTCTGTGATCAGTCAAGTATTCACCGCAATCATCGCGTAAAGATATCACC
 N C P V A R L R P L A G K Y M P G E V V A V R V P L L H
 AAATGTCAGTGGCTAGGTTAAGCCCTTTCGAGGAAAATATATCCGTGGCGAGGTGGTGTGTGTGTGCTTCCACTCTACATGAT
 N F Q I N D W P E L S T K R Y A L M V L M L P S D S A R O W
 AAATTTCAAATTAATGATTGGCCAGAACTTTTACAAAACGCTATGCTTTGATGGTGTGTTGATGCTTCCCTCAGATAGTGCAGGCGAGT
 H V H E L E L V E V V A D Q V A V A L S H A A I L E S M R
 GCATGTCCATGAGTTGGAACCTGTTGAAGTGGTGTGATCAGGTGGCTGTGCTTTTACATGCTGCCATCTTAGAGGAGTCAATGAG
 A R D L L V V Q N I A L D R A R R E A E T A I C A R N D F L
 AGCAAGGCACTCTTCTGTGGTGCAGAAATATGCGGCTGACCGTGCAGAAAGAGAAGCAGAAACAGCCATTTGTGCTCGTAATGATTTCT
 S V I M N N H E M R T P M H A I I A L S S L L O E T E L T P E Q
 GTCCGTTATGAACCATGAATGAGAAGTCCAAATCCATGCCATGCGATTCGCCCTTCTTCTTACTGCAAGAACTGAGTGGACCCCTGAGCA
 R L M V E T I L K S G N L L A T L I N D V L D L S R L E D G
 GCGACTGATGGTGAACAATTTAAGAGCGGTAATCTCTAGCTACTCTAATAAATGATGATTAGATCTTCAAGGCTTGAAGATGG
 S L O L O L G T F N L H A V F K E V L N L I K P I A S V K K
 TAGCCCTACAACCTGCAACTTGAACCTTTAACCTTCATGCTGTATTTAAAGAGGTGCTTAACTGATCAAACTTATGCACTGAGTCAAGAA
 L L V A L N L A P D L P E V A V G D E K R L M O T L L N V V
 GTTGTCTGTGTCATTGAATTTGGCTCTGATCTTCTGAAATGCTGTGGCGATGAAAAACGCTTAAATGCAAACCTCTTAAATGTTGT
 G N A V K F T K E G N I L I T A F V A K S E S F L D S R T P
 TGGTAATGCTGTGAAATCACAAGAGAGGGCAACATCTTAATCACTGCTTTTGTGCAAAATCAGAACTTTTCTAGATTTCTCGAACCC
 E F F P V P S D N H F Y L R V Q V K D S G S G I S P Q D I P
 AGAGTCTTCCAGTCCCAAGTGAATAATCAATCAATAGCAACAGCAAAATTCOCATGCGAGTGGACTTGGCCTTGTCTATTGTAAAGAGT
 K L F T K F A O N S I A T R N S H G S G L G L A I C K R F
 CAAGTATTACAAAGTGTCTGAAATCAATCAATAGCAACAGCAAAATTCOCATGCGAGTGGACTTGGCCTTGTCTATTGTAAAGAGT
 V N L M E G H I W I E S E G L G K G C T A V F V V K L G I P
 TGTTAATCTTAGAGGAGACATATTGGATTGAAAGTGAAGGCGCTGGCAAGGGATGCACTGCTTGTGTGAAACTTGGGATCC
 E S S N E S F M P K M S G P Q T N F T G L K V L V L D
 AGAGAGCTCGAACCAATCTAAGCTCTTTCATGCGCAAAATGTCAGGACACAGACAAATTTACAGGTCTCAAGGTTCTTGTCTGGA
 D N G V S R S V T K G L L V H P G C D V M T V G S S E E C L
 TGATAACGGAGTTAGGAGTCAAGTCAAGGAGGCTTTTGGTCAACCTGGATGATGATGATGACGTTGGCTCGAGCGAGGAGTGGCT
 H V Y S Q E H K V V F M D V G I P G I D G Y E V A V H I H O
 ACATGTTGTATCTCAGGAACACAAGGTGGTCTTATGGATGTCGGCATACCTGGTATAGATGTTATGAAAGTGTGCTCCACATACACCA
 K F T R R H E R P L I V A L T G N T D K I T K E N C M S V G
 AAAGTTTACAAGGCTGATGAAAGGCCAATTAATAGTAGCGCTGACTGGAAATACGACAAAATAACCAAGGAGAATGATGAGTGTGG
 M D G V I L K P I S L E K M R S V L L G L L E H R V L F E A
 AATGGATGGGTTATATTGAAACCCATTTGCTAGAAAAATGAGGAGCGTATTATTAGGCCCTTTTGGAGCACCGGGTCTTATTGAGGC
 CATATAAGCGCAGAGGAGCAAGCTGCCGATGCCATGAGCCCTGAAAAAATAGTACAGGTAATGATGTTTCTCTAGAGATATTTA
 GTTTGTGATACATCCAGATGGCGTTTATGACCATGGAGTATTGAGTGTGATGACAAATCACAAGAAATGCAAAAGCAACTTAAAGC
 TCGTCCGCAATTC

Figura 36. Secuencia de aminoácidos del cADN del receptor de etileno de mango (REM1).
 (Gutiérrez Martínez, 2001). Donado por el Dr. Miguel Ángel Gómez Lim del
 CINVESTAV-Irapuato para la realización de este trabajo.

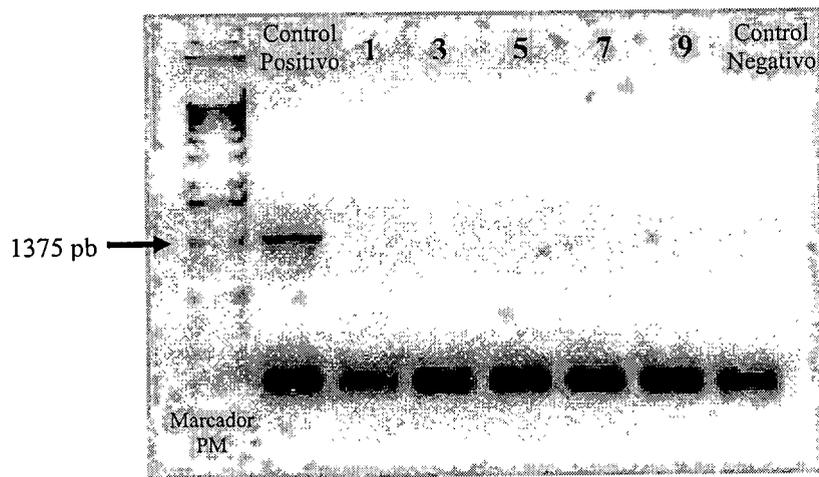


Figura 37. RT-PCR de ARN de guayaba de 5 diferentes estados de madurez (donde 1 es verde y 9 es amarillo maduro) utilizando 55° C como temperatura de hibridación para la amplificación.

VI. CONCLUSIONES

El procesado mínimo de guayaba con pelado químico aumento drásticamente la tasa de respiración ($457 \text{ mL CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 0° C), 3 a 10 veces mayor que la fruta sin tratamiento ($50 \text{ mL CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20° C), siendo mayor la respuesta en los frutos en mitades y almacenados a mayores temperaturas; inhibió la producción de etileno, disminuyó el color y aceleró su deterioro.

La alta actividad metabólica que se disparo en el tejido, por efecto del pelado químico, afectó la producción de etileno y este a su vez probablemente provocó que los procesos de generación de aromas se inhibieran, dando como resultado una baja calidad sensorial en el producto.

Los frutos que no fueron pelados, mostraron una tasa de respiración notablemente menor ($35\text{--}97 \text{ mL CO}_2 \text{ Kg}^{-1}\text{hr}^{-1}$ a 10° C), respecto a los frutos pelados químicamente y parecido a lo reportado para el fruto intacto ($50 \text{ mL CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20° C). La producción de etileno fue menos alterada respecto a los frutos pelados químicamente y se mantuvieron más altos los contenidos de ácido ascórbico, sólidos solubles y firmeza.

La temperatura de 0° C fue la que mantuvo mejor las propiedades de los productos mínimamente procesados.

Lo anterior indica que el procesado mínimo sin pelar así como la conservación a temperaturas bajas en las frutas parece ser el procedimiento más adecuado y la mejor alternativa para este producto.

Se comprobó por la tasa de respiración, producción de etileno e índice de matiz que la guayaba presenta un comportamiento de fruto climatérico. Sin embargo **NO** fue posible determinar la expresión de los receptores de etileno en guayaba por medio de RT-PCR, bajo las condiciones estudiadas en este trabajo de investigación.

El conocimiento del mecanismo de acción específico del etileno en la maduración de guayaba es importante porque permitiría dar recomendaciones sobre el mejor manejo poscosecha del fruto; No obstante, es necesario continuar investigando para determinar el procedimiento metodológico más adecuado que permita cuantificar la expresión genética de los receptores y con ello profundizar sobre su papel en la maduración de este fruto.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, D. O. y S. F. Yang. 1979. Ethylene Biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic Acid as an Intermediate in the Conversion of Methionine to Ethylene. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 76: 170-174
- Akamine, E. K. y T. Goo. 1979. Respiration and Ethylene Production in Fruits of Species and Cultivars of *Psidium* and Species of *Eugenia*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 104(5): 632-635.
- AOAC. 1990. Oficial Methods of Analysis of AOAC (international 17th Ed.). The Scientific Association dedicated to Analytical Excellence. Dr. William Horwitz, editor.
- Aquino-Bolaños, E. N. 1998. Efecto de la Temperatura, Composición Atmosférica, Geometría y Variedad en la Conservación de la Jicama Mínimamente Procesada. Tesis de Maestría en Ciencias. UAQ. México.
- Basset, C. L., T. S. Artlip, y A. M. Callahan. 2002. Characterization of the Peach Homologue of the Ethylene Receptor, *PpETR1*, Reveals Some Usual Features Regarding Transcript Processing. Planta 215:679-688.
- Benito-Bautista, P. 2002. Daños por Frío en Frutos de Guayaba (*Psidium guajava* L.): Respuestas Fisiológicas y Efecto de las Atmósferas Controladas sobre la Composición de Ácidos Grasos y Actividad Fosfolipasa en Membranas Microsomales. Tesis Doctorado en Ciencias, UAQ, México. pp. 34, 39
- Ben-Hur, M. y J. F. Durian. 2001. Efeito de Injúrias Mecanicas Na Firmeza e Coloracao de Goiabas Das Cultivares Paluma e Pedro Sato. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal. 23 (2): 277-281.

- Ben-Hur, M., J. F. Durian, y O. D. Rossi Junior.** 2003. *Processamento Mínimo em Goiabas 'Paluma' e 'Pedro Sato'. 2. Avaliação Química, Sensorial e Microbiológica.* Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 23 (3): 409-413.
- Bleecker, A. B. y H. Kende.** 2000. *Ethylene: A Gaseous Signal Molecule in Plants.* Annu. Rev. Cell Dev. Boil.16: 1-18.
- Bleecker, A. B. y G. E. Schaller,** 1996. *The Mechanism of Ethylene Perception.* Plant Physiol.111: 653-660.
- Bolarios, L.** 2006. Tema 20: Etileno, Poliaminas y Otros Reguladores del Crecimiento. En: URL: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/bolarios/fisiovegetal/resumenes/tema20.rtf. Fecha de Actualización: Marzo, 2006. Fecha de acceso: 20-Marzo-2006.
- Buyse, J. y R. Mercky.** 1993. *An Improved Colorimetric Method to Quantify Sugar Content of Plant Tissue.* J. Exp. Bot. 44: 1627-1629
- Cano, P.** 2001. *Procesado y Conservación de Alimentos Vegetales.* Horticultura 150:110-114 (enero). URL: <http://csic.es/ifrio>
- Cantwell, M., y T. Suslow.** 1999. *Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Aspects of Physiology, Preparation and Handling That Affect Quality.* UC Davis Postharvest Hort. Series No. 10.
- Cantwell, M.** 1996a. *Introduction.* En: *Fresh-Cut Products: Maintaining Quality and Safety* UC Davis Postharvest Hort. Series No. 10.
- Carmona, V. G.** 2001. *Rol de la Temperatura en el Almacenamiento de Productos Frescos.* Guía Técnica Poscosecha No. 5. Consejo Nacional de Producción. San José Costa Rica.

- Chang, C. y A. B. Bleecker.** 2004. Ethylene Biology. More Than a Gas. *Plant Physiology*. Vol. 136:2895-2899.
- Chang, S., J. Puryear y J. Cairney.** 1993. A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant Molecular Biology Reporter*. Vol. 11(2):113-116.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, y F. Smith.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350-356.
- Esquivel, I. I. y H. R. Guerrero.** 1998. II Parte: Tecnología de Frutas y Hortalizas. En: *Introducción a la Tecnología de Alimentos*. Colección de textos politécnicos. Limusa. Instituto Politécnico Nacional. México. pp. 43-53.
- García-Velasco, M.** 1997. Etileno exógeno en la maduración de guayaba (*Psidium guajava* L.) cv. Media China. Tesis Licenciatura, Ingeniero Químico. UAQ. México.
- González, G. E., R. J. Padilla, M. L. Reyes, M. A. Perales de la Cruz, y V. F. Esquivel.** 2002. Guayaba su Cultivo en México. Libro Técnico No. 1. INIFAB, Pabellón Aguascalientes, México. pp. 1-29.
- González, M. y M. G. Lobo.** 2005. Técnicas de Procesamiento. Capítulo 6. En: *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. CIAD, A. C. México. p. 97.
- Gorny, J. R. y A. A. Kader.** 1996. Fresh Cut fruit products. En: *Fresh-Cut Products: maintaining Quality and Safety* UC Davis Postharvest Hort. Serie No. 10.
- Gutiérrez-Martínez, P.** 2001a. El Receptor de Etileno en Frutos de Mango (*mangifera indica*). Análisis Molecular. Tesis Doctorado. CINVESTAV, Irapuato, Gto. México.

- Gutiérrez-Martínez, P., López G. R. y Gómez-Lim M. A. 2001b.** Identification of an ETR-1-Homologue from Mango Fruit Expressing During Fruit Ripening and Wounding. *J. Plant Physiol.* 158:101-108.
- Jobling, J. 2002.** Postharvest Ethylene: A Critical Factor in Quality Management. Sydney Postharvest Laboratory. URL: <http://www.postharvest.com.au> Fecha de actualización: 12/2002, Fecha de acceso: 30/11/2004
- Jonson, P. R., y J. R. Ecker. 1998.** The Ethylene Gas Signal Transduction Pathway: A Molecular Perspective. *Annu. Rev. Genet.* 32:227-54.
- Kader, A. A. 1992.** Postharvest Biology and Technology: An Overview. En Kader A. A. (ed.) *Postharvest Technology of Horticultural Crops.* University California Publ. 3311. pp.15-20.
- Katz, E., P. Martinez L., J. Riov, D. Weiss, y E. E. Goldschmidt. 2004.** Molecular and Physiological Evidence Suggests the Existente of a System II-Like Pathway od Ethylene Producción in Non-Climacteric *Citrus* Fruit. *Planta.* 219:243-252.
- Kays, J. S. 1991.** Postharvest Physiology of Perishable Plan Products. An Avi book published by Van Nostrand Reinhold, New York. pp.120-123
- Kende, H. 1993.** Ethylene Biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 44:283-307.
- Klee, H. J. 2002.** Control of Ethylene-Mediated Processes in Tomato at the Level of Receptors. *Journal of Experimental Botany.* Vol. 53 No. 337: 2057-2063.
- Klee, H. y D. Tieman. 2002.** The Tomato Ethylene Receptor Gene Family: Form and Function. *Physiologia Plantarum.* 115:336-341.

- Lelievre, J. M., A. Latché, B. Jones, M. Bouzayen y J. C. Pech. 1997. Ethylene and Fruit Ripening. *Physiologia Plantarum*. 101:727-739.
- Lurie, S. 1998. Postharvest Heat Treatments. *Postharvest Biology and Technology*. 14: 257-269.
- Marassi, M. A. 2005. Hormonas Vegetales: Etileno. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias. Republica de Argentina.
URL: <http://www.biologia.edu.ar>
URL: <http://www.biologia.edu.ar/plantas/hormona.htm#Ethylene>.
- Mathooko, F. M. 1996. Regulation of Ethylene Biosynthesis in Higher Plants by Carbon Dioxide. *Postharvest Biology and Technology*. 7:1-26
- Medlicott, A. P., A. J. Semple, A. J. Thompson, H. R. Blakbourne y A. K. Thompson. 1992. Measure of Color Changes in Ripening Bananas and Mangoes by Instrumental Chemical and Visual Assessment. *Trop. Agric. (Trinidad)*. 69(2): 161-162.
- Mercado-Silva E., P. Peiser, M. A. García-Velasco, y P. Benito-Bautista. 2003. Respuestas del Fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) al Etileno, Temperatura y Composición Atmosférica. *Memorias: Primer Simposium Internacional de la Guayaba*, pp.152-171. Editores Padilla RJS, Reyes M, González GE, Perales de la C. MA Aguascalientes, México.
- Mercado-Silva, E., P. Benito-Bautista, Y M. A. García-Velasco. 1998. Fruit Development, harvest Index and Ripening Changes of Guavas Produced in Central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*. 13. pp. 143-150.
- Martín-Belloso, O. y M. A. Rojas-Grañ. 2005. Factores que Afectan la Calidad. Capítulo 5. En: *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. CIAD, A. C. México. p. 77

- Murkhejee, S. K. y M. N. Dutta.** 1967. Physico-Chemical Changes in India Guavas (*Psidium guajava* L.) During Fruit Development. *Curr. Sci.* 36:675-676.
- Nakatsuka, A., S. Murachi, H. Okunishi, S. Shiomi, R. Nakano, Y. Kubo y A. Inaba.** 1998. Differential Expresión and Internal Feedback Regulation of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Synthase, 1-Aminocyclopropane-1-Carboxilate Oxidase, and Ethylene Receptor Genes in Tomato Fruit During Development and Ripening. *Plant Physiol.* 118:1295-1305.
- Nieto, A. D.,** 2003. Manejo Pre y Poscosecha de Guayaba. Memorias: Primer Simposium Internacional de la Guayaba. pp. 172-176. Editores Padilla RJS, Reyes M, González GE, Perales de la C. MA, Aguascalientes, México.
- Padilla R. J. S., E. González-Gaona, L. Reyes-Muro, M. A. Perales de la Cruz, E. M. Mercado-Silva y N. Mayer-Perez.** 2003. Caracterización de Germoplasma del Guayabo de la Región de Calvillo-Cañones. Primer Simposium Internacional de la Guayaba. Aguascalientes, México. pp. 54-70.
- Payton, S., R. P. Fray, S. Brown, y D. Grierson.** 1996. Ethylene Receptor Expresión is Regulated During Fruit Ripening, Flower Senescence and Abscisión. *Plant Molecular Biology.* 31:1227-1231.
- Pedrero, F. D. L. y Rose M. Pangborn.** 1989. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Métodos Analíticos. Alambra Mexicana. 1a. Ed. México.
- Peñaherrera, G. M.** 2004. Hoja Técnica: Guayaba (*Psidium guajava* L.) corporación PROEXANT. Sitio desarrollado con Arachnophilia. Fecha de acceso: 26/07/2004 URL: http://www.proexant.org.ec/HT_Guayaba.htm.

- Picallo, A.** 2002. El Análisis Sensorial como Herramienta de Calidad de Carne y Productos Cárnicos de Cerdo. Instituto de tecnología de alimentos, Buenos Aires, Argentina.
Fecha de acceso: 23/09/2004.
URL:<http://www.vet.unicen.edu.ar/Tecnologia/Jornadas/Resumenes/Resumen%20Conferencia%20Alejandra%20Picallo.doc>
- Ramírez-Moreno, E.** 2000. Efecto de la Temperatura y Atmósferas Controladas sobre el Oscurecimiento y la Calidad de Ajo Mínimamente Procesados. Tesis Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. UAQ, México.
- Ramírez, S. A. y Olguín, M. L. E.** 1998. V Parte: Evaluación y Control de Calidad. En: Introducción a la Tecnología de Alimentos. Colección de textos politécnicos. Limusa. Instituto Politécnico Nacional. México. pp. 131-137.
- Ranganna, Ph. D.** 1977. Manual of Análisis of Fruti and Vegetable Products. McGraw-Hill publishing Company Limited. New Delhi. Pp. 94-95.
- Regalado-Contreras, L.** 1999. Papel de la Enzima Fosfatidaro-Fosfatasa y los Niveles de Antioxidantes Naturales Presentes en el Fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) Durante la Generación de Daños por Frío en Frutos Pretratados Hidrotermicamente. Tesis de Maestria. Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos, UAQ, México.
- Reyes, M. U. y R. E. Paull.** 1995. Effect of Storage Temperature and Ethylene Treatment on Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit Ripening. Postharvest Biol and Tech. 6:357-365.
- Rivas, A. R. N.** 2002. Caracterización de Diferentes Selecciones de Guayaba y su Composición Bajo Diferentes Regímenes de Conservación y Fertilización. Tesis Licenciatura, Químico en Alimentos, UAQ, México. pp. 35-40.
- Saltveit, M. E.** 1999. Effect of Ethylene on Quality of Fresh Fruits and Vegetables. Postharvest biology and Technology 15: 279-292.

- Salamanca, G. G.** 2001. Criterios Relativos al Análisis de Mieles. Colombia. En: http://www.beekeeping.com/articulos/salamanca/analisis_sensorial_mieles.doc.
Actualizado al 17 de Marzo de 2001.
- Sato-Nara, K., Ken-Ichi Yuhashi, Katsumi Higashi, Kazuzhige Hosoya, Mitsuru Kubota, y Hiroshi Ezura.** 1999. State- and Tissue-Specific Expression of Ethylene Receptor Homolog Genes during Fruit Development in Muskmelon. *Plant physiology*. Vol 119:321-329
- Sisler, E. C. y M. Serek,** 1997. Inhibitors of Ethylene Responses in Plants at the Receptor Level: Recent Developments. *Physiologia Plantarum*. 100:577-582.
- Sisler, E. C. y M. Serek,** 1999. Compounds Controlling the Ethylene Receptor. *Bot Bull. Acad. Sin.* 40: 1-7.
- Smart, L.** 2004. Ethylene: Ripening & Abcisión. EFB530 Plant Physiology. En: <http://www.esf.edu/efb/course/EFB530/lectures/ethylene.htm>. Fecha de actualización: 20/08/2004, fecha de acceso: 20/09/2004
- Takahashi, H., T. Kobayashi, K. Sato-Nara, K. Tomita y H. Ezura.** 2002. Detection of Ethylene Receptor Protein Cm-ERS1 During Fruit Development in Melon (*Cucumis melo* L.). *Journal of experimental Botany*, Vol.53. No. 368:415-422.
- Tandom, D. K., Singh, B. P., Karla, S. K.,** 1989. Store Behaviour of Specific-Graded Guava Fruits. *Sci. Hortic.* 41, 35-41.
- Vázquez-Ochoa, R. I. y Colinas-León M. T.** 1990. Changes in Guavas of Three Maturity Stages in Response to Temperature and Relative Humidity. *HortScience*. 25(1): 86:87.

- Watada, A., K. Abe, N. Yamauchi.** 1990. Physiological Activities of Partially Processed Fruits and Vegetables. *Food Technology*. Chicago. 20:116-122.
- Watada, A., N. Ko. y D. Minott.** 1996. Factors Affecting Quality of Fresh-Cut Horticultural Products. *Postharvest Biol. Tech.* 9:115-125.
- Yang, S. F.** 1985. Biosíntesis and Action of Ethylene. *HortScience*, Alexandria. 20: 41-45.
- Zoffoli, J. P.** 2002. Control de la Acción del Etileno: Una Novedosa Alternativa Para Prolongar la Conservación de Frutas. *Agronomía y Forestal UC*. No. 16. Año 4. Julio, 2002.

A P E N D I C E S

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Buffer de extracción: Para 50 mL se agrega 1 g de CTAB al 2%; 1 g de PVP 30 al 2%, 5 mL de TRIS 1M pH=8.0; 0.025 g de espermidina; 2.5 mL de EDTA 0.5 M pH=8.0; 20 mL de Na Cl 5 M y se aforó con agua destilada, se mezcló con agitación constante hasta disolver.

Buffer SSTE: Para 10 mL se mezclan 2000 μ L de Na Cl 5M; 250 μ L de SDS al 20%; 100 μ L de Tris pH=8.0; 20 μ L de EDTA 5M y 7630 μ L de Agua DEPC.