



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Identificación de compuestos fenólicos asociados
con la tolerancia inducida al daño por frío en chile
morrón (*Capsicum annuum*)**

TESIS

Que presenta
IBQ. JORDI GERARDO LÓPEZ VELÁZQUEZ

Para obtener el grado de
**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS**

Directores
Dr. Misael Odín Vega García
Dr. Francisco Delgado Vargas

Culiacán, Sinaloa, México

Septiembre 2018

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha y en el laboratorio de Química de Productos Naturales de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, y contó con la dirección de los Dres. Misael Odín Vega García y Francisco Delgado Vargas y la asesoría de las Dras. Gabriela López Angulo y Martha Edith López López.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán el día 27 del mes de Septiembre del año 2018, el que suscribe Jordi Gerardo López Velázquez alumno del Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos con número de cuenta 11672714, de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Misael Odín Vega García y el Dr. Francisco Delgado Vargas y cede los derechos del trabajo titulado “Identificación de compuestos fenólicos asociados con la tolerancia inducida al daño por frío en chile morrón (*Capsicum annuum*)”, a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jordi Gerardo López Velázquez

A handwritten signature in black ink, appearing to be "JGV", written over a horizontal line.

Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, en especial al posgrado de Ciencia y Tecnología de Alimentos por aceptarme y motivarme a siempre seguir aprendiendo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada.

Al Dr. Misael por darme la oportunidad de trabajar nuevamente en su equipo de trabajo y por predicar con el ejemplo lo que significa ser un líder, pero sobre todo por brindarme su amistad y apoyo.

Al Dr. Francisco Delgado por motivarme desde la licenciatura a desarrollar mis aptitudes en el campo de la investigación, así como permitirme dar mis primeros pasos en el fascinante mundo de la química de los productos naturales.

A mis compañeros de laboratorio por el apoyo en el trabajo experimental y por hacer siempre el trabajo más ameno, sobre todo a las Dras. Martha y Lidia por el apoyo desde mis primeros días en el laboratorio.

A la Dra. Gabriela López y la MC. Fernanda Quintero por el apoyo en el análisis del perfil de compuestos fenólicos.

A todos mis compañeros de generación y nuevas personas que entraron a mi vida por hacer de estos dos años una experiencia llena de alegría y mucho crecimiento personal.

A mi familia por apoyarme en mi formación académica y siempre tenderme la mano cuando lo he necesitado.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
I. RESUMEN	1
ABSTRACT	3
II. INTRODUCCIÓN	5
III. REVISIÓN DE LA LITERATURA	7
A. Chile morrón	7
1. Taxonomía	7
2. Composición química	8
3. Importancia económica	10
4. Manejo poscosecha	14
a. Almacenamiento a temperaturas bajas	15
B. Daño por frío	16
1. Desarrollo del daño por frío	17
a. Estrés oxidativo	19
2. Sistema de reconocimiento al estrés	21
3. Tecnologías para inducir tolerancia al daño por frío	23
a. Fito hormonas	23
b. Enfriamiento gradual	24
c. Tratamiento hidrotérmico	24
C. Metabolitos asociados con la tolerancia al daño por frío	25

1.Poliaminas	25
2.Osmoprotectores	27
3.Compuestos fenólicos	28
a. Biosíntesis	30
b. Compuestos fenólicos relacionados con la tolerancia al estres	34
IV. JUSTIFICACIÓN	38
V. HIPÓTESIS	39
VI. OBJETIVOS	40
A. OBJETIVO GENERAL	40
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	41
A. MATERIALES	41
B. MÉTODOS	41
1.Valoración de síntomas de daño por frío	41
a. Pérdida de peso	41
b. Análisis de textura en cáscara utilizando el GLCM	42
2.Parámetros de calidad	43
a. Firmeza	43
b. Color	44
3.Contenido de vitamina C	44
4.Parametros fisiológicos	44
a. Lixiviación de electrolitos	44
b. Contenido de MDA	45

5. Perfil de metabolitos	46
a. Preparación de extracto metanólico	46
b. Extracción líquido-líquido	46
c. Análisis por UPLC acoplado a espectrometro de masas (UPLC-MS)	47
6. Actividad Antioxidante	48
7. Diseño estadístico	48
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
A. PRIMERA ETAPA	50
1. Valoración de síntomas de daño por frío	50
a. Pérdida de peso	50
b. Análisis de textura	52
2. Parámetros de calidad	59
a. Firmeza	59
b. Color	61
1) Luminosidad (L*)	62
2) Parametro a*	62
3) Ángulo Hue	65
3. Contenido de vitamina C	66
4. Parametros fisiológicos	69
a. Lixiviación de electrolitos	69
b. Contenido de MDA	72
4. Elección del mejor tratamiento hidrotérmico	74
B. SEGUNDA ETAPA	75

1. Perfil de compuestos fenólicos	75
a. Análisis cualitativo	75
b. Análisis cuantitativo	84
a) Derivados del ácido cinámico	84
b) Derivados de quercetina	88
c) Derivados de luteolina	92
c. Compuestos inducidos por la aplicación del TH y asociados con la tolerancia al DF	95
2. Actividad antioxidante (AOX)	99
IX. CONCLUSIONES	103
X. BIBLIOGRAFÍA	104
ABREVIATURAS	118

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Contenido nutrimental del chile morrón.	9
2	Compuestos fenólicos identificados en diferentes cultivares de chile morrón.	11
3	Principales países productores de chile en el año 2013.	12
4	Principales estados productores de chile en el año 2015.	13
5	Metabolitos acumulados a consecuencia de la aplicación de un tratamiento hidrotermico en diversos frutos.	26
6	Compuestos fenólicos relacionados con la tolerancia al estrés.	35
7	Evaluación de parámetros de color en chile morrón (cv. Coloso) tratado hidrotérmicamente (TH) durante su almacenamiento a 5 y 12 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.	63
8	Datos cromatográficos, espectrales e identificación de los picos mayoritarios de los extractos metanólicos desengrasados de chile morrón verde (cv. Coloso).	77
9	Contenido de derivados del ácido cinámico (mg/ 100 gff) en chile morron tratado hidrotérmicamente durante su almacenamiento a temperatura de maduración (21 °C), de refrigeración comercial (12 °C) y de daño por frío (5 °C).	85
10	Contenido de flavonoides (mg/ 100 gff) en chile morron tratado hidrotérmicamente (TH, 53 °C/ 1 min) durante su almacenamiento a temperatura de maduración (21 °C), de refrigeración comercial (12 °C) y de daño por frío (5 °C).	89
11	Relación TH/control (durante el mismo periodo de almacenamiento) del contenido de fenólicos en chile morrón (cv. Coloso).	96
12	Coeficientes de correlacion de Pearson entre el contenido de compuestos fenolicos individuales y la actividad antioxidante medida por el método de ABTS.	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Cuadro	Descripción	Página
1	Esquema general del desarrollo del daño por frío.	18
2	Reconocimiento de estrés por la NADPH oxidasa.	22
3	Estructura básica de flavonoides y su clasificación.	31
4	Ruta de biosíntesis de flavonoides y las enzimas involucradas.	33
5	Porcentaje de pérdida de peso en chile morrón tratado hidrotérmicamente (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su maduración a 21 °C.	51
6	Porcentaje de aumento en entropía en chile morrón tratado hidrotérmicamente (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su maduración a 21 °C.	54
7	Síntomas de daño por frío en chile morrón después de ser almacenado por 21 días a 5 °C. La fruta fue tratada hidrotérmicamente (53 °C) durante diferentes tiempos (1, 2, y 3 min) antes del almacenamiento.	55
8	Síntomas de daño por frío en chile morrón después de ser almacenado por 21 días a 5 °C más 7 días a 21 °C. La fruta fue tratada hidrotérmicamente (53 °C) durante diferentes tiempos (1, 2, y 3 min) antes del almacenamiento.	56
9	Firmeza en chile morrón tratado hidrotérmicamente (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.	60
10	Contenido de vitamina C en chile morrón tratado hidrotérmicamente (53 °C) (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.	67
11	Lixiviación de electrolitos en chile morrón tratados hidrotérmicamente (53 °C) (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su	70

	almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.	
12	Contenido de malonaldehído (MDA) en chile morrón tratado hidrotérmicamente (53 °C) (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.	73
13	Cromatograma de UPLC representativo de los principales fenólicos del extracto metanólico de chile morrón verde (cv. Coloso).	76
14	Nomenclatura de iones de flavonoides glicosilados propuesto en la literatura (Jeong y col 2011).	80
15	Espectro de MS-ESI en modo negativo del compuesto 11 (A) y del estándar comercial Quercetín 3-O-ramnósido.	81
16	Espectro de MS-ESI en modo negativo del compuesto 12.	83
17	Contenido de derivados del ácido cinámico en chile morrón (cv. Coloso) durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los frutos recibieron tratamiento hidrotérmico (TH) de 53 °C por 1 min antes del almacenamiento.	86
18	Contenido de derivados de quercetina en chile morrón (cv. Coloso) durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los frutos recibieron tratamiento hidrotérmico (TH) de 53 °C por 1 min antes del almacenamiento.	90
19	Contenido de derivados de luteolina en chile morrón (cv. Coloso) durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los frutos recibieron tratamiento hidrotérmico (TH) de 53 °C por 1 min antes del almacenamiento.	93
20	Actividad antioxidante medida por el método de ABTS en chile morrón (cv. Coloso) durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.	100

I. RESUMEN

El chile morrón (*Capsicum annuum*) es una hortaliza de fruto perteneciente a la familia Solanaceae que cuenta con una gran demanda en países desarrollados debido a su uso gourmet y contenido calórico bajo. México exporta este producto principalmente a Estados Unidos y Canadá, y debe aplicarse refrigeración. La exportación a regiones más lejanas (e.g., países orientales) requiere del transporte a temperaturas más bajas pero el chile morrón es susceptible al daño por frío (DF), desorden fisiológico que afecta el desarrollo del fruto alterando su calidad sensorial y nutrimental. Por este motivo, diferentes grupos de investigación han desarrollado pre-tratamientos que disminuyan el impacto del DF y una de las más exitosas es la inmersión en agua caliente (tratamiento hidrotérmico, TH). El TH ha demostrado aumentar la actividad y acumulación de diferentes enzimas responsables de la síntesis de compuestos fenólicos, estos compuestos se han asociado con la inducción de la tolerancia al DF en diversos modelos pertenecientes a la familia Solanaceae (e.g., tomate, berenjena y tabaco). Sin embargo, aún se desconoce qué compuestos específicos de chile morrón se asocian con la inducción de tolerancia al DF por la aplicación del TH. Es por ello que en el presente trabajo se planteó evaluar el efecto de diferentes tiempos de inmersión a 53 °C (1, 2 y 3 min) sobre la presencia de síntomas de daño por frío, parámetros de calidad e índices fisiológicos en chile morrón con el fin de seleccionar el tiempo de TH que induzca la mayor tolerancia al DF. Posteriormente, se analizó mediante UPLC-DAD-MS la composición de fenólicos de los frutos sometidos al TH seleccionado para establecer la asociación entre compuestos fenólicos específicos y la inducción de tolerancia al daño por frío. El TH seleccionado fueron 53 °C/ 1 min, los frutos sometidos a este tratamiento

presentaron menos síntomas de DF, mayor contenido de vitamina C, y menor lixiviación de electrolitos. En el análisis de fenólicos de los frutos TH (53 °C/ 1 min), el TH y el DF afectaron claramente la composición de fenólicos, siendo los frutos con TH los que presentaron un mayor contenido. En los frutos con tolerancia al DF se presentó un aumento en el contenido de 7 compuestos siendo quercetín-O-ramnósil O-hexósido, luteolín-C-(malonil) hexósido C-pentosido y ácido clorogénico los que se acumularon en mayor medida. El compuesto quercetín-3-O-ramnósido únicamente se acumuló a consecuencia del TH en los frutos con tolerancia inducida al DF, además se encontró que el compuesto orientina es altamente sensible a estímulos como TH y DF. Estos resultados demuestran que el TH es una tecnología útil para inducir tolerancia al daño por frío en chile morrón; fenómeno que puede deberse al contenido de fenólicos específicos, los que al presentar una alta actividad antioxidante pueden estar involucrados en disminuir el impacto del estrés oxidativo.

ABSTRACT

Bell pepper (*Capsicum annuum*) is a vegetable that belongs to the Solanaceae family, and by its gourmet applications and low caloric content is highly demanded in developed countries. Mexico exports this product mainly to the United States and Canada, being refrigeration essential to this process. Export to more distant countries (e.g., oriental) requires transport at lower temperatures; however, bell pepper is susceptible to chilling injury (CI), which is a physiological disorder that affects the development of fruit by altering its sensory and nutritional quality. Thus, different researchers have developed pre-treatments that reduce the impact of CI and the immersion in hot water (hydrothermal treatment, HT) is one of the most successful. HT has proven to increase the activity and accumulation of different enzymes responsible for the synthesis of phenolic compounds that has been associated with the induction of chilling tolerance in various plant models, including of the Solanaceae family (tomato, eggplant and tobacco). However, it is still unknown which specific bell pepper compounds are associated with the induction of CI tolerance by the application of HT. Therefore, the aim of this work was to evaluate the effect of different immersion times at 53 °C (1, 2 and 3 min) on the presence of symptoms of CI, quality parameters and physiological indices in bell pepper in order to select the HT time that induces the greatest tolerance towards CI. Thereafter, the phenolic composition of the fruit treated to the HT selected conditions was analyzed by UPLC-DAD-MS to establish the association between specific phenolic compounds and the induction of chilling tolerance. The selected HT was 53 °C / 1 min, the fruit subjected to this treatment showed a lower CI symptom development, higher vitamin C content, and lower electrolyte leakage. In the phenolic analysis of treated fruit (53 °C / 1 min),

the HT and the CI clearly affected the composition of phenolic compounds, and the HT fruit showed the higher content. In the fruit with CI induced tolerance, 7 compounds were in high concentration and mainly quercetin-O-rhamnosyl O-hexoside, lutein-C-(malonyl) hexoside C-pentoside, and chlorogenic acid. Quercetin-3-O-rhamnoside accumulated only in fruit with CI tolerance, and it was found that orientin was highly sensitive to HT and CI. These results showed HT is a useful technology to induce CI tolerance in bell pepper; phenomenon that could be associated to the content of specific phenolics, characterized by their high antioxidant activity, that are involved in reducing the impact of oxidative stress.

II. INTRODUCCIÓN

El Chile morrón es uno de los frutos que genera más beneficios económicos a México. Según datos reportados por la FAOSTAT, en el 2013 el chile en fresco fue el segundo producto que generó más ganancias al ser exportado con aproximadamente 867 millones de dólares (FAOSTAT 2017).

La comercialización y distribución exitosa del chile morrón requiere de almacenamiento a temperaturas bajas, lo que incrementa la vida de anaquel, debido parcialmente a la disminución en la velocidad de respiración y actividad microbiana (Kader 2007). Sin embargo el chile morrón, al igual que muchos frutos, es sensible a un fenómeno fisiológico denominado daño por frío (DF); el cual reduce drásticamente la calidad sensorial del fruto generando lesiones superficiales, apariencia acuosa del pericarpio y susceptibilidad al ataque de hongos, entre otros síntomas (Artés y Artés-Hernández 1992).

Se han empleado diferentes tratamientos para disminuir el impacto negativo del DF en frutos. Específicamente, el tratamiento hidrotérmico (TH) en chile morrón ha probado su eficacia para disminuir la incidencia de síntomas de DF (Sevillano y col 2009).

Diversos estudios han encontrado una relación entre el metabolismo de compuestos fenólicos y la inhibición del desarrollo del DF, observado a través de un aumento en la transcripción y actividad de la fenilalanina amonio liasa (FAL), enzima clave en la biosíntesis de compuestos fenólicos (Kuzukue y col 1979; Sánchez-Ballesta col 2000; Jiangtao y col 2018). Sin embargo, la asociación de la tolerancia al DF de chile morrón con la acumulación de compuestos fenólicos específicos debe

establecerse. Por ello, resulta interesante realizar un estudio para indagar los cambios en el perfil de compuestos fenólicos en frutos de chile morrón con tolerancia inducida al DF, lo que contribuiría a entender la participación de estos compuestos específicos en la inhibición del DF en chile morrón.

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

A. Chile morrón

1. Taxonomía

El chile morrón o pimiento morrón (*Capsicum annuum*) es considerado una hortaliza de fruto perteneciente al género *Capsicum*, agrupado en la familia Solanaceae que engloba varios cultivos de gran importancia económica como tomate, berenjena, papa y tabaco (Kader 2007).

Los frutos del género *Capsicum* presentan gran diversidad de formas, tamaños, colores y sabores; lo que complica su clasificación aunque de manera general se divide en 3 grupos complejos (*Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum* y *Capsicum pubescens*). El grupo *Capsicum annuum* se caracteriza por poseer flores de color blanco e incluye a *C. frutescens*, *C. chinense* y *C. annuum* (Wahyuni y col 2012).

Capsicum frutescens es cultivado principalmente en el Caribe y Sudamérica y *C. chinense* en la India; mientras que *C. annuum* es la principal especie del género y es cultivada en México y Centroamérica. Las variedades más conocidas de *Capsicum annuum* son los chiles jalapeño, poblano, guajillo, serrano, de árbol, y morrón (Wahyuni y col 2011).

Entre las variedades de *Capsicum annuum*, el chile morrón ha llamado la atención de los mercados internacionales debido a que a diferencia de otras especies del género *Capsicum* no presenta picor, inclusive pudiendo llegar a ser dulce; además puede encontrarse en diferentes colores como rojo, anaranjado, amarillo y púrpura, sirviendo como decoración en platillos gourmet; asimismo, posee un alto contenido

de vitamina C que supera por más del doble al de los cítricos (FAO 1995; Wahyuni y col 2012).

2. Composición química

El chile morrón presenta un porcentaje bajo de sólidos totales (10.6 %), que incluyen hidratos de carbono (7 %), proteínas (1.1 %) y lípidos (0.3 %). El resto de los sólidos corresponde a minerales, vitaminas y otros metabolitos secundarios que se encuentran en cantidades muy pequeñas pero que contribuyen de manera importante a su aroma y sabor, así como al sistema de defensa del fruto (**Cuadro 1**) (FAO 2003).

El género *Capsicum* se caracteriza por sintetizar capsaicinoides, que imparten el picor característico de los chiles. Los capsaicinoides son el producto de la condensación de vainillil amina proveniente del metabolismo fenilpropanoide y una cadena hidrocarbonada ramificada derivada de isoleucina, reacción catalizada por una aciltransferasa que está ausente en chile morrón debido a una mutación en el promotor del gen (Wahyuni y col 2012).

El chile morrón es una fuente rica en carotenoides, pigmentos responsables de la gran variedad de colores que presenta. Los pimientos en madurez fisiológica contienen clorofila, luteína, violaxantina y neoxantina dando un color verde, y conforme avanza la madurez la clorofila se degrada y otros pigmentos son sintetizados. En pimiento rojo se acumula capsantina y capsorubina, en el amarillo luteína, y en el naranja β -criptoxantina y anteraxantina (Wahyuni y col 2011).

Cuadro 1. Contenido nutrimental del chile morrón.

Componente	Contenido en 100 g de porción comestible
Energía (kcal)	25
Proteínas (g)	1.1
Lípidos totales (g)	0.3
Hidratos de carbono (g)	7
Fibra	2.1
Agua	89.4
Calcio (mg)	9
Hierro (mg)	0.3
Yodo (mg)	1
Magnesio (mg)	14
Zinc (mg)	0.2
Sodio (mg)	70
Potasio (mg)	180
Fósforo (mg)	26
Tiamina (mg)	0.01
Riboflavina (mg)	0.03
Equivalentes niacina (mg)	1.1
Vitamina B6 (mg)	0.31
Folatos (µg)	11
Vitamina B12 (µg)	0
Vitamina C (mg)	128
Vitamina A: Eq. Retinol (µg)	630
Vitamina D (µg)	0
Vitamina E (mg)	0.9

Fuente: FAO 2003

Con respecto al contenido de compuestos fenólicos, diversos cultivares de chile morrón presentan principalmente derivados del ácido cinámico, flavonas, flavonoles y chalconas, siendo los compuestos predominantes: Quercetín 3-O-ramnósido, luteolín O-(apiosilmalonil) glucósido y sinapoil hexósido (**Cuadro 2**). De manera general, pudiera considerarse que la contribución de los compuestos fenólicos a las características sensoriales de chile morrón es menor; sin embargo, está comprobado que forman parte del sistema de defensa del fruto contra el estrés biótico (ataque de microorganismos) y abiótico (e.g., estrés hídrico, salino, temperaturas extremas, luz UV) y por lo tanto es importante su producción (Jeong y col 2011).

3. Importancia económica

La producción de chile en 2013 fue de más de 27 millones de toneladas. China es el principal productor con más de 16 millones de toneladas (59.48%), seguido de México (10.08%) y Turquía (7.85%) (**Cuadro 3**). Al respecto, es importante destacar que México es el principal exportador de chile en fresco con una ganancia en 2013 de más de 867 millones de dólares (FAOSTAT 2017), siendo los principales destinos de exportación: Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Francia y Canadá.

En México los principales estados productores de chile fresco en 2015 fueron Chihuahua, Sinaloa y San Luis Potosí (**Cuadro 4**), con una producción de 816 mil, 601 mil y 245 mil toneladas, respectivamente (SAGARPA 2017).

La producción y comercialización de chile fresco en México, en especial en el estado de Sinaloa, es de gran importancia económica y una fuente de divisas y empleos importante; sin embargo, la solución a los inconvenientes que se presentan

Cuadro 2. Compuestos fenólicos identificados en diferentes cultivares de chile morrón.

Cultivar	Número de compuestos identificados	Tipos de fenolicos encontrados	Compuestos mayoritarios	Referencia
Vergasa	28	<ul style="list-style-type: none">• Fenilpropanoides (5)• Flavonas (21)• Flavonoles (2)	<ul style="list-style-type: none">• Quercetín 3-O-ramnósido• Luteolín 7-O-(2 apiosil-6-malonil) glucósido	Marin y col 2004
Cupra	11	<ul style="list-style-type: none">• Fenilpropanoides (2)• Flavonas (8)• Flavonoles (1)	<ul style="list-style-type: none">• Sinapoil hexósido	Jeong y col 2011
Orange glory	13	<ul style="list-style-type: none">• Fenilpropanoides (3)• Flavonas (9)• Flavonoles (1)	<ul style="list-style-type: none">• Luteolín O-(apiosilmalonil) glucósido	Jeong y col 2011
ST4712	13	<ul style="list-style-type: none">• Flavonas (9)• Flavonoles (4)	<ul style="list-style-type: none">• Quercetín-3-O-ramnósido	Jeong y col 2011
Italian sweet	31	<ul style="list-style-type: none">• Fenilpropanoides (7)• Flavonas (10)• Flavonoles (10)• Chalconas (4)	<ul style="list-style-type: none">• Quercetín 3,7-di-O-α-L-ramnopiranosido	Morales-Soto y col 2013
Lamuyo	28	<ul style="list-style-type: none">• Fenilpropanoides (5)• Flavonas (9)• Flavonoles(9)• Chalconas (4)	<ul style="list-style-type: none">• Rutín pentósido• Quercetín 3,7-di-O-α-L-ramnopiranosido• Quercetín 3-O-α-L – ramnósido	Morales-Soto y col 2013
California wonder	28	<ul style="list-style-type: none">• Fenilpropanoides (7)• Flavonas (9)• Flavonoles (8)• Chalconas (3)	<ul style="list-style-type: none">• Rutín pentósido• Quercetín 3,7-di-O-α-L ramnopiranosido• Quercetín 3-O-α-L – ramnósido	Morales-Soto y col 2013

Cuadro 3. Principales países productores de chile en el año 2013

País	Producción (toneladas)
China	16,100,000
México	2,732,635
Turquía	2,127,944
Indonesia	1,875,095
España	1,130,340
E.U.A.	914,490
Nigeria	739,599
Egipto	601,289
Algeria	532,681
Tunisia	375,000

Fuente: SAGARPA 2017

Cuadro 4. Estados de México que fueron los principales productores de chile en el año 2015.

Estado	Producción (toneladas)
Chihuahua	816,234.94
Sinaloa	601,736.04
Zacatecas	245,763.40
San Luis Potosí	221,914.38
Sonora	130,269.63
Michoacán	119,215.83
Jalisco	117,601.84
Guanajuato	102,272.69
Tamaulipas	64,054.15
Baja California Sur	53,902.15

Fuente: SAGARPA 2017

en las etapas de producción y comercialización podría aumentar aún más las ganancias producidas (Hernández-Fuentes y col 2010).

4. Manejo poscosecha

La cosecha del pimiento morrón se basa principalmente en el desarrollo del fruto y las condiciones del mercado. Todo pimiento cosechado deberá tener paredes gruesas que indican un desarrollo óptimo, textura firme que garantice daños mínimos por manipulación y una coloración verde oscuro brillante (Fernández-Lozano y col 1996).

El chile morrón es recolectado del campo en las primeras horas de la mañana, permitiendo que su temperatura sea baja para minimizar gastos en el preenfriado. El chile se retira de la planta con tijeras afiladas, cuidando que el pedúnculo y el cáliz se encuentren adheridos al mismo, esto evita que sufra podredumbres por el ataque de hongos. Los frutos son recolectados en cajas de campo llamadas “Bins” y transportados hacia la agrícola protegidos del sol y cuidando que no sufran ningún daño mecánico (Kader 2007).

En la agrícola, los frutos son desinfectados mediante lavados por inmersión en agua con hipoclorito de sodio (80-100 ppm) y utilizando rociadores. Al terminar el lavado, los frutos son secados con ventiladores o con rodillos de espuma e inmediatamente son encerados para evitar la pérdida excesiva de agua y mejorar su apariencia. Posteriormente los frutos son clasificados según su tamaño y son introducidos en cajas recubiertas de cera, esto con el objetivo de que la caja no se debilite durante el almacenamiento a humedades relativas altas, además el cartón deberá tener buena ventilación para un eficiente pre-enfriado (Kader 2007).

El proceso de pre-enfriado de chile morrón se lleva a cabo con ayuda de aire forzado que es muy eficiente; sin embargo, los tiempos de residencia en la cámara de pre-enfriado deben cuidarse ya que este fruto es especialmente susceptible a la deshidratación. El pre-enfriamiento concluye cuando se llega a una temperatura aproximada de 10 °C, y se procede al almacenamiento en refrigeración con temperaturas que van de 8 a 12 °C (Fernández-Lozano y col 1996).

Una vez empacados y enfriados, los frutos se encuentran listos para ser transportados a su destino en camiones frigoríficos, aunque en algunas ocasiones los frutos permanecen más tiempo en la agrícola a espera de condiciones económicas más favorables. El transporte del producto debe realizarse teniendo un especial cuidado en la humedad relativa de la cámara así como en la temperatura de almacenamiento (Kader 2007).

a. Almacenamiento a temperaturas bajas

La refrigeración es una tecnología creada en el siglo pasado que revolucionó el mercado de frutas y hortalizas al expandir las rutas de comercialización, esto debido a que el almacenamiento a temperaturas bajas puede contribuir a aumentar la vida de anaquel, minimizar la pérdida de agua y reducir el crecimiento de microorganismos que ocasionan podredumbres (Artés y Artés-Hernández 1992).

En general se recomienda almacenar el chile morrón a una humedad relativa de entre 90 y 95% y a temperaturas de entre 7 y 10 °C, estas condiciones contribuyen a

que el fruto se conserve durante 2 ó 3 semanas (Kader 2007). El fruto expuesto a una humedad relativa menor pierde agua, lo que se traduce en flacidez y agrietamiento; cuando la pérdida alcanza un 7%, el deterioro es tal que la comercialización es casi imposible. Con respecto a la temperatura de almacenamiento, si se almacena el fruto a una temperatura inferior a la temperatura crítica del fruto, este experimentará un fenómeno fisiológico denominado daño por frío (DF), el cual reduce de manera importante las cualidades sensoriales y nutritivas del mismo (Ilic y col 2012).

B. Daño por frío

El daño por frío (DF) es un desorden fisiológico que se presenta en frutos al someterse a temperaturas entre la de congelación y la crítica. Este fenómeno fisiológico representa un gran problema para los comercializadores de fruta alrededor del mundo debido a que limita el almacenamiento en frío, y por lo tanto, los destinos de comercialización (Kader 2007).

Cada fruto cuenta con una temperatura crítica, por debajo de la cual el DF se desencadena. Por tal motivo, la temperatura seleccionada para el almacenamiento en refrigeración es 1 ó 2 °C superior a la temperatura crítica para evitar cualquier riesgo durante la cadena de frío. El pimiento morrón es un fruto moderadamente sensible al DF, su temperatura crítica es de 7 °C (Artés y Artés-Hernández 1992).

Los síntomas de DF son resultado de la disfunción metabólica en el fruto, en primera instancia éste no manifiesta los síntomas, ya que se encuentra en un periodo de latencia, en el que mantiene un equilibrio, si la exposición a temperatura baja se

prolonga y posteriormente se coloca a temperatura ambiente, se comienzan a apreciar diversos síntomas, mientras menores sean las temperaturas y mayores sean los tiempos de exposición, mayor será la incidencia en el desarrollo de los síntomas de DF (Saucedo-Veloz y Torres 1977). Los síntomas característicos del DF en pimiento morrón son picaduras, lesiones superficiales hundidas, cambio de color del cáliz, oscurecimiento de la semilla y pudriciones (Artés y Artés-Hernández 1992).

1. Desarrollo del daño por frío

Se cree que el evento que desencadena el DF es el cambio de fase de la membrana plasmática (**Figura 1**) (Lyons 1973). Al disminuir la temperatura, los lípidos de membrana pasan de un estado líquido cristalino flexible a una estructura gelatinosa sólida; este cambio provoca que las proteínas asociadas a la membrana cambien de conformación, con lo cual disminuye su funcionalidad, además se produce un desbalance de iones en la célula y cesa el movimiento del protoplasto, estos eventos ocasionan un desacoplamiento de diversos procesos metabólicos y la acumulación de sustancias tóxicas (Wang 2010; Aghdam 2013).

Cuando la exposición a temperaturas bajas es corta y se regresa a una temperatura normal de maduración, la membrana vuelve a su estado líquido-cristalino que es completamente funcional y se da un desarrollo normal; pero en caso de una exposición prolongada, el equilibrio redox del fruto se ve comprometido y por lo tanto también su vida de anaquel (Nelson y Cox 2005).

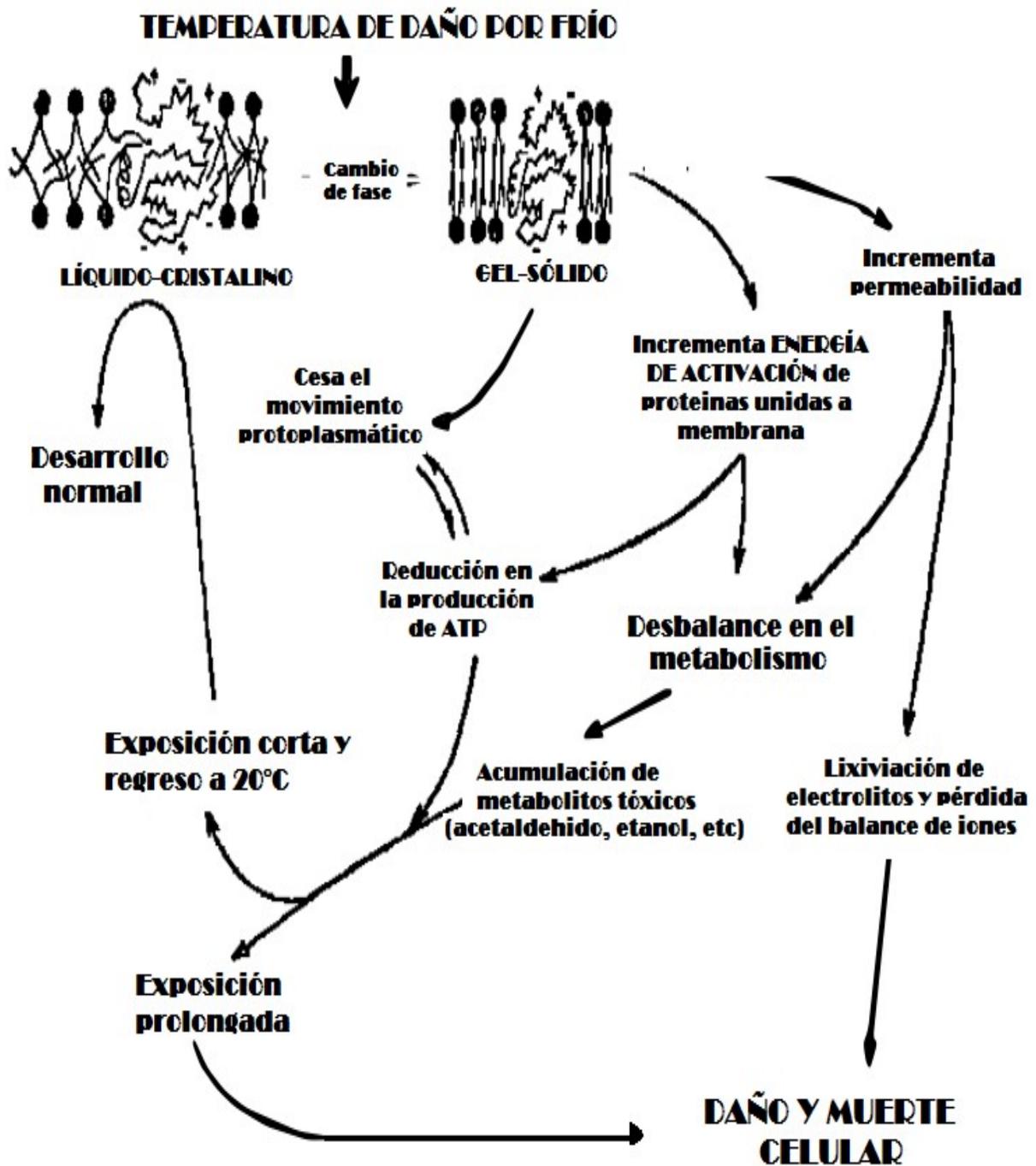


Figura 1. Esquema general del desarrollo del daño por frío.

a. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es resultado del desbalance entre la producción y eliminación de especies reactivas de oxígeno (ERO). La eliminación de las ERO es mediada por enzimas y compuestos antioxidantes de los sistemas de defensa de la célula (Pedraza-Chaverri y Cárdenas-Rodríguez 2006.). El término ERO incluye a todas aquellas sustancias que contengan uno o más átomos de oxígeno altamente reactivos, y no necesariamente son radicales (Demidchik 2014).

La sobreproducción de ERO se da debido a que las proteínas de membrana entran en un estado de disfunción, a nivel de mitocondria se puede observar que el desacoplamiento de la respiración ocasiona que los electrones de la cadena transportadora sean transferidos de manera ineficiente al oxígeno produciendo el radical superóxido, el cual puede generar diversos radicales (Nelson y Cox 2005). Posteriormente, el radical superóxido es transformado inmediatamente a peróxido de hidrógeno por la enzima superóxido dismutasa, el cual debe ser eliminado rápidamente por el sistema de defensa mediante la acción de agentes reductores. En caso de no ser así, el peróxido de hidrógeno puede ser transformado (en presencia de un metal de transición como hierro o cobre) por la reacción de Fenton o la reacción Haber-Weiss al radical hidroxilo, uno de los radicales más dañinos que se conocen (Hodges y col 2004).

El estrés oxidativo modifica las características de calidad de los frutos al inhibir el desarrollo del fruto, e inducir el oscurecimiento del tejido, la degradación de pigmentos y el ablandamiento. En general, el estrés oxidativo favorece los procesos catabólicos y la senescencia llega de forma anticipada, reduciendo la vida de

anaquel de los frutos (Demidchik 2014). El origen de todos los síntomas anteriormente mencionados reside en la acción de las ERO sobre los componentes celulares del fruto. Los ácidos nucleicos son blanco del radical hidroxilo que oxida las bases nitrogenadas, favorece la fragmentación del ADN y compromete la eficiencia de la transcripción y traducción. Los radicales libres pueden dañar incluso los enlaces covalentes de las proteínas, perdiendo su conformación nativa y por lo tanto su función. Las enzimas pierden su especificidad y poder catalítico; mientras que las proteínas fibrosas pierden fuerza y se debilitan las estructuras en las que se encuentran (Hodges y col 2004).

Las ERO inducen la peroxidación de los lípidos de membrana, los dobles enlaces de los ácidos grasos son oxidados y el índice de saturación aumenta, con lo cual se disminuye la fluidez de la membrana y aumenta la probabilidad de que se presenten fracturas, que ocasionen descompartamentación en la célula (Demidchik 2014).

Un estudio realizado con microscopía electrónica de transmisión de chile morrón con DF (almacenamiento por 21 días a 1 °C más 3 días a 20 °C) mostró daño a nivel de plástidos y membrana plasmática en la células epidérmicas y del colénquima. Además se pudo apreciar que en el tejido dañado disminuyó de manera importante el número de peroxisomas, posiblemente debido a la degradación de su membrana. La evidencia demuestra que el poder de la célula para combatir radicales (e.g., radical hidroxilo) se ve altamente comprometido en los frutos dañados por frío (Sánchez-Bel y col 2012).

2. Sistema de reconocimiento al estrés

Bajo condiciones normales de desarrollo, el fruto cuenta con una concentración de ERO normal y que sirve de referencia para que los sensores celulares detecten el aumento de las ERO, debido a la exposición a condiciones de estrés biótico o abiótico, y activen el sistema de defensa antioxidante (Demidchik 2014).

Uno de los principales sensores encargados de valorar el estrés es la NADPH oxidasa (**Figura 2**). Esta enzima membranal cataliza la conversión de oxígeno molecular a radical superóxido e incrementa la producción de radicales (etapa 1), de forma que sobrepasa la producción normal; la células responden mediante el incremento en la transcripción de proteínas del sistema de defensa que incluyen proteínas de choque térmico y enzimas antioxidantes (etapa 2), proceso que contribuye a eliminar el exceso de radicales libres y restablece el equilibrio redox (Toivonen 2004).

La función de sensar el estrés oxidativo de la NADPH oxidasa se asocia a un superdominio dependiente de calcio; la NADPH oxidasa funciona a la mitad de su velocidad máxima a una concentración de 1 μM de Ca^{+2} , este dato resulta interesante debido a que bajo condiciones de estrés la concentración de calcio citosólico puede llegar hasta 3 μM (Demidchik 2014). Por lo tanto, la NADPH oxidasa es considerada uno de los principales detectores de estrés y ayuda en gran manera a activar a tiempo el sistema de defensa del fruto para alcanzar un estado fisiológico que corresponde al de resistencia máxima (Azcón-Bieto y Talón 2008).

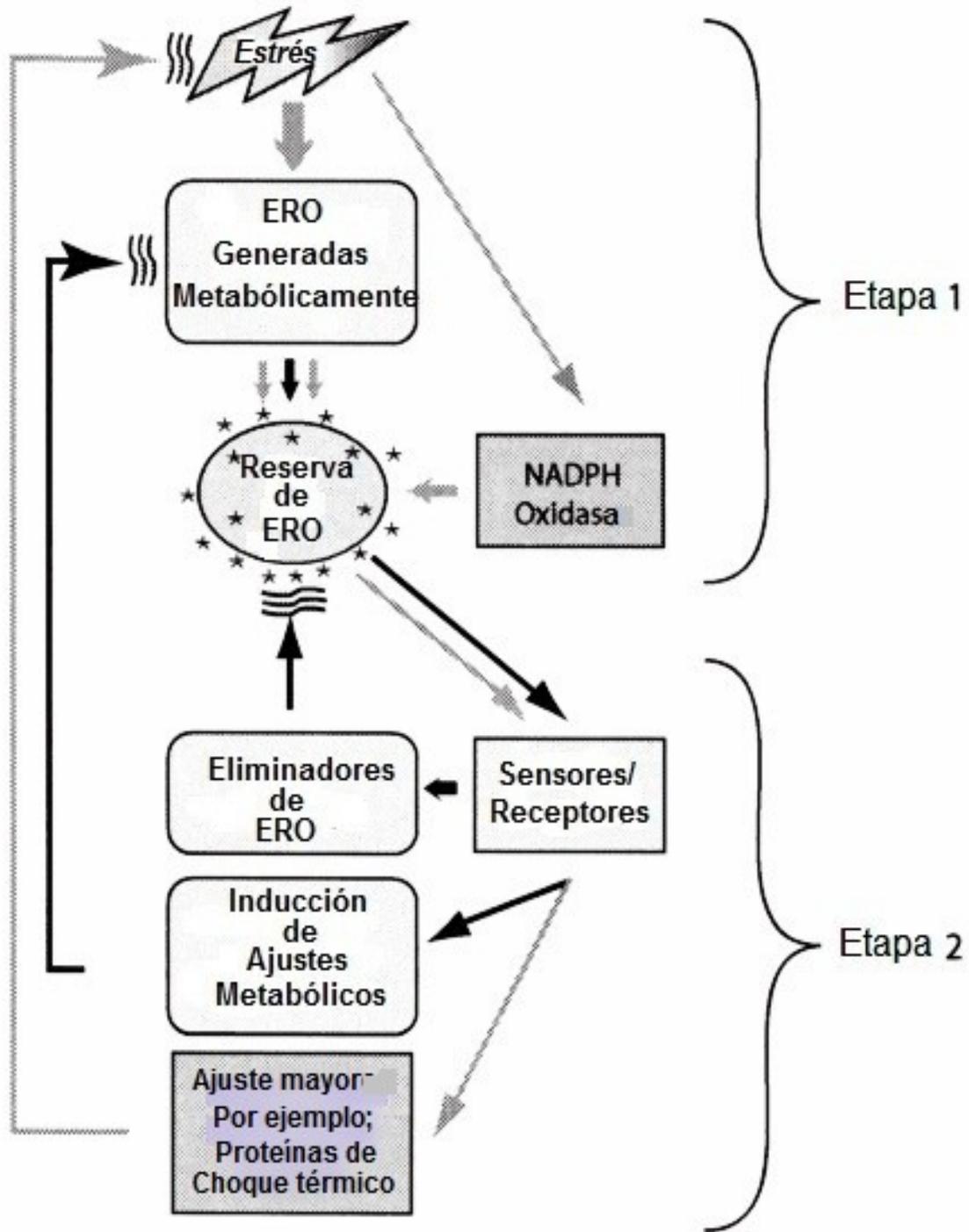


Figura 2. Reconocimiento de estrés por la NADPH oxidasa.

Se ha encontrado que la aplicación de diversas tecnologías puede inducir el estado de resistencia máxima en el fruto, lo que activa su sistema de defensa y le permite responder de mejor manera a la exposición a un agente estresante (Sevillano y col 2009).

3. Tecnologías para inducir tolerancia al daño por frío

Tecnologías poscosecha han sido ampliamente usadas en el manejo de frutos y hortalizas para mejorar el control de patógenos, retrasar la madurez y reducir la aparición de desórdenes fisiológicos como el DF. Entre las metodologías que se han aplicado con éxito en frutos para conservar su calidad e inducir resistencia al daño por frío destacan: el uso de fitohormonas, enfriamiento gradual y el tratamiento hidrotérmico (Ahmad y Prasad 2012).

a. Fitohormonas

Las fitohormonas son moléculas que en bajas concentraciones generan una serie de cambios fisiológicos y/o estructurales en el tejido vegetal al que son expuestas. El uso de fitohormonas surgió como una necesidad de usar compuestos amigables con el ambiente para solucionar problemas poscosecha. Entre las fitohormonas más usadas para tratar el daño por frío se encuentran los jasmonatos y salicilatos. Estas moléculas inducen resistencia al DF en frutos a través de diversos mecanismos. Uno de los mecanismos de protección al DF inducidos por fitohormonas es mediante la activación del sistema antioxidante enzimático y químico, lo que favorece que las membranas mantengan su integridad (Soleimani-Aghdama y Bodbodak 2013). Los tratamientos con fitohormonas incrementan la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (FAL) que cataliza un paso clave hacia la síntesis de fenólicos, este

aumento en la actividad ha sido correlacionado con una disminución en la lixiviación de electrolitos y peroxidación de lípidos (Aghdam y col 2013).

b. Enfriamiento gradual

La aplicación de enfriamiento gradual induce tolerancia al DF. La estrategia implica la disminución progresiva de la temperatura de almacenamiento hasta llegar a la temperatura definitiva; se sugiere que la disminución gradual de la temperatura del fruto permite que se aclimate y que active su sistema de defensa contra el estrés (Lurie y Sabehat 1997). Al igual que el tratamiento con fitohormonas, el enfriamiento gradual activa a la enzima FAL (Bojórquez-Gálvez y col 2010).

c. Tratamiento hidrotérmico

El tratamiento hidrotérmico (TH) es considerado una de las mejores estrategias poscosecha debido a que la aplicación es relativamente sencilla, inhibe el desarrollo de microorganismos como *Botritis cinerea* y *Alternaria alternata* al generar cambios estructurales en la cera cuticular de los frutos y eliminar esporas incrustadas en las primeras capas de células de la superficie. Además se ha observado que el TH inhibe desórdenes fisiológicos como el DF (Fallik y col 1999). El TH se aplica antes del almacenamiento a temperaturas bajas, mediante la inmersión de los frutos durante 1 a 15 min en agua con temperaturas que oscilan entre 43 y 53 °C (Fallik 2004).

El TH ha resultado altamente efectivo para inducir tolerancia al DF en chile morrón verde, se ha encontrado que la inmersión en agua a temperaturas de 53-55 °C contribuye a disminuir en más de un 50% los síntomas de DF (González-Aguilar y col 2000; Ilic y col 2012). El TH conduce a cambios fisiológicos en los frutos tales como retraso en la maduración, menor cambio de coloración y retención de la

firmeza debido a una disminución en la producción de etileno. Además, se ha encontrado que este tratamiento incrementa la expresión de proteínas de choque térmico encargadas de plegar y brindar estabilidad a otras proteínas durante condiciones de estrés (Sevillano y col 2009).

Investigaciones realizadas en diversos frutos señalan que la inmersión en agua caliente produce cambios notables en los metabolismos primario y secundario (**Cuadro 5**), observándose cambios significativos en cantidad y tipo de metabolitos (e.g., azúcares, poliaminas y compuestos fenólicos). De manera general, el TH se ha aplicado con éxito para prevenir el DF. El TH en diversos frutos modelo modifica el metabolismo de diversos compuestos; sin embargo, en chile morrón aún se desconoce cuáles compuestos y que característica asociada a ellos podría estar inhibiendo el desarrollo del DF (Luengwilai y col 2012; Yun y col 2013).

C. Metabolitos asociados con el daño por frío

1. Poliaminas

Las poliaminas son un grupo de metabolitos nitrogenados de bajo peso molecular presentes en todo el reino vegetal. Estos compuestos afectan la actividad celular, y como consecuencia están involucrados en una amplia gama de procesos fisiológicos que van desde el crecimiento, desarrollo vegetal y senescencia, hasta la protección contra estrés biótico (e.g. ataque de insectos o microorganismos) y abiótico (e.g., daño por frío, estrés salino, estrés hídrico) (Luna-Esquivel y col 2014).

La evidencia existente sugiere la participación de las poliaminas en numerosos procesos metabólicos de la planta; por ejemplo, se ha encontrado que juegan un papel importante en la modulación de la defensa de las plantas a diversos estreses,

Cuadro 5. Metabolitos acumulados a consecuencia de la aplicación de un tratamiento hidrotérmico (TH) en diversos frutos.

Fruto	Condiciones del TH	Compuestos	Referencia
Chile morrón	<ul style="list-style-type: none"> • 45 °C, 15 min • 53 °C, 4 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Putrescina • Espermidina • Espermina 	González-Aguilar y col 2000
Limón	<ul style="list-style-type: none"> • 53 °C, 2 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Escoparona • Escopoletina 	Nafussi y col 2001
Ciruela	<ul style="list-style-type: none"> • 45 °C, 35min • 50 °C, 30min 	<ul style="list-style-type: none"> • Putrescina • Espermidina • Espermina 	Bu-Kpawoh y col 2002
Tomate	<ul style="list-style-type: none"> • 40 °C, 7 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Ramnosa • Putrescina • Myo-inositol • Alanina • Fructosa-6-fosfato 	Luengwilai y col 2012
Naranja	<ul style="list-style-type: none"> • 52 °C, 2 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Glucosa • Galactosa • Quercetina • Ácido clorogénico 	Yun y col 2013

incluyendo el estrés por frío. Diferentes frutas y hortalizas (e.g., chile morrón, tomate, pepino y espinaca) aumentan su concentración de poliaminas (e.g., espermidina, espermina) cuando son almacenadas a temperaturas bajas, evidenciando la participación de las poliaminas en la protección contra el estrés por frío (Abdel-Kader y col 2011). Las poliaminas han sido reportadas como antioxidantes eficientes para muchos sistemas experimentales, que ejercen efecto a través de la protección de componentes celulares como membranas y ácidos nucleicos. Por su estructura química, las poliaminas están cargadas positivamente a pH fisiológico y pueden unirse y formar complejos con moléculas aniónicas (e.g., proteínas, fosfolípidos, pectinas), modulando su funcionalidad y contribuyendo a su estabilidad cuando son expuestas a condiciones ambientales desfavorables (Guasco-Herrera y col 2014).

2. Osmoprotectores

Los osmoprotectores son moléculas orgánicas de peso molecular bajo, carga neutra, y toxicidad baja que ayudan a los organismos a sobrevivir a condiciones de estrés osmótico extremo. Entre los principales osmoprotectores se encuentran los azúcares, polioles y aminoácidos (Burg y Ferraris 2008).

El incremento en la concentración de osmoprotectores se ha relacionado con el desarrollo de desórdenes fisiológicos provocados por sequía, salinidad y temperaturas bajas. Actualmente se cree que los osmoprotectores estabilizan las estructuras proteicas evitando su interacción con iones, como calcio y sodio, que se encuentran en exceso debido al desbalance fisiológico ocurrido a nivel de membranas; así como con el agua que se encuentra en la superficie de las

proteínas, de esta manera se favorece la conformación nativa de las proteínas (Tangue y col 2003).

Los azúcares se encuentran entre los principales metabolitos relacionados con el estrés abiótico, sobre todo con desórdenes fisiológicos como el DF. El chile morrón verde sometido a DF acumula azúcares (*e.g.*, sacarosa, fructosa). La acumulación coincide con la desaparición de gránulos de almidón, lo cual se presenta únicamente en los frutos dañados por frío, además se registra una disminución en la expresión de las enzimas de la glucólisis, lo cual explicaría la acumulación de azúcares al no ser convertidos en energía para la célula (Sánchez-Bel y col 2012).

En fruto de tomate se ha observado un incremento en la transcripción de genes relacionados con la síntesis de azúcares como trehalosa (Cruz-Mendivil 2014), uno de los azúcares más estudiados por sus propiedades osmoprotectoras. De igual manera, en tomate se acumularon azúcares que son componentes de la pared celular tales como arabinosa y ramnosa. Además se observó la acumulación de otros osmolitos tales como aminoácidos (*e.g.*, valina, alanina y asparagina) (Luengwilai y col 2012).

3. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se encuentran presentes en todo el reino Plantae, son considerados metabolitos secundarios por lo cual son sintetizados para cumplir funciones que no están relacionadas directamente con la viabilidad de la planta (Crozier y col 2006).

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos muy grande y suelen clasificarse según su estructura química. Entre los principales grupos de fenólicos se encuentran las xantonas, cumarinas, estilbenos, ácidos fenólicos, fenilpropanoides y

flavonoides (Crozier y col 2006), siendo estos dos últimos los principales compuestos fenólicos en chile morrón (Jeong y col 2011).

Entre las principales funciones atribuidas a los compuestos fenólicos se encuentra la protección contra condiciones adversas como el ataque de patógenos, falta de agua, exceso de sal, luz ultravioleta y temperaturas extremas (Crozier y col 2006), que por lo general inducen en el tejido un desbalance redox, que se traduce en estrés oxidativo (Hodges y col 2004). Cuando el tejido vegetal se expone a condiciones desfavorables, la transcripción y actividad de las enzimas relacionadas con el metabolismo de fenólicos aumenta, lo que contribuye a recuperar el balance redox en la célula. Los fenólicos tienen un gran poder antioxidante que les permite desactivar ERO, pueden quelar metales que están involucrados en la peroxidación de lípidos, aumentan la actividad de enzimas antioxidantes y reciclan antioxidantes como el tocoferol. La capacidad de los flavonoides para desactivar ERO está relacionada con la cantidad y posición de grupos hidroxilo en su estructura, los grupos hidroxilo en posición meta en el anillo B parecen tener mayor influencia sobre la capacidad para inhibir la proliferación de radicales (Hodges 2003).

La actividad antioxidante en chile morrón está correlacionada principalmente con compuestos derivados de quercetina, luteolina y apigenina (Jang 2015). En la actualidad la medición de la capacidad antioxidante se asocia a dos mecanismos generales; por un lado tenemos el mecanismo con transferencia de un átomo de hidrógeno, en este método la sustancia reductora aporta un átomo de hidrógeno con su respectivo electrón con el fin de estabilizar un radical libre y así evitar la oxidación de una sustancia indicadora (fluoresceína, ácido linoléico, LDL, ETC); por el otro lado

tenemos el mecanismo de transferencia de un electrón que es aportado por la sustancia reductora para estabilizar al radical libre (Robles-sánchez y col., 2007).

a. Biosíntesis

Los compuestos fenólicos tienen su origen biosintético en la ruta del ácido shikímico, que forma al intermediario corismato, que es precursor de diversos metabolitos, incluyendo la fenilalanina (Phe). La Phe es sustrato de la FAL, enzima clave del metabolismo de la gran mayoría de compuestos fenólicos. La FAL convierte la Phe en ácido cinámico, el cual es convertido a ácido *p*-cumárico por la enzima cinamato 4-hidroxilasa. El ácido *p*-cumárico es precursor de la síntesis tanto de fenilpropanoides como de flavonoides (Petersen y col 2010).

La biosíntesis de fenilpropanoides procede mediante la adición de grupos hidroxilo y metilo al ácido *p*-cumárico, de esta forma se sintetizan el ácido caféico, ferúlico y sinápico; cabe mencionar que los fenólicos se encuentran comúnmente en la naturaleza esterificados con azúcares (Crozier y col 2006).

Los flavonoides son una de las subclases de fenólicos más grandes, en la actualidad el número supera los 5,000; pero sólo unos cuantos se encuentran en los alimentos. La estructura básica de un flavonoide está formada por dos anillos bencénicos (A y B) y uno heterocíclico con oxígeno (C) (Ashihara 2011). Los flavonoides son clasificados en base a las diferencias estructurales en el anillo C en isoflavonas, flavanonas, flavanoles, flavonas, flavonoles y antocianidinas (**Figura 3**). Normalmente los flavonoides están glicosilados y los principales sustituyentes son glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa, xilosa y ácido glucurónico en las posiciones

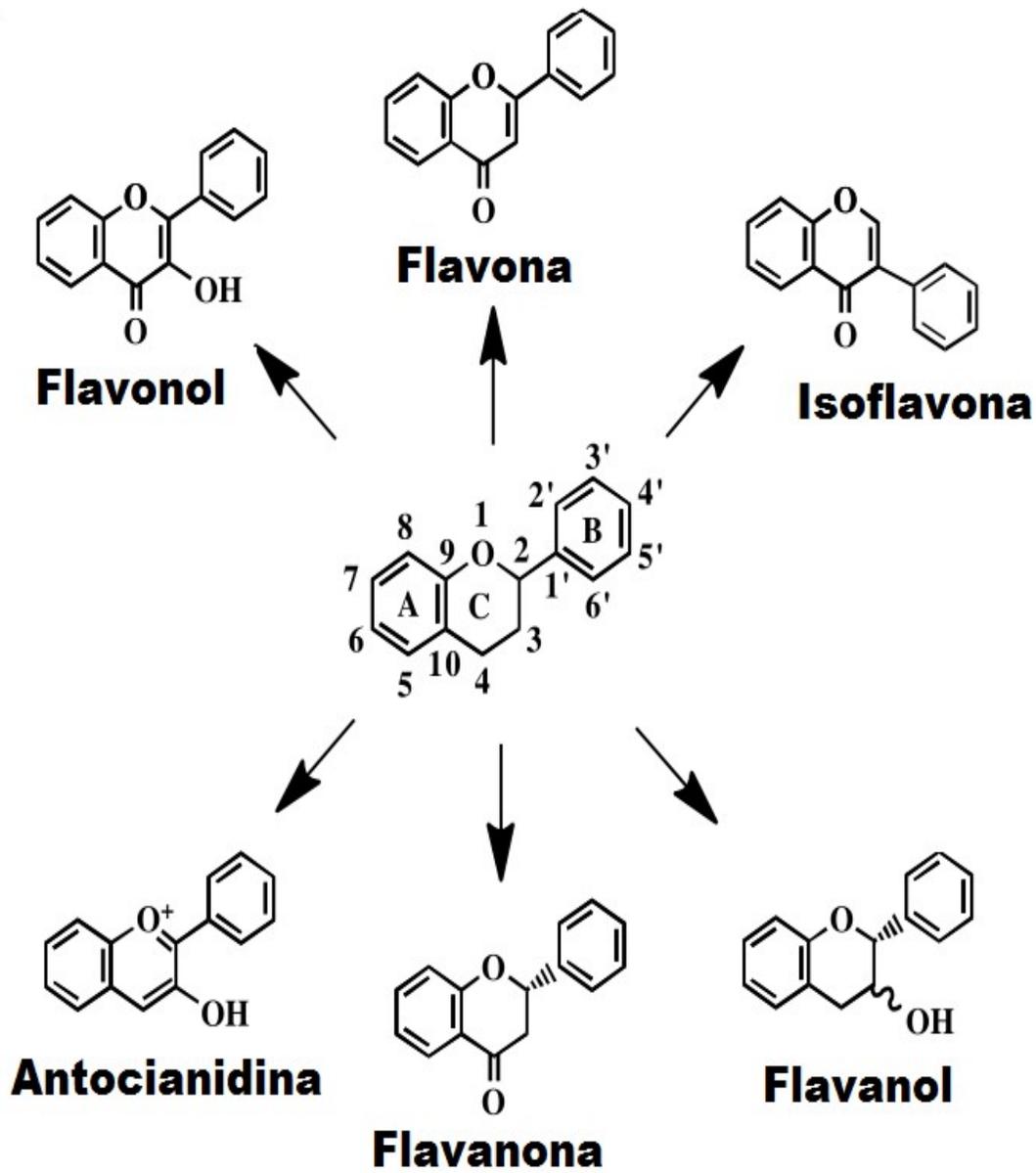


Figura 3. Estructura básica de flavonoides y su clasificación.

3, 5, 7, 3' y 4' por un enlace O-glucosídico o C-glucosídico. En algunas ocasiones los azúcares se encuentran esterificados con ácidos orgánicos, lo que genera una mayor diversidad de compuestos y un reto mayor para su análisis e identificación (Badui 2006).

Para la síntesis de flavonoides, el ácido *p*-cumárico es convertido a *p*-cumaril-CoA, que posteriormente es condensado con 3 moléculas de malonil-CoA por la chalcona sintasa (**Figura 4**), enzima clave en la síntesis de todos los flavonoides. El producto de la reacción antes mencionada es la chalcona naringenina, la cual es isomerizada a naringenina por la enzima chalcona isomerasa (Crozier y col 2006).

La formación de naringenina es indispensable, ya que es el punto de divergencia para la síntesis del resto de flavonoides, y dependiendo de la enzima que se encuentre más activa, será la vía de biosíntesis que se tomará. Una vez formado el núcleo básico del flavonoide, otras reacciones terminan su biosíntesis, las reacciones más comunes son hidroxilación, metilación, glicosilación, acilación y prenilación (Ashihara 2011).

En especies del género *Capsicum* se han encontrado niveles altos en la expresión de genes relacionados con la síntesis de compuestos fenólicos únicamente en etapas tempranas de desarrollo, con excepción del gen de la enzima flavanona 3-hidroxilasa (F3H) que aumenta su expresión en las últimas etapas de desarrollo. De igual manera se ha encontrado que la actividad de la F3H está correlacionada con la acumulación de los principales flavonoides en especies del género *Capsicum* (Jang 2015).

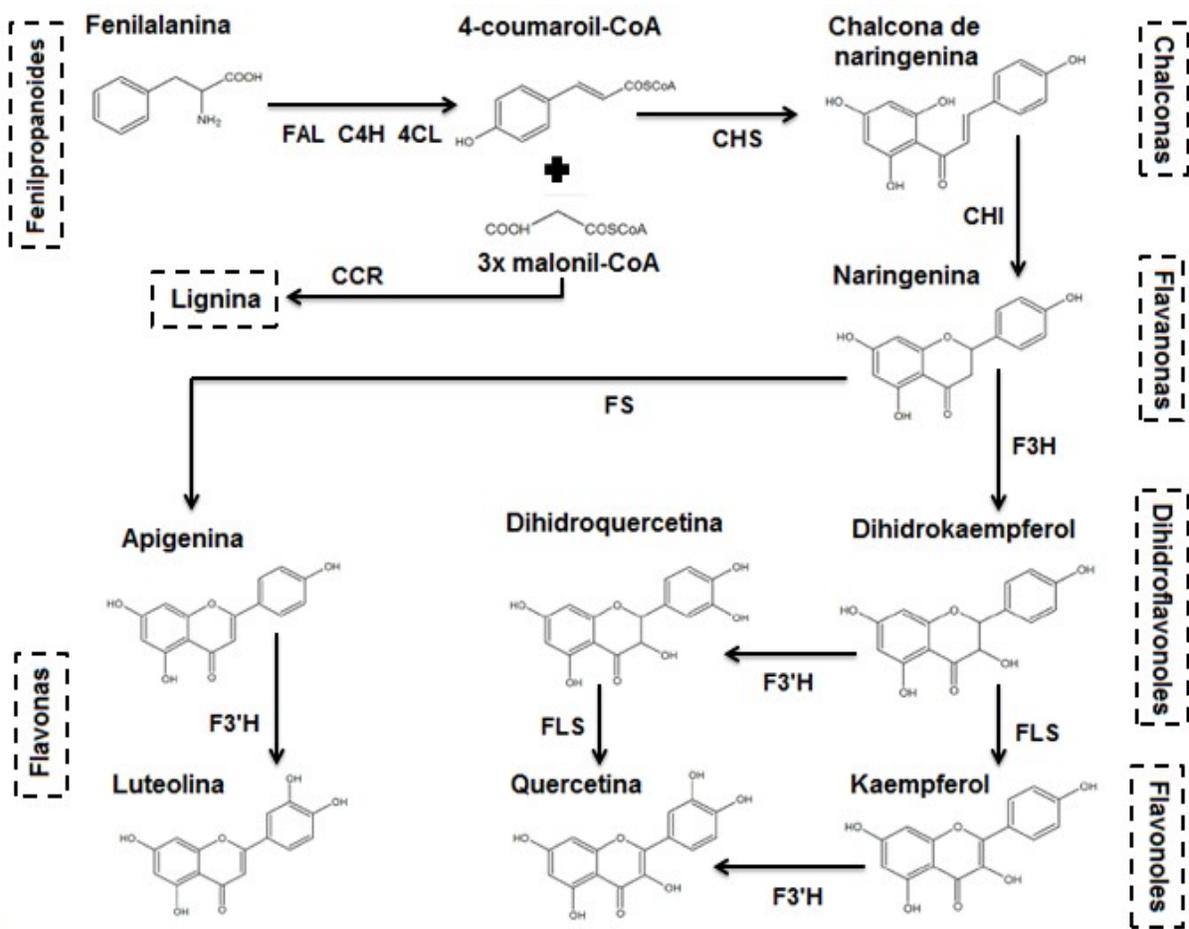


Figura 4. Ruta de biosíntesis de flavonoides y las enzimas involucradas: Fenilalanina amonio liasa (FAL), cinamato 4-hidroxilasa (C4H), 4 cumarato-CoA liasa (4CL), chalcona sintasa (CHS), chalcona isomerasa (CHI), flavanona 3-hidroxilasa (F3H), flavanona sintasa (FS), flavanona 3'-hidroxilasa (F3'H), y flavonol sintasa (FS)

a. Compuestos fenólicos relacionados con la inducción de tolerancia al estrés

Diversos estudios han permitido identificar compuestos fenólicos relacionados con tolerancia hacia el estrés ambiental. En estudios con diferentes variedades o accesiones de un cultivo se ha encontrado que las de mayor resistencia presentan un mayor contenido de compuestos fenólicos (Sánchez-Rodríguez y col 2011; Toda y col 2011).

Algunos flavonoles como kaempferol y quercetina parecen estar fuertemente relacionados con la respuesta a estrés abiótico (**Cuadro 6**), derivados glicosilados de estos compuestos se acumulan en cultivos como soya, uva, papa y tomate cuando se exponen a condiciones adversas como luz UV, falta de agua y temperaturas extremas. Algunos estudios han correlacionado negativamente la concentración de estos compuestos con la del peróxido de hidrógeno, lo que se asocia a una menor peroxidación de lípidos (Toda y col 2011; Martínez-Lüscher y col 2014; Martínez y col 2016).

Los ácidos cafeoilquínicos son un grupo de compuestos que se acumulan en diferentes cultivos (*e.g.*, tomate) sometidos a estrés salino. Sin embargo, los flavonoles tienen un poder antioxidante mayor y disminuyen en mayor medida el estrés oxidativo. El ácido clorogénico es otro compuesto importante relacionado con la inhibición del estrés. Existen reportes de una mayor expresión en las enzimas involucradas en su síntesis y acumulación en frutos de tomate y papa expuestos a luz UV y temperaturas bajas (Rhodes y col 1978; Martínez y col 2016). Actualmente diversos estudios están orientados hacia la activación premeditada del metabolismo

Cuadro 6. Compuestos fenólicos relacionados con la presencia de estrés

Estrés	Compuesto fenólico	Cultivos	Referencias
Luz ultravioleta	<ul style="list-style-type: none">• Ácido clorogénico (fenilpropanoide).• Kaempferol-3-O-hexósido (Flavonol)• Quercetín-3-O-hexósido (Flavonol).	Tomate y uva	Clé y col 2008 y Martínez-Luscher y col 2014.
Falta de agua	<ul style="list-style-type: none">• Kampferol-3-aposil-rutenósido (flavonol)	Tomate	Sánchez-Rodríguez y col 2011.
Exceso de sal	<ul style="list-style-type: none">• Ácido cafeoilquínico (fenilpropanoide).	Tomate	Martínez y col 2016.
Temperaturas altas	<ul style="list-style-type: none">• Quercetín-3-hexósido (flavonol)	Tomate	Martínez y col 2016.
Temperaturas bajas	<ul style="list-style-type: none">• Isoramnetina (flavonol)• Ácido clorogénico (fenilpropanoide).	Soya y papa	Rhodes y col 1978 y Toda y col 2011.

de fenólicos, debido a que se sabe que la acumulación de estos compuestos tendrá un impacto positivo sobre la resistencia al estrés ambiental; un ejemplo es la infección de plantas de Chile con el hongo *Penicillium resedanum*, estrés biótico, que brinda al cultivo resistencia a temperaturas altas. Las plantas infectadas tenían un mejor desarrollo a 40 °C al compararse con las plantas sin inocular, también se registró un incremento en la acumulación de las isoflavonas daidzina y *m*-glicitina que se correlacionó con una disminución en la peroxidación de lípidos y menor porcentaje de electrolitos lixiviados (Khan y col 2013).

Tratamientos poscosecha como la aplicación de fitohormonas y la inmersión en agua caliente han sido usados exitosamente para inducir la acumulación de fenólicos específicos que brindan resistencia al estrés durante el almacenamiento. La aplicación de salicilatos en mandarina induce la acumulación de flavonas polimetoxiladas (e.g., sinensentina, nobiletina, tangeretina y demetilnobiletina). Por otro lado, el tratamiento hidrotérmico en naranja incrementó los niveles de los fenólicos quercetina, chalcona naringenina, ácido clorogénico y ácido vanílico (Zhu y col 2016).

Jian-ye y col (2008) encontraron una fuerte relación entre la actividad de la enzima FAL y la inducción de tolerancia al DF en frutos de plátano, los frutos tratados con calor (38 °C, 3d) presentaron un menor desarrollo de síntomas y mayor actividad de la FAL. Adicionalmente observaron que la adición a los frutos del ácido 2-aminoindan-2-fosfónico (AIP), inhibidor de la FAL, aumenta la incidencia de síntomas de DF. Estos autores concluyen el importante papel que juegan los compuestos fenólicos en la inducción de tolerancia en frutos.

En pimiento morrón verde, el TH incrementó el contenido de putrescina, espermidina y espermina (González-Aguilar y col 2000). Este incremento fue descrito como mecanismo de defensa, debido a que se sabe que estos compuestos aumentan la estabilidad de la membrana al disminuir la temperatura de cambio de fase de los fosfolípidos y al retardar su peroxidación; sin embargo, aún se desconoce el papel que juegan metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos en la inhibición del DF en este fruto.

IV. JUSTIFICACIÓN

El chile morrón producido en México tiene gran aceptación en los países desarrollados (e.g., Estados Unidos y Canadá) y es una fuente importante de ingresos para el país. Un factor de suma importancia para la exportación exitosa de este fruto es el uso de condiciones apropiadas de refrigeración. Sin embargo, el chile morrón almacenado a temperaturas inferiores a los 7 °C presenta daño por frío, característica que limita su vida de anaquel y reduce su valor de comercialización. Actualmente, diversas tecnologías han sido aplicadas durante la poscosecha de frutos para reducir las pérdidas ocasionadas por daño por frío; entre éstas destaca el tratamiento hidrotérmico, que se ha utilizado exitosamente en diversos frutos, incluyendo el chile morrón. Diferentes investigaciones sugieren que existe una estrecha relación entre el metabolismo de compuestos fenólicos y la inducción de tolerancia al daño por frío, sin embargo aún se desconoce qué compuestos específicos, y características asociadas, podrían estar inhibiendo el desarrollo del desorden en chile morrón. Por lo tanto, resulta interesante realizar un estudio para indagar los cambios en el perfil de compuestos fenólicos en frutos de chile morrón con tolerancia inducida al daño por frío.

V. HIPÓTESIS

El tratamiento hidrotérmico de chile morrón (*Capsicum annuum* cv. Coloso) mejora su tolerancia al daño por frío e incrementa el contenido de compuestos fenólicos específicos.

VI. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes tiempos de inmersión en agua a 53 °C sobre la presencia de síntomas de daño por frío, parámetros de calidad e índices fisiológicos en chile morrón (*Capsicum annuum* cv. Coloso), así como identificar los compuestos fenólicos asociados con la inducción de tolerancia al daño por frío.

B. Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de diversos tratamientos hidrotérmicos (53 °C durante 1, 2 y 3 min, respectivamente) sobre la aparición de síntomas de daño por frío, parámetros fisiológicos y de calidad poscosecha en chile morrón, con el fin de seleccionar el tratamiento que induzca la mayor tolerancia al daño por frío.
2. Establecer el perfil característico de compuestos fenólicos en chile morrón con mayor tolerancia inducida al daño por frío, así como su relación con la actividad antioxidante.
3. Identificar los principales compuestos fenólicos de chile morrón que se asocian con su resistencia al daño por frío y que son inducidos por el tratamiento hidrotérmico.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. MATERIALES

Para el desarrollo de este proyecto se utilizaron frutos de chile morrón (*Capsicum annuum* cv. Coloso), los cuales fueron donados por la empresa Agrícola Chaparral, SPR de RL ubicada en Culiacán Sinaloa. Los frutos fueron llevados al laboratorio de Fisiología y Tecnología Poscosecha donde fueron lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio (300 ppm) para luego ser divididos aleatoriamente en 4 lotes. Un lote sirvió como control y al resto se les aplicó un tratamiento hidrotérmico, el cual consiste en sumergir completamente los frutos en un baño con agua a 53 °C durante 1, 2 y 3 min. Posteriormente, los frutos se dejaron enfriar durante 2 h a 21 °C. Cada uno de los lotes fue dividido en dos grupos, el primer grupo fue almacenado a 12 °C (temperatura control), mientras que el segundo fue almacenado a 5 °C (temperatura de daño por frío) durante 21 días, posteriormente los frutos fueron madurados durante 7 días a 21 °C con el fin de observar el daño provocado por el almacenamiento a temperaturas bajas. El tejido obtenido de cada tratamiento fue congelado con nitrógeno líquido para posteriormente ser liofilizado y guardado a -20 °C hasta su uso.

B. MÉTODOS

1. Valoración de los síntomas de daño por frío

a. Pérdida de peso

Para determinar la pérdida de peso, los frutos seleccionados se pesaron antes y después de ser almacenados durante 21 días en refrigeración y 7 días de

maduración a 21 °C. El peso de los frutos se determinó con una balanza Sartorius modelo TE 4101 (Goettingen, Alemania). La pérdida de peso se registró de acuerdo a la metodología reportada por González-Aguilar y col (2000) aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de pérdida de peso} = \left(\frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \right) \times 100$$

b. Análisis de textura en la cáscara utilizando la matriz de correlación de niveles de grises (GLCM)

El desarrollo de síntomas de DF fue evaluado con un análisis de correlación de nivel de grises (GLCM, por sus siglas en inglés) con ayuda del aditamento para ImageJ “GLCM TEXTURE”. El desorden o aleatoriedad de la escala de grises en la imagen (entropía) es un parámetro que describe la textura de una imagen, este parámetro se calcula mediante un análisis de la distribución de los píxeles en un plano tridimensional, siendo el tercer plano la intensidad de gris en la fotografía (Malegori y col 2016). Este análisis permitió la evaluación de síntomas como áreas superficiales hundidas, agrietamiento, pudriciones y picado.

Los frutos de cada tratamiento fueron marcados para definir 4 áreas que fueron fotografiadas en condiciones estándar. Las imágenes fueron adquiridas con una cámara digital (Nikon, Japón) colocada verticalmente a 39 cm del fruto dentro de una caja de madera con paredes negras. El sistema de iluminación incluyó dos lámparas fluorescentes de luz natural, con una temperatura de color de 6500 K (22 W), cubierta con difusores de luz a un ángulo de 45° de la muestra y un ángulo de observación de 2° para evitar la presencia de sombras (Cáez-Ramírez y col 2017). Las imágenes fueron capturadas de frutos obtenidos los días 0, 21 a 5 °C, y 21 más

7 días a 21 °C. Las imágenes fueron analizadas con el programa ImageJ v1.49q (Instituto Nacional de Salud, Bethesda, E.U.A.).

El procesamiento de la imagen consistió en ajustar el contraste de la imagen en un 0.3% para una mejor visualización del área afectada y además la imagen fue transformada a un formato de 8-bit (escala de gris) (García-Armenta y col., 2016). Para finalizar, el área de interés fue seleccionada y se procedió al cálculo de la entropía, el resultado fue expresado en porcentaje de aumento en entropía. El resultado de las 5 áreas del fruto fue promediado, y este valor fue tomado como la entropía global del fruto.

$$\% \text{ de aumento en entropía} = \left(\frac{\text{entropía final} - \text{entropía inicial}}{\text{entropía inicial}} \right) \times 100$$

2. Parámetros de calidad

a. Firmeza

La firmeza fue determinada tomando 5 mediciones por fruto, contando con 3 frutos por tratamiento, esto fue realizado según lo reportado por González-Aguilar y col (2000) con algunas modificaciones. El pericarpio del pimiento fue cortado en trozos de aproximadamente 2 x 2 cm de la región ecuatorial, retirando las regiones plegadas del pericarpio. Cada trozo fue colocado con el endocarpio hacia abajo en la base de un penetrómetro Chatillon (DFE 100) provisto con una punta plana de 11 mm. La punta fue introducida en el tejido hasta una profundidad de 3 mm a una velocidad de 50 mm/min. La firmeza fue reportada como la fuerza de compresión máxima en Newtons (N).

b. Color externo

El color se midió con un colorímetro Minolta CR200 en 3 regiones ecuatoriales y equidistantes de cada fruto, teniendo 3 frutos por tratamiento. Las mediciones se llevaron a cabo tomando los parámetros luminosidad (L^*), intensidad del rojo (a^*) y ángulo de matiz ($^{\circ}$ Hue).

c. Contenido de vitamina C

El contenido de vitamina C se determinó según lo reportado por Dürüst y col (1997). La muestra fresca (0.3 g) se homogenizó con 15 mL de una solución de ácido oxálico al 0.4%, se filtró a través de tela de organza y se recuperó el filtrado. Para el ensayo espectrofotométrico, el equipo fue ajustado a cero con agua desionizada. La absorbancia de una solución de ácido oxálico (0.5 mL), buffer de acetato (ácido acético 0.2 M, acetato de sodio 0.2 M y pH 4.5) (0.5 mL) y solución del reactivo 2,6-diclorofenol-indofenol (DCPI) (4 mL) se registró al final de los 15 s a 520 nm en un espectrofotómetro (UNICO SQ 2800, Dayton, N.J., EUA), este valor se anotó como L1. Para las mediciones de absorbancia de las soluciones de la muestra, el ajuste a cero se realizó por medio de una mezcla de la muestra (0.5 mL), buffer de acetato (0.5 mL) y agua desionizada (4 mL), y la absorbancia de la solución se midió utilizando DCPI en lugar de agua desionizada para obtener el valor de L2. Los valores L1-L2 representan la absorbancia de la muestra. Se llevaron a cabo 12 mediciones por fruto, contando con 3 frutos por tratamiento. Los resultados fueron expresados como mg de vitamina C en 100 g de fruto fresco con ayuda de una curva estándar de ácido ascórbico (0-45 ppm).

3. Parámetros fisiológicos

a. Lixiviación de membrana

La permeabilidad de la membrana se evaluó calculando el porcentaje de electrolitos lixiviados siguiendo la metodología reportada por Ilic y col (2012) con algunas modificaciones. De cada fruto fresco se tomaron 15 cilindros de 5 mm que fueron lavados con agua desionizada. Los trozos se cubrieron con 15 mL de manitol (0.2 M) y se incubaron a 25 °C por 2 h. La conductividad de la suspensión se midió a 25 °C con un conductímetro manual (HANNA instruments, Republica de Mauricio). La suspensión fue drenada y los trozos fueron colocados en una autoclave a 121 °C por 30 min para liberar todos los electrolitos. Se realizaron 3 mediciones por fruto y la lixiviación de electrolitos fue expresada como porcentaje de electrolitos lixiviados.

$$\% \text{ de electrolitos lixiviados} = \left(\frac{\text{conductividad inicial}}{\text{conductividad final}} \right) \times 100$$

b. Contenido de MDA

La peroxidación de lípidos se evaluó midiendo el contenido de malonaldehído (MDA) mediante la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) (Ilic y col 2012). Brevemente, 0.025 g de harina de chile morrón liofilizado fue homogeneizada por 1 min con 15 mL de etanol (80% v/v). El homogeneizado se centrifugó a 3,000 x g por 15 min. Un mililitro del sobrenadante se combinó con 1 mL de solución “-TBA”, compuesta de ácido tricloroacético (TCA) al 20% y con hidroxitolueno butilado al 0.01%, o “+TBA”, que contiene todo lo anterior más 0.65% de TBA. Las soluciones se incubaron en agua a 95 °C por 15 min, posteriormente se transfirieron a 0 °C por 10 min para detener la reacción, y se centrifugaron a 3,000 x g durante 15 min para clarificarlas. La absorbancia de la solución fue leída a 440, 532 y 600 nm en un

espectrofotómetro (UNICO SQ 2800, Dayton, N.J., EUA). La cantidad del complejo MDA-TBA (pigmento rojo) por mililitro fue calculada de la siguiente manera:

$$1) A = [(Abs\ 532_{+TBA}) - (Abs\ 600_{+TBA})] / [(Abs\ 532_{-TBA}) - (Abs\ 600_{-TBA})]$$

$$2) B = [(Abs_{440+TBA} - Abs_{600+TBA}) \cdot 0.0571]$$

$$3) \text{Equivalentes de MDA (nmol/mL)} = (A - B / 157,000) \cdot 10^6$$

4. Perfil de compuestos fenólicos

a. Preparación del extracto metanólico

La preparación del extracto metanólico fue llevada a cabo según lo reportado por López-Angulo y col (2016) con algunas modificaciones. Medio gramo de harina liofilizada de chile morrón se homogenizó con 5 mL de metanol absoluto; la mezcla fue sonicada por 20 min a temperatura ambiente, se recuperó el sobrenadante centrifugando 5 min a 3,000 x g, se hicieron dos extracciones adicionales bajo las mismas condiciones obteniendo 15 mL de extracto metanólico. El extracto fue centrifugado 15 min a 3,000 x g para eliminar cualquier residuo, el sobrenadante fue decantado en un vial ámbar y finalmente el solvente fue evaporado en un rotavapor a 37 °C. Al recipiente con el extracto concentrado se le evacuó el oxígeno con una corriente de N_{2(g)} y fue almacenado a -20 °C en oscuridad hasta su uso.

b. Extracción líquido-líquido

Los extractos metanólicos de chile morrón fueron separados por cromatografía líquido-líquido según lo descrito por López-Angulo y col (2016). El extracto metanólico fue suspendido en 0.65 mL de metanol al 90% (v/v) para ser desgrasado con hexano (3 x 3 mL). La fracción de hexano fue desechada. El extracto desengrasado se pasó por un cartucho Sep-Pak® C₁₈ para eliminar cualquier impureza de carácter hidrofóbico y fue concentrado en un rotavapor.

c. Análisis por UPLC acoplado a espectrómetro de masas (UPLC–MS)

La separación cromatográfica se llevó a cabo según lo reportado por Quintero-Soto y col (2018). El extracto desengrasado fue reconstituido en 1 mL de metanol al 90% y filtrado a través de un filtro de politetrafluoretileno (PTFE) para eliminar impurezas. Una alícuota de 10 μ L del filtrado fue introducida al equipo de cromatografía líquida de ultra-alta resolución (UPLC) modelo ACCELA dotado de un detector de arreglo de diodos (DAD) (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, EUA). La separación se realizó en una columna FORTIS C18 (50 X 2.1 mm) (Fortis Technologies LDT, Cheshire, Inglaterra). Como fase móvil se utilizaron dos solventes, el solvente A fue una solución acuosa de ácido fórmico al 1% y el solvente B acetonitrilo. La elución se llevó a cabo usando un gradiente lineal de 0.5 a 40% de B en 40 min y finalmente la columna fue equilibrada con 100% de fase A durante 5 min. El flujo fue de 0.2 mL/min a una temperatura de 30 °C. La separación fue monitoreada con el detector de arreglo de diodos (DAD) a tres longitudes de onda (280, 320 y 350 nm). El espectrómetro de masas (LTQ-XL, Thermo Scientific, EUA) equipado con una fuente de ionización de electroasperjado (ESI) fue operado en modo negativo. El voltaje del capilar fue de 35 V a una temperatura de 300 °C. El análisis de los datos se llevó a cabo con ayuda del software Xcalibur versión 2.2 (Thermo Fisher Scientific Inc., EUA) en modo de escaneo completo utilizando una relación masa/carga (m/z) de 100 hasta 2000. La identificación de los compuestos se realizó comparando los patrones de fragmentación generados por el equipo y los reportados en la bibliografía, así como con los obtenidos con estándares comerciales; mientras que la cuantificación se realizó por el método del estándar externo.

5. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se realizó mediante el método de ABTS. Esta metodología se llevó a cabo según lo reportado por López-Angulo y col (2014) con algunas modificaciones. El radical ABTS se generó mezclando 5 mL de la solución ABTS (7 mM en agua) y 88 μ L de persulfato de potasio (140 mM). La mezcla se mantuvo en reposo por 12-16 h a temperatura ambiente protegida a la luz. La solución del radical ABTS fue diluida con buffer de fosfatos (137 mM NaCl, 10 mM fosfato, 2.7 mM KCl y pH 7.4) hasta obtener un valor de absorbancia de 0.70 (\pm 0.02) a 734 nm en un espectrofotómetro (UNICO SQ 2800, Dayton, N.J., EUA). En tubos de ensayo, 0.1 mL del extracto metanólico crudo fue mezclado con 2 mL de la solución del radical, la mezcla se dejó en reposo por 30 min a 27 °C en oscuridad y se midió la absorbancia a 734 nm. Una curva de calibración de Trolox fue preparada en el rango de 0-225 μ g/mL y la actividad antioxidante fue expresada en μ mol equivalente de Trolox por 100 gramos de fruto fresco (μ mol ET/100 g ff).

6. Diseño estadístico

Para la evaluación de síntomas (pérdida de peso y entropía) se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) con dos factores: Tiempo de inmersión a 53 °C con 4 niveles (0, 1, 2 y 3 min) y días de maduración a 21 °C con 2 niveles (0 y 7). Para los análisis de calidad e índices fisiológicos se utilizó un ANOVA con 3 factores: Tiempo de inmersión a 53 °C con 4 niveles (0, 1, 2 y 3 min), días de almacenamiento con 2 niveles (0 y 21) y días de maduración a 21 °C con 2 niveles (0 y 7). Para el análisis de compuestos fenólicos asociados a la tolerancia inducida al daño por frío se utilizó un diseño factorial de 2⁴, donde los factores fueron: Tratamiento hidrotérmico (Con y

Sin TH), temperatura de almacenamiento (5 y 12 °C), días de almacenamiento (0 y 21) y días de maduración a 21 °C (0 y 7). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Fisher con un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$), utilizando 3 frutos por tratamiento con la ayuda del paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI.I (Statgraphics Technologies, Inc., EUA).

El análisis de correlación de Pearson entre los diferentes fenólicos y la actividad antioxidante fue realizado con el paquete estadístico Minitab 15 (Minitab, Inc., EUA). La correlación fue considerada como significativa con valores de p inferiores a 0.05.

Para la evaluación del efecto del TH, los promedios del control y el TH de cada día de evaluación se compararon mediante una prueba de hipótesis con ayuda de la prueba t-student con un nivel de significancia del 5%. Se utilizó el paquete estadístico Minitab 15 (Minitab, Inc., EUA).

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. PRIMERA ETAPA

1. Evaluación de los síntomas de daño por frío

a. Pérdida de peso

En la **Figura 5** se muestran los resultados obtenidos para el porcentaje de pérdida de peso en chile morrón durante su almacenamiento a 21 °C después de ser sometidos durante 21 días a 5 °C. Al inicio del periodo de maduración a 21 °C los frutos tratados durante 3 min a 53 °C mostraron una menor pérdida de peso que aquellos tratados por 1 y 2 min, los valores de estos últimos no mostraron diferencia estadística significativa con respecto al control. A los siete días de maduración a 21 °C, la pérdida de peso aumentó, siendo superior para los frutos no tratados (8.91%); el tratamiento hidrotérmico mostró un comportamiento dependiente del tiempo, registrándose las menores pérdidas ($p < 0.05$) para las muestras tratadas por 2 (7.51%) y 3 min (6.82%).

Una de las principales características asociadas al deterioro del chile morrón es la pérdida de peso, esto debido a que en la cáscara del fruto aparecen zonas agrietadas que disminuyen ampliamente su calidad sensorial (González-Aguilar y col 1998). La exposición de chile morrón a temperaturas de DF induce un daño a las células epidérmicas, facilitando el intercambio gaseoso con el medio ambiente y generando la pérdida de peso (Wang y col 1990).

Los resultados muestran que el TH protegió al fruto de la pérdida de peso, fenómeno que podría asociarse a que el TH derritió la cera epicuticular del fruto formándose una barrera física que limitó el intercambio de vapor de agua con el ambiente a través de estomas, heridas producidas durante el manejo poscosecha y

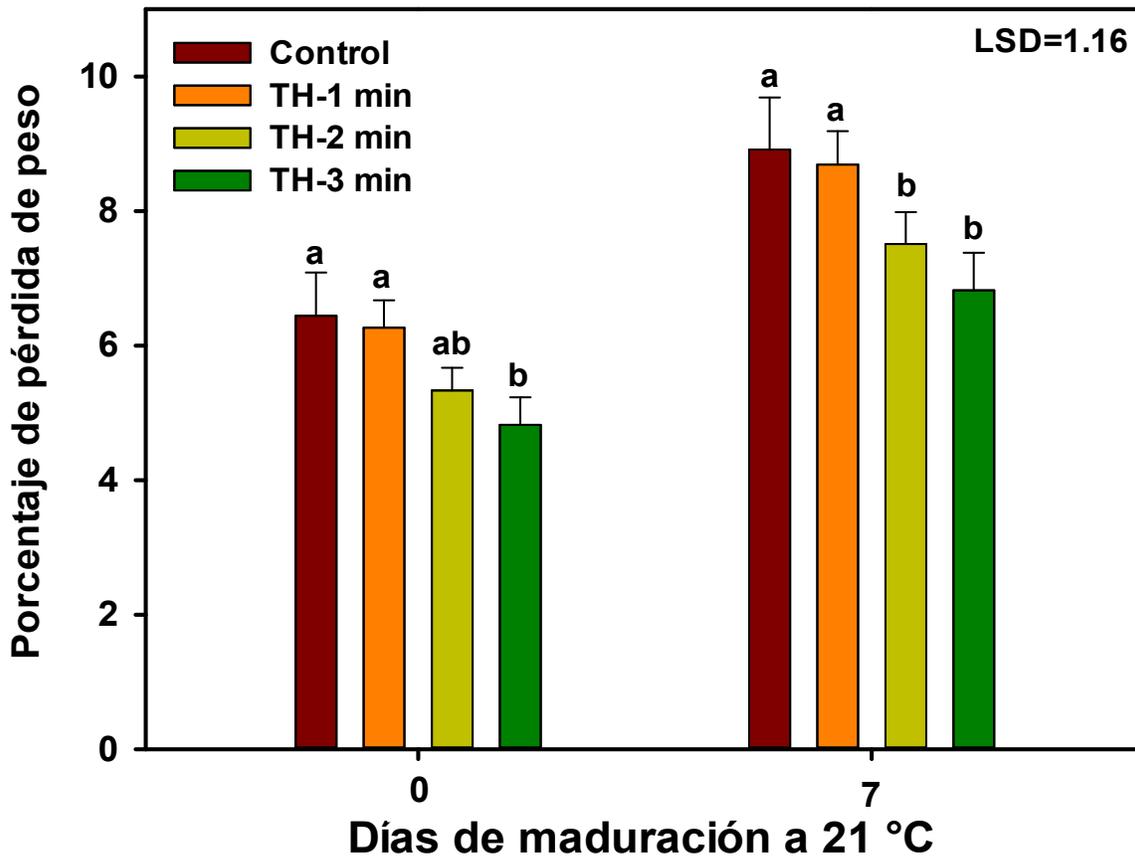


Figura 5. Porcentaje de pérdida de peso en chile morrón tratado hidrotérmicamente (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su maduración a 21 °C. Los frutos fueron almacenados previamente por 21 días a 5 °C. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en el mismo día de evaluación indican diferencia significativa ($\alpha = 0.05$).

daños microestructurales producidos como consecuencia del daño por frío. Este fenómeno ha sido reportado en manzana, chile morrón y papaya, las fotos de microscopía electrónica de barrido de los frutos tratados hidrotérmicamente mostraron una superficie más lisa y uniforme que los frutos sin tratar, con los estomas del pericarpio parcial o totalmente cubiertos, lo que disminuyó el intercambio gaseoso (Roy y col 1994; Fallik y col 1999; Ayón-Reyna y col 2017). Este fenómeno explicaría el comportamiento escalonado de la pérdida de peso en ambos días de evaluación, ya que a mayor tiempo de exposición a 53 °C las capas de cera tendrían una mayor uniformidad y cubrirían un área mayor.

Los resultados de este trabajo difieren de los reportados por González-Aguilar y col (2000), Cárdenas-Torres (2013) y Yun y col (2013); quienes observaron que la aplicación de agua caliente aumentaba la pérdida de peso en naranja, tomate, y chile morrón, respectivamente. Sin embargo, estos autores no discuten la razón de dicho comportamiento, únicamente concluyen que dicho aumento en la pérdida de peso no tuvo un efecto importante sobre la calidad del fruto.

b. Análisis de textura

El análisis de textura empleando la matriz de correlación de niveles de grises (GLCM) es un método objetivo que asegura la reproducibilidad y mejora la interpretación de los resultados, al contrastarlo con los métodos subjetivos comúnmente empleados. En particular, el análisis por GLCM representó adecuadamente las modificaciones en las superficies de los frutos asociadas con la aparición de picaduras, pudriciones y agrietamientos en chile morrón (**Figura 6**), lo que puede constatarse al contrastar los resultados con las fotografías de chile morrón sometido a tratamiento hidrotérmico y diferentes condiciones de

almacenamiento en frío, así como a maduración (**Figuras 7 y 8**). Al final del almacenamiento a 5 °C, los frutos control presentaron agrietamiento y picaduras, entretanto los frutos tratados con TH presentaron únicamente picaduras (**Figura 7**). En la evaluación de entropía al inicio del periodo de maduración, el tiempo de TH tuvo un efecto inverso con el incremento de la entropía ($p>0.05$) (**Figura 6**), similar a lo registrado para la pérdida de peso. Esto podría deberse a que los frutos con mayor tiempo de inmersión presentaron una menor incidencia de agrietamiento. Hasta este punto del almacenamiento únicamente se registraron síntomas asociados directamente con el daño estructural. Wang y col (1990) reportaron que el daño estructural de células colenquimáticas y epidérmicas provoca la expulsión de líquido intracelular, que se deposita en los espacios intercelulares, se evapora, y deja espacios libres que se asocian a la aparición de las picaduras y grietas observadas en las fotografías.

Después de siete días a 21 °C, los síntomas de daño se acentuaron, registrándose agrietamientos, picaduras, y la aparición de pudriciones por el ataque de hongos, siendo el tratamiento control el que presentó mayor daño con respecto a este último síntoma (**Figura 8**). El aumento en la proliferación de hongos en frutos dañados por frío se ha relacionado con la liberación de líquido por las células epidérmicas y colenquimáticas afectadas por el frío. Esto genera las condiciones idóneas para la proliferación de hongos tales como *Alternaria alternata* y *Botrytis*

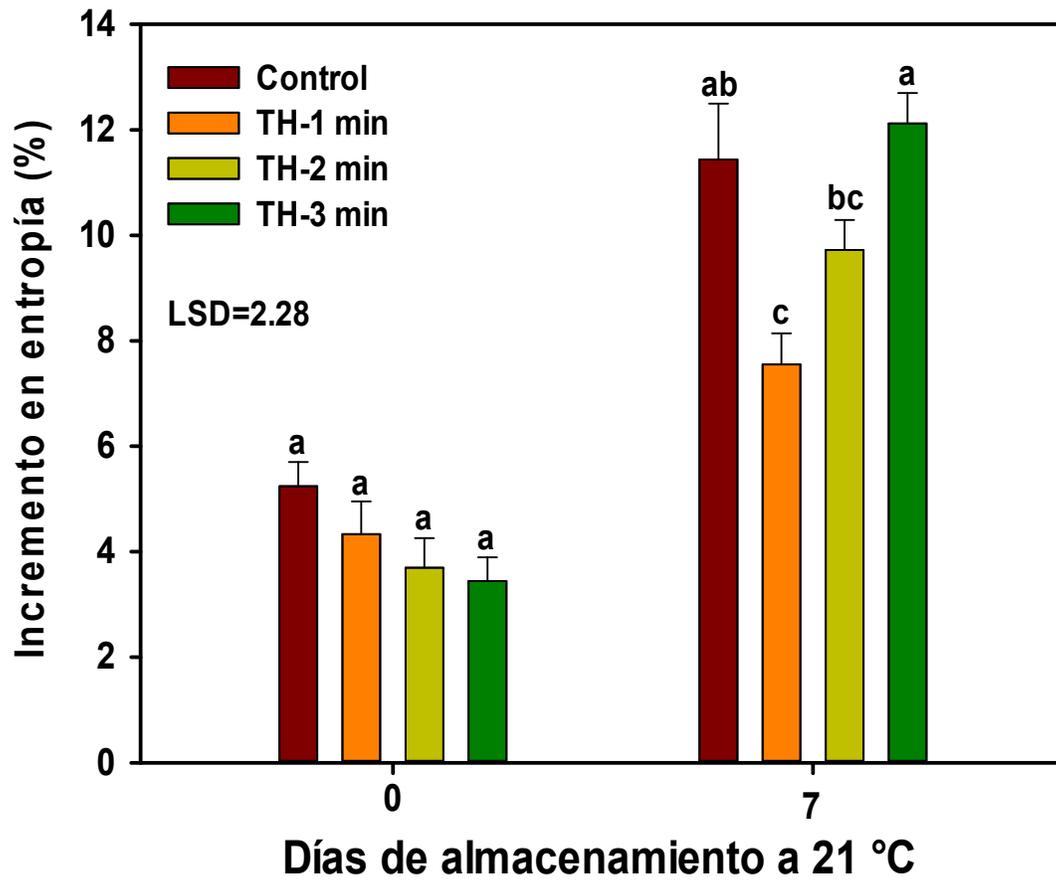


Figura 6. Porcentaje de aumento en entropía en chile morrón tratado hidrotérmicamente (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su maduración a 21 °C. Los frutos fueron almacenados previamente por 21 días a 5 °C. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en el mismo día de evaluación indican diferencia significativa ($\alpha = 0.05$).

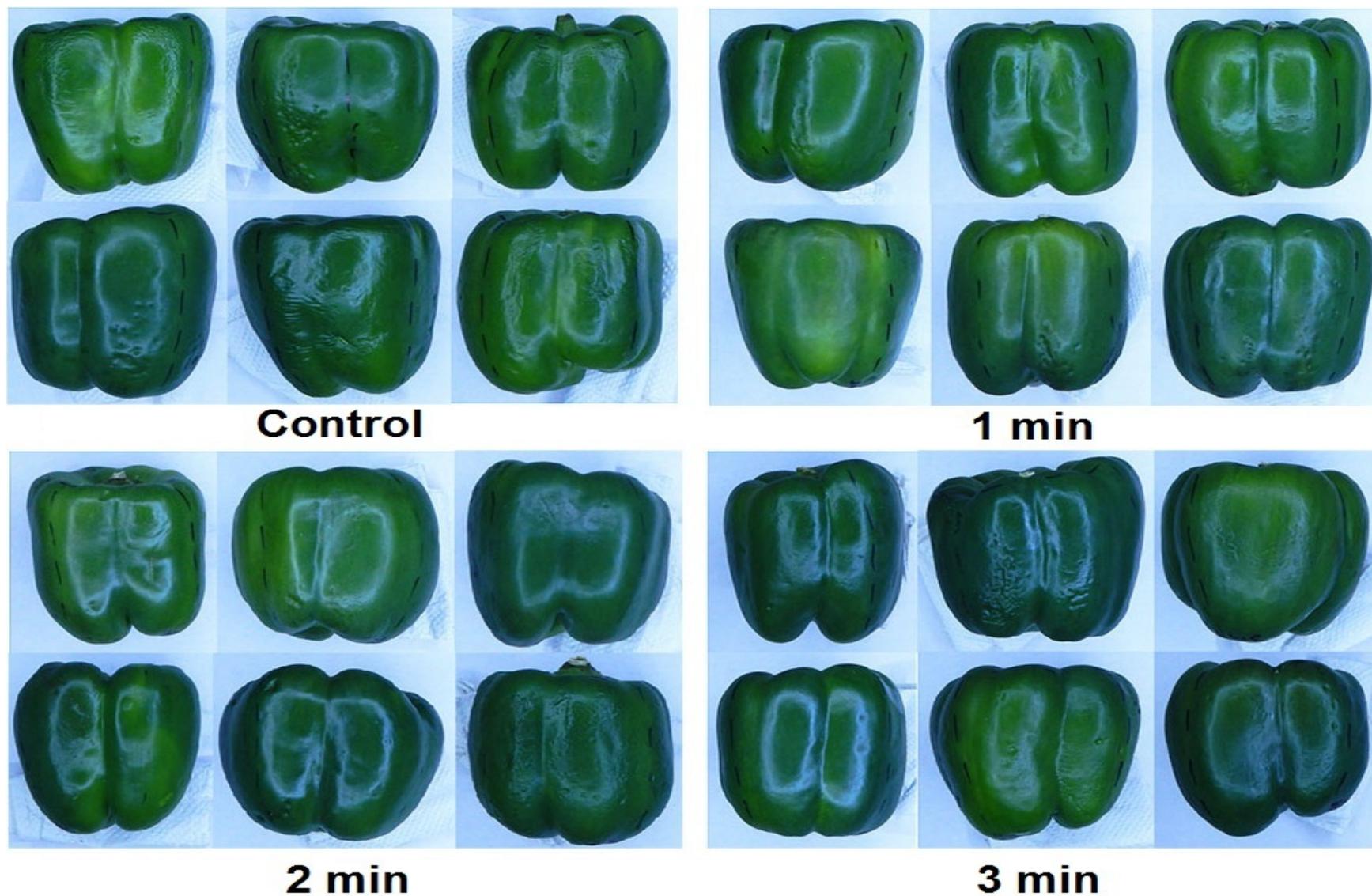


Figura 7. Síntomas de daño por frío en chile morrón después de ser almacenado por 21 días a 5 °C. La fruta fue tratada hidrotérmicamente (53 °C) durante diferentes tiempos (1, 2, y 3 min) antes del almacenamiento.

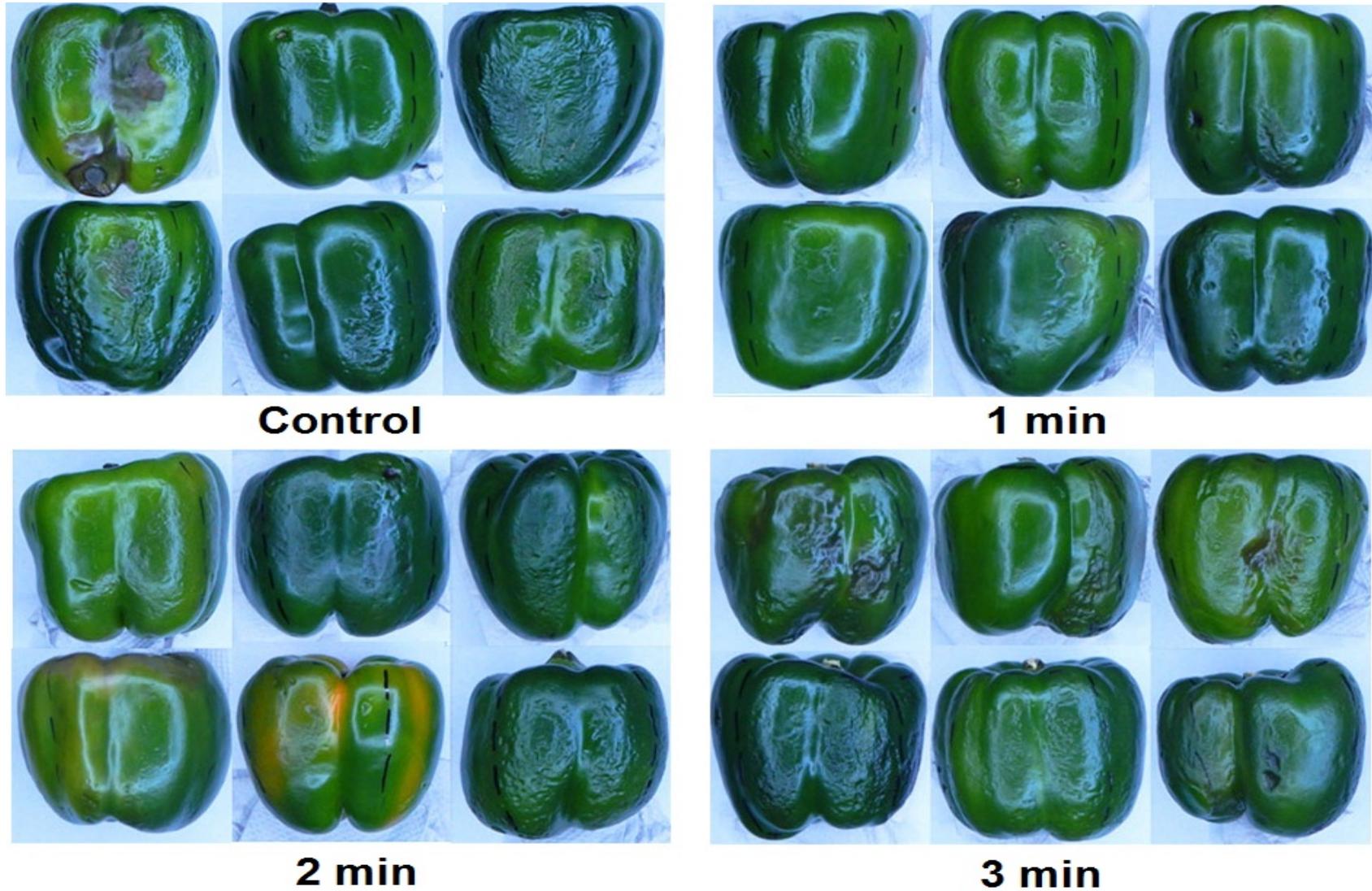


Figura 8. Síntomas de daño por frío en chile morrón después de ser almacenado por 21 días a 5 °C más 7 días a 21 °C. La fruta fue tratada hidrotérmicamente (53 °C) durante diferentes tiempos (1, 2 y 3 min) antes del almacenamiento.

cinerea; adicionalmente el líquido exudado dificulta el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono, creando condiciones que favorecen la necrosis por hipoxia celular (Wang y col 1990; Sánchez-Ballesta y col 2000).

La mayor incidencia de pudriciones presentada en los frutos control puede deberse a que las inmersiones en agua caliente destruyeron las esporas incrustadas en la epidermis, las cuales no pueden ser eliminadas con la ayuda de desinfectantes, además se ha reportado que el cambio de conformación de la cera epicuticular dificulta la penetración del hongo en el fruto (Lurie 1998; Fallik 2003).

Los frutos del TH-3 min mostraron un incremento similar en la entropía que el correspondiente a los frutos control (**Figura 6**); los síntomas predominantes fueron picaduras y hendiduras caracterizadas por una coloración oscura (**Figura 8**). Las hendiduras podrían no estar asociadas a DF y deberse a daño por calor, debido a que sólo los frutos de este tratamiento las mostraron, lo que sugiere que 3 min de exposición al TH es un tiempo excesivo para chile morrón. En frutos de nectarina también se observó este fenómeno, la inmersión a 50 °C durante 2 min acentuó la aparición de oscurecimiento interno y externo durante el almacenamiento a temperaturas de daño por frío (Çandir y col 2009). La aplicación de tratamientos con calor tiene la desventaja de que puede provocar un deterioro en el fruto si no se aplica una combinación apropiada tiempo-temperatura. Entre los principales síntomas de daño por calor se encuentran el picado, oscurecimiento de cáscara, pérdida de color en productos verdes y ablandamiento (Lurie 1998; Fallik y col 1999).

Al comparar todos los tratamientos al día 7 de maduración (**Figura 6**), el TH-1 min fue el único que mostró diferencia significativa con respecto a los frutos control. Los frutos de este tratamiento presentaron la menor incidencia de picaduras,

agrietamientos y pudriciones; lo que sugiere que este tratamiento es el mejor para inducir la tolerancia al DF en chile morrón cv. Coloso.

La inducción de tolerancia al DF por una inmersión en agua caliente también se ha reportado en frutos como naranja (53 °C, 3 min), aguacate (38 °C, 60 min) y tomate (45 °C, 60 min) (Woolf 1997; McDonald y col 1999; Schirra y col 2008). El proceso de inducción de tolerancia al DF es complejo, se ha sugerido la participación de diversos genes que conducen a la acumulación de proteínas de choque térmico y de metabolitos específicos (e.g. azúcares, poliaminas, cumarinas). En particular, en frutos de tomate y chile morrón se ha encontrado que la inducción de tolerancia está asociada a la acumulación de las poliaminas putrescina, espermidina y espermina; compuestos capaces de estabilizar la membrana plasmática y evitar la lisis celular (González-Aguilar y col., 2000; Luengwilai y col 2012; Cruz-Mendivil y col 2015; Valenzuela-Ponce 2015).

En relación con la mejor combinación de temperatura y tiempo para el TH de chile morrón (53 °C, 1 min), el tiempo podría considerarse como muy corto al compararse con el aplicado a otros frutos que pueden requerir hasta 1 h. Lo anterior puede deberse a la anatomía del chile morrón, debido a que presenta un pericarpio de espesor reducido (~ 5 mm) que favorece su rápido calentamiento. La asociación entre anatomía y sensibilidad al calor del chile morrón fue reportada por Fallik y col (1999), donde observaron que la inmersión por 0.5 min a 60 °C fue suficiente para causar daño por calor. Los resultados de este estudio difieren a lo reportado por González-Aguilar y col (2000), quienes registraron hasta un 50% de disminución en DF en chile morrón TH por 4 min a 53 °C.

2. Análisis de calidad

a. Firmeza

La evaluación de la firmeza de frutas y hortalizas es de suma importancia en la determinación de su calidad poscosecha, la firmeza repercute de manera directa en su aceptabilidad comercial. En frutos climatéricos la pérdida de firmeza desciende de manera natural como resultado del proceso de maduración; sin embargo, el chile morrón es un fruto no climatérico y es cosechado con un valor ideal de firmeza; por lo tanto, cualquier descenso en este parámetro es indeseable y representa una pérdida de la calidad comercial (González-Aguilar y col 1998).

En el **Figura 9** se observa la evaluación de la firmeza en chile morrón durante su almacenamiento a 12 y 5 °C más el periodo de maduración. El valor de firmeza de los frutos al inicio del almacenamiento fue de 102.3 N. Al contrastar la firmeza entre ellos para cada fecha de muestreo, los valores fueron similares tanto a la temperatura de almacenamiento comercial (12 °C) como a la temperatura de DF (5 °C). Los cambios de firmeza en frutos se atribuyen principalmente a la descomposición de los componentes de la pared celular y lamela media que mantienen a las células unidas y compactas. Este proceso es regulado principalmente por la acción del etileno, fitohormona que induce el aumento en la transcripción de poligalacturonasa, β -galactosidasa y xilanasa, enzimas asociadas a la despolimerización de la pared celular (Kader 2007). El chile morrón es uno de los frutos con menor producción de etileno (0.1 a 0.2 $\mu\text{L}/\text{kg}/\text{h}$ a 10-20 °C), por lo cual

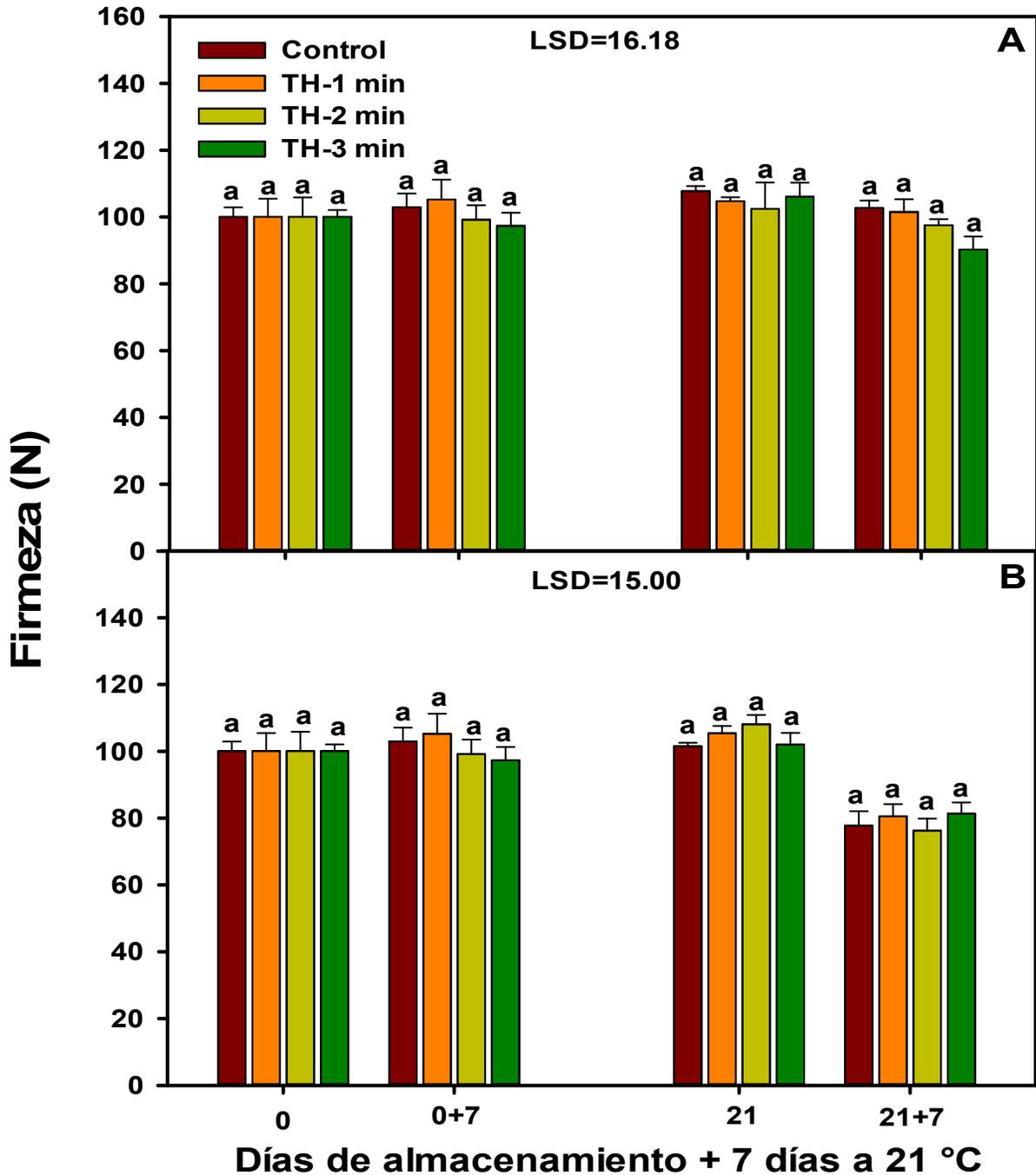


Figura 9. Firmeza en chile morrón tratado hidrotérmicamente (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en la mismo día de evaluación indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

resulta normal que no se presenten cambios en el parámetro de firmeza durante su almacenamiento comercial (Fornaris 2005).

Existen reportes en frutos de nectarina y tomate que indican que la aplicación de TH no afecta su firmeza (Çandir y col 2009; Cárdenas-Torres 2013), por lo cual se ha concluido que este tratamiento puede usarse como método de desinfección sin repercutir en la calidad del fruto.

Al final del almacenamiento a temperatura de DF (5 °C) (**Figura 9B**), la firmeza de los frutos fue estadísticamente similar a la del día 0; sin embargo, todos los frutos perdieron firmeza durante el periodo de maduración ($\approx 20\%$). La pérdida de firmeza puede atribuirse al DF y no a la inmersión en agua caliente, los frutos tratados hidrotérmicamente no presentaron diferencia con el control y además en el almacenamiento comercial (12 °C) se pudo observar que las inmersiones en agua caliente no repercuten sobre este parámetro. Esta afirmación está soportada por estudios de microscopía electrónica de transmisión que han demostrado que el daño por frío afecta gravemente a la pared celular y la lamela media, estructuras celulares responsables de mantener firmes a las células del fruto (Sánchez-Bel y col 2012).

b. Color

El color es un parámetro fundamental de la calidad de frutas y hortalizas. Al momento de la cosecha, el chile morrón debe presentar un color verde oscuro brillante que debe mantenerse durante su vida de anaquel. Los parámetros luminosidad, intensidad del rojo (a^*) y ángulo Hue permiten tener una evaluación objetiva del color. El parámetro de luminosidad va de 0 (negro) a 100 (blanco), el valor a^* indica cambios de color del verde (-60) a rojo (+60) y el ángulo Hue indica el

cambio de matiz, siendo valores cercanos al 0 colores rojos y cercanos al 180 colores verdes.

1) Luminosidad (L*)

En el primer día de evaluación los frutos presentaron un valor de 36.44 que se mantuvo sin diferencias entre tratamientos y durante todo el almacenamiento (**Cuadro 7**). Este resultado indica que la inmersión en agua caliente y demás factores evaluados no afectaron este parámetro. Este hecho resulta ser muy alentador, debido a que podría esperarse una pérdida de brillo como consecuencia de la exposición a las temperaturas altas. Estos resultados coinciden con lo reportado por Lim y col (2007), quienes encontraron que la luminosidad de los frutos se mantenía al ser almacenados durante 28 días a 5 y 10 °C. Sin embargo, difieren de lo registrado por González-Aguilar y col (1998) que señalan que la L* en chile morrón disminuye gradualmente en los frutos control durante el almacenamiento a 8 °C.

2) Valor a*

Al día 0 el parámetro a* presentó un valor de -11.20, el cual representa un tono verde apropiado para este cultivar de chile morrón. En primera instancia se demostró que los tratamientos hidrotérmicos aplicados no afectaban la coloración de los frutos durante el proceso de maduración, ya que aquellos sin almacenamiento previo y tratados hidrotérmicamente mantuvieron su color durante el periodo de maduración ($p>0.05$). Para los frutos en almacenamiento comercial (12 °C), los valores de a* al final del mismo no mostraron diferencia significativa con respecto al día cero y lo mismo se registró para los frutos con TH. Por lo tanto, se puede concluir

Cuadro 7. Evaluación de parámetros de color en chile morrón (cv. Coloso) tratado hidrotérmicamente (TH) durante su almacenamiento a 5 y 12 °C más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C.

Tiempo de TH a 53 °C (min)	Días en refrigeración			Periodo de maduración a 21 °C		
	0	21		0+7	21+7	
		5 °C	12 °C		5 °C	12 °C
Luminosidad (L*)						
0 (control)	36.44 ± 0.91 ^{a,A}	35.14 ± 0.22 ^{a,A}	36.64 ± 1.84 ^{a,A}	35.91 ± 0.61 ^{a,A}	35.52 ± 0.44 ^{a,A}	35.73 ± 0.62 ^{a,A}
1	36.44 ± 0.91 ^{a,A}	35.80 ± 0.46 ^{a,A}	36.32 ± 0.46 ^{a,A}	35.35 ± 0.79 ^{a,A}	35.61 ± 0.56 ^{a,A}	36.15 ± 0.30 ^{a,A}
2	36.44 ± 0.91 ^{a,A}	35.28 ± 1.01 ^{a,A}	36.10 ± 0.64 ^{a,A}	36.28 ± 0.38 ^{a,A}	36.24 ± 1.33 ^{a,A}	36.89 ± 0.67 ^{a,A}
3	36.44 ± 0.91 ^{a,A}	34.81 ± 0.72 ^{a,A}	36.11 ± 1.17 ^{a,A}	35.87 ± 1.22 ^{a,A}	35.99 ± 0.12 ^{a,A}	35.74 ± 1.76 ^{a,A}
Valor (a*)						
0 (Control)	-11.20 ± 0.76 ^{b,A}	-9.61 ± 0.48 ^{a,A}	-10.01 ± 1.3 ^{ab,A}	-10.39 ± 0.39 ^{ab,A}	-9.09 ± 0.46 ^{a,A}	-9.69 ± 0.60 ^{ab,B}
1	-11.20 ± 0.76 ^{c,A}	-9.58 ± 1.18 ^{ab,A}	-9.73 ± 0.61 ^{abc,A}	-10.32 ± 0.61 ^{bc,A}	-8.66 ± 0.70 ^{a,A}	-9.22 ± 1.03 ^{ab,B}
2	-11.20 ± 0.76 ^{d,A}	-9.59 ± 0.49 ^{bc,A}	-10.11 ± 0.48 ^{cd,A}	-10.19 ± 0.28 ^{cd,A}	-8.18 ± 0.94 ^{ab,A}	-8.89 ± 1.40 ^{a,AB}
3	-11.20 ± 0.76 ^{d,A}	-9.15 ± 0.82 ^{bc,A}	-9.88 ± 0.35 ^{cd,A}	-10.51 ± 0.63 ^{cd,A}	-7.96 ± 0.20 ^{ab,A}	-7.43 ± 1.28 ^{ab,A}
Ángulo Hue						
0 (Control)	131.05 ± 1.02 ^{a,A}	131.43 ± 0.38 ^{a,A}	130.01 ± 1.33 ^{a,A}	130.11 ± 0.02 ^{a,A}	129.12 ± 0.92 ^{a,A}	130.38 ± 1.20 ^{a,A}
1	131.05 ± 1.02 ^{a,A}	131.07 ± 0.89 ^{a,A}	130.37 ± 0.36 ^{a,A}	130.36 ± 1.09 ^{a,A}	129.22 ± 1.24 ^{a,A}	130.34 ± 0.58 ^{a,A}
2	131.05 ± 1.02 ^{a,A}	131.19 ± 1.02 ^{a,A}	129.48 ± 0.66 ^{a,A}	131.13 ± 0.43 ^{a,A}	128.96 ± 1.37 ^{a,A}	129.02 ± 0.99 ^{a,A}
3	131.05 ± 1.02 ^{a,A}	130.97 ± 0.24 ^{a,A}	129.94 ± 0.48 ^{abc,A}	130.36 ± 2.46 ^{ab,A}	128.53 ± 0.49 ^{bc,A}	127.69 ± 1.69 ^{c,B}

Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en el mismo renglón y letras mayúsculas diferentes (A, B, C) en la misma columna y parámetro indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$). Luminosidad (LSD=1.7257), valor a* (LSD=1.5663) y ángulo Hue (LSD=2.3246).

que los tratamientos hidrotérmicos no afectan la coloración verde de los frutos de chile morrón durante su maduración y almacenamiento comercial.

Una vez concluido el almacenamiento a 12 °C, los frutos fueron sometidos a un periodo de maduración de 7 días a 21 °C con el fin de evaluar posibles efectos negativos de los TH sobre frutos con madurez avanzada. Al finalizar este periodo a 21 °C se observó que la inmersión a 53 °C por 3 min provocó un aumento significativo en la intensidad del rojo (a^*), siendo estadísticamente diferente con el control y TH a 1 min; cabe mencionar que los tratamientos de 1 y 2 min no tuvieron diferencia significativa con respecto al control.

El aumento del valor a^* en los frutos tratados por 3 min puede deberse a la degradación de clorofila y al desenmascaramiento de otros pigmentos como luteína, violaxantina y neoxantina (Wahyuni y col 2011) que le dan al fruto una coloración entre anaranjada y rojiza, la cual es un signo de deterioro. Se ha reportado que las inmersiones en agua caliente pueden provocar la pérdida de color en productos verdes, esto debido a que las inmersiones inducen deterioro del fruto al incrementar su velocidad de respiración (Lurie 1998).

En el almacenamiento a temperatura de DF (5 °C) se observó que todos los frutos presentaron un aumento significativo en el valor de a^* , con valores entre -9.61 y -9.15 (**Cuadro 7**), que aún representan a una coloración verde característica en chile morrón ($p < 0.05$).

Posterior al almacenamiento a temperatura baja, los frutos se dejaron madurar durante 7 días a 21 °C. Al final de este periodo no se observaron diferencias con respecto al inicio del periodo de maduración ni entre los tratamientos (**Cuadro 7**).

González-Aguilar y col (1998) reportaron un valor inicial de -9.54 en chile morrón verde, el cual disminuyó a -3.23 en los frutos control tras haber sido almacenados durante 28 días a 8 °C. Esto difiere de lo reportado en el presente trabajo, ya que se encontró que los frutos control no presentaron un cambio significativo en este parámetro tras haber sido almacenados durante 21 días a 12 °C más 7 días a 21 °C.

3) Ángulo hue

El ángulo hue o ángulo de matiz se utiliza como una medición del color ya que resulta de la combinación de los parámetros a^* (verde-rojo) y b^* (azul-amarillo). El valor del ángulo de matiz para los frutos al inicio de la evaluación fue de 131.05, el cual resultó estadísticamente igual para todos los tratamientos a excepción de los frutos que recibieron el TH-3 min. Al final del periodo de maduración tanto los frutos provenientes del almacenamiento comercial (12 °C) como aquellos del daño por frío (5 °C) disminuyeron el ángulo de matiz, siendo 128.53 y 127.69, respectivamente (**Cuadro 7**). Este cambio está asociado a una disminución en la intensidad del rojo (a^*), registrado en los frutos con TH por 3 min, y a un aumento de intensidad del amarillo (b^*) que correspondería a la degradación de la clorofila.

De manera general puede concluirse que el ángulo de matiz se mantiene para todos los tratamientos, lo que coincide con lo reportado por Lim y col (2007) que mostró que frutos de chile morrón almacenados durante 28 días a 5 y 10 °C mantuvieron el tono de los frutos.

En un estudio realizado en frutos de lima se encontró que la inmersión a 47 °C durante 2 y 4 min no tuvo efecto sobre el ángulo de matiz, mientras que la inmersión a 52 °C provocó una importante disminución en el color, que fue asociada a que estos frutos presentaron síntomas de daño por calor (Pranamornkith 2009).

3. Contenido de vitamina C

Los frutos de chile morrón presentan un contenido alto de vitamina C y es un indicador de su calidad nutrimental. Según datos reportados por la FAO (2003) el contenido de vitamina C en chile morrón es de 128 mg/ 100 g de fruto fresco (ff), cantidad que representa el 142% de la ingesta diaria recomendada y que es superior a la presentada por otros frutos como naranja (53 mg), piña (47 mg) y papaya (60 mg).

Al primer día de evaluación los frutos presentaron un valor de 100.06 mg vitamina C/100 g ff (**Figura 10**). Al aplicar los tratamientos a 53 °C y dejar madurar por 7 días se observaron incrementos de vitamina C del 31 y 27% para los TH por 2 y 3 min, respectivamente. Este incremento por efecto del TH ha sido también reportado en frutos como manzana y kiwi (Shahkoomahally y Ramezanián 2013; Sharma y col 2013) y puede deberse a que el tratamiento le da más estabilidad a este compuesto al inactivar enzimas como la ascorbato peroxidasa, lo que permite su acumulación en el tejido.

Cabe mencionar que el contenido de vitamina C de los frutos almacenados a 12 °C durante 21 días mostraron valores cercanos a los 100 mg vitamina C/100 g ff (**Figura 10A**); mientras que los frutos almacenados a 5 °C presentaron valores cercanos a los 80 mg vitamina C/100 g ff (**Figura 10B**), a excepción de aquellos sometidos al tratamiento TH-1 min que presentaron valores superiores, esto podría significar que estos frutos no sufrieron la disfunción celular que condujo a la pérdida de vitamina C.

Los resultados del presente trabajo coinciden con lo reportado por Hodges (2003) y Sánchez-Bel y col (2012), ya que reportan que frutos con DF presentan un daño

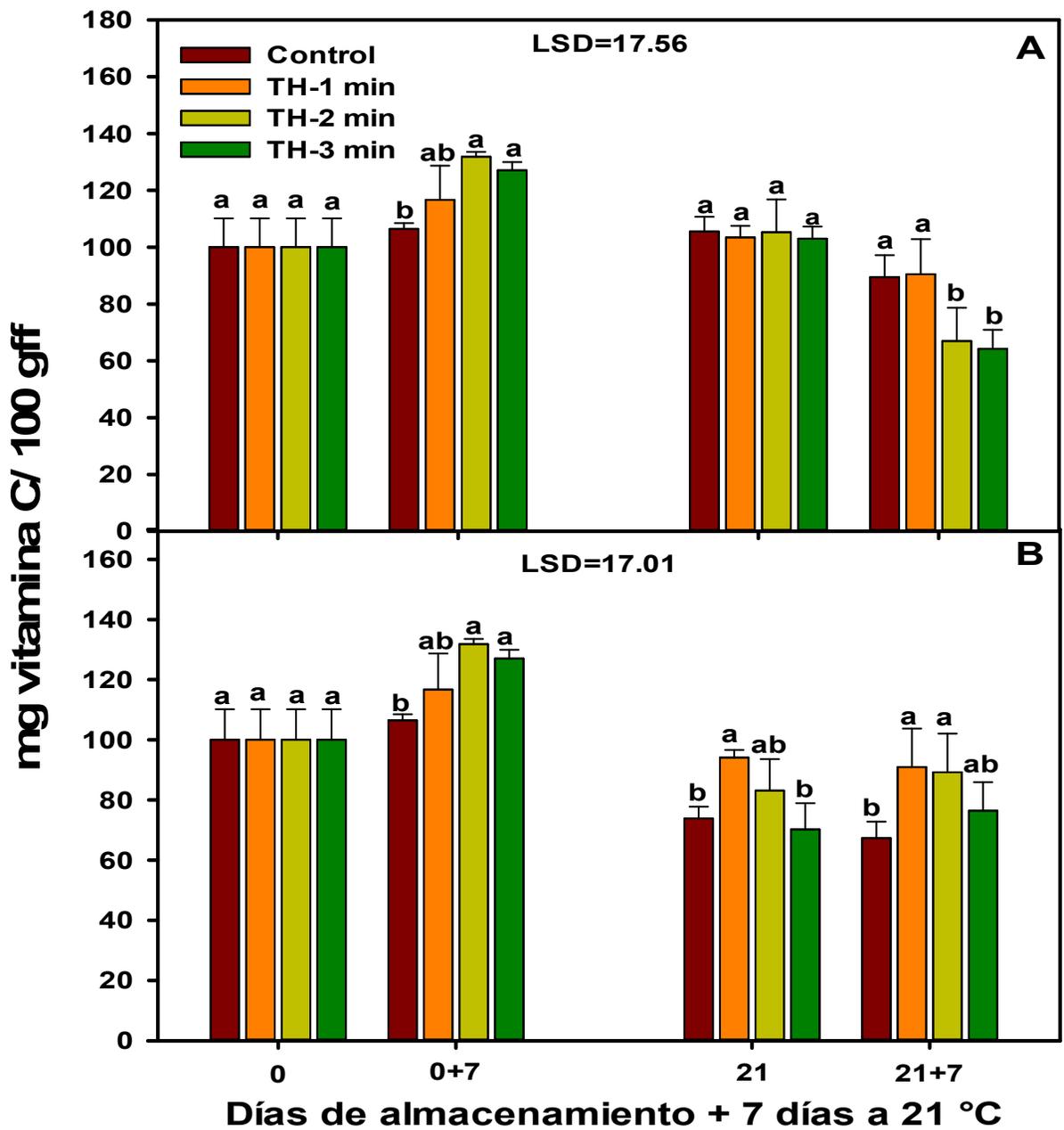


Figura 10. Contenido de vitamina C en chile morrón tratado hidrotérmicamente (53 °C) (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en la mismo día de evaluación indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

severo en peroxisomas, lo que ocasiona la liberación de sustancias oxidantes que deben ser inactivadas para restablecer la homeostasis celular, en dicho proceso el ácido ascórbico funciona como antioxidante y disminuye su concentración.

Durante la maduración por 7 días de los frutos almacenados a 12 °C se observó una disminución en el contenido de vitamina C en los tratados hidrotérmicamente durante 2 y 3 min, registrándose valores inferiores a los encontrados para los frutos control y los tratados por 1 min. Esta disminución podría atribuirse a la aplicación de estos tratamientos hidrotérmicos, ya que en la evaluación de color se observó que la inmersión durante 3 min tuvo un efecto negativo al final del periodo de maduración, y aunque los frutos tratados durante 2 min no presentaron una pérdida de color, la disminución en este parámetro podría indicar que estos frutos presentan indicios de sobremaduración.

En el caso de los frutos almacenados a temperatura de daño por frío (5 °C), el contenido de vitamina C no mostró cambios significativos al terminar su periodo de maduración, siendo los frutos control y los tratados durante 3 min los que presentaron una mayor pérdida de vitamina C (**Figura 10**); lo que coincide con lo presentado en la evaluación de síntomas, donde presentaron mayor incidencia de síntomas de daño por frío y calor (**Figura 8**), respectivamente.

En concordancia con lo presentado en este trabajo, Pranamornkith (2009) reportó que la incidencia de DF en frutos de lima tiene un efecto desfavorable sobre el contenido de vitamina C; asimismo encontró que al aplicar el TH a 52 °C durante 2 min, ocasionó daño por calor en el fruto y su contenido de vitamina C disminuyó hasta en un 37%.

4. Parámetros fisiológicos

a. Lixiviación de electrolitos

El porcentaje de lixiviación de electrolitos es un parámetro que permite evaluar la integridad de la membrana, siendo un indicador de la resistencia que ofrecen las células del fruto a la pérdida de iones en un medio enriquecido en manitol.

Como se observa en la **Figura 11**, el valor inicial de lixiviación fue de 19.83%. Una vez aplicados los TH, durante la maduración se observó que el porcentaje de lixiviación no incrementó con respecto al día cero, y de igual manera no se encontraron diferencias con respecto al control. Esto indica que aún el tratamiento más severo no afectó este parámetro durante su maduración; coincidiendo con la ausencia de cambios en color, firmeza y el contenido de vitamina C para el mismo periodo.

Al transcurrir el almacenamiento comercial únicamente los frutos control incrementaron significativamente la lixiviación obteniendo valores de 23.18%, registrándose diferencia estadística con los frutos tratados por 2 y 3 min para el mismo día (**Figura 11**). Al concluir el periodo de maduración de los frutos almacenados a 12 °C, todos los tratamientos se igualaron estadísticamente, llegando a un valor de lixiviación de aproximadamente 24%.

Con estos datos se puede aseverar que los TH por 2 y 3 min ayudaron a mantener la integridad de las membranas de frutos almacenados a 12 °C. El retraso en el aumento del porcentaje de electrolitos lixiviados a causa de la aplicación de una inmersión en agua caliente ha sido reportado en frutos de tomate, mango y granada, donde la combinación de tiempo y temperatura jugó un papel crítico para evitar

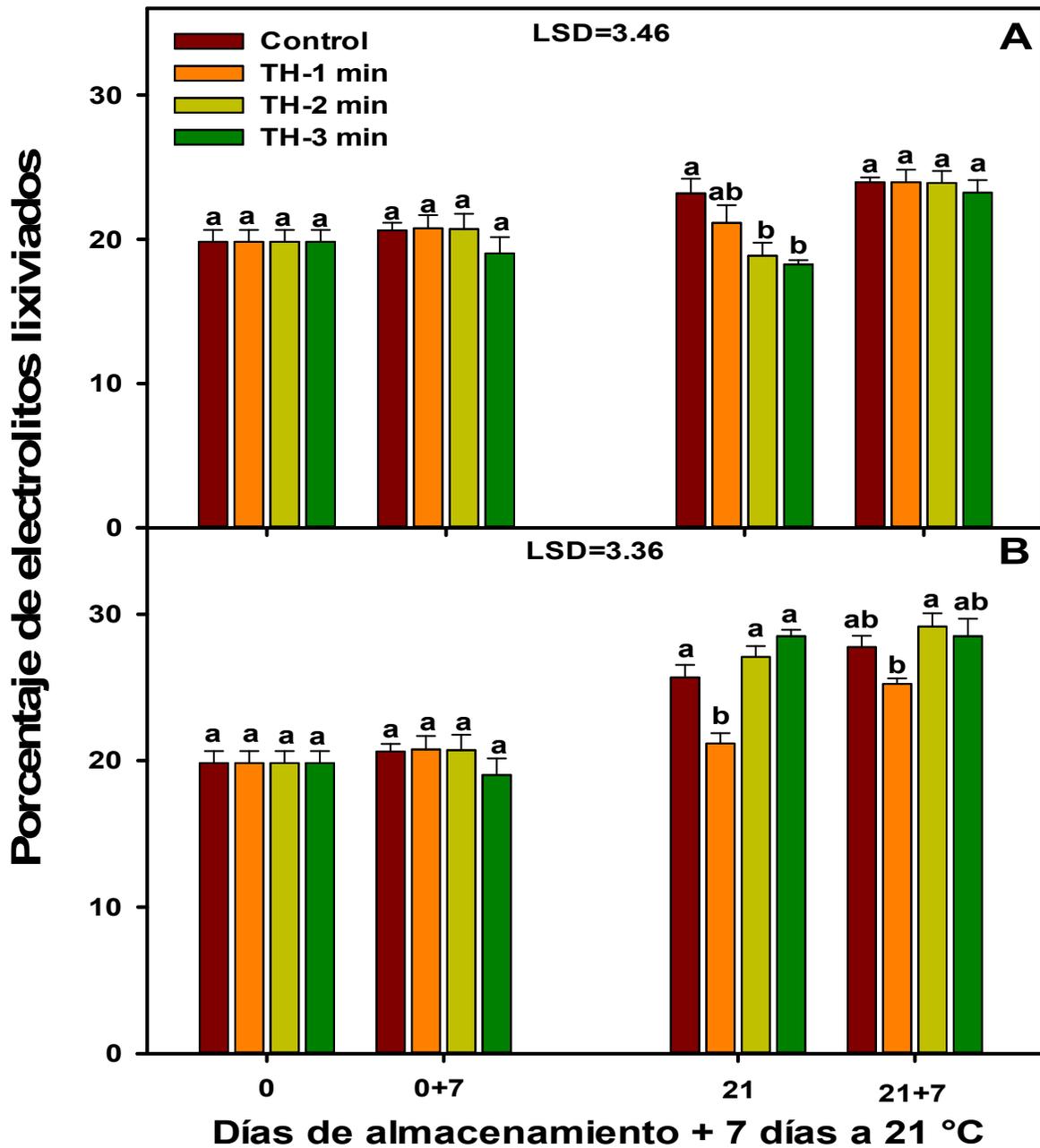


Figura 11. Lixiviación de electrolitos en chile morrón tratados hidrotérmicamente (53 °C) (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en la mismo día de evaluación indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

daño en el tejido y una mayor lixiviación (Nyanjage y col1999; Mirdehghan y Rahemi 2005; Cárdenas-Torres 2013).

Un estudio transcriptómico reveló que el TH en tomate indujo una sobre-expresión de genes relacionados con la síntesis de trehalosa que fue asociada a la reducción en la lixiviación de electrolitos (Cruz-Mendivil y col 2015). La trehalosa es un azúcar no reductor que se ha relacionado con la resistencia al estrés abiótico, ejerciendo un potente efecto osmoprotector sobre las proteínas de la membrana. Además se observó una disminución en la transcripción de diversos genes que participan en la degradación de la pared celular y de los lípidos de membrana (Cruz-Mendivil y col 2015), evidencia que soporta el efecto positivo de la inmersión en agua caliente como tratamiento poscosecha para mantener la integridad de la membrana celular.

En el caso del almacenamiento a 5 °C, al día 21 se observó un incremento en la lixiviación de electrolitos de los frutos control (25.68%) y de los sometidos a TH por 2 min (27.08%) y 3 min (30.49%) (**Figura 11**). En lo que respecta a los frutos TH por 1 min (21.7%), la lixiviación fue estadísticamente similar a los frutos del día 0, resultado que concuerda con la evaluación de síntomas de daño por frío y con el contenido de vitamina C. Este tipo de asociación fue reportada previamente en tomate (Cruz-Mendivil y col 2015), indicando que a menor desarrollo de síntomas hay un menor porcentaje de electrolitos lixiviados.

Durante la maduración a 21 °C, el porcentaje de lixiviación sólo incrementó para los frutos TH por 1 min, igualándose estadísticamente con el resto de los tratamientos (**Figura 11**). Este resultado permite aseverar que este tratamiento disminuye el efecto negativo del frío en la integridad de la membrana del chile morrón.

En contraste con el incremento en la lixiviación de los frutos tratados por 2 y 3 min y almacenados a 5 °C, el chile morrón tratado de la misma manera pero almacenado a 12 °C mostró una disminución en la lixiviación (**Figura 11**). La causa probable de este resultado es que al combinarse los efectos de los TH (2 y 3 min) y el almacenamiento a temperatura de DF se obtuvo un efecto negativo que podría traducirse en un mayor daño que el causado únicamente por el DF.

b. Contenido de malonaldehído (MDA)

El contenido de malonaldehído (MDA) en frutos se utiliza como indicador de daño de las membranas celulares, esto debido a que el MDA es producto de la oxidación del ácido linoléico presente en la misma (Hodges y col 2004).

En el primer día de evaluación, los frutos contenían 5.77 nmol MDA/ g ff (**Figura 12**), este valor no fue afectado por la aplicación del TH al día cero ni al transcurrir 7 días a 21 °C.

De manera general, la aplicación del TH no afectó el contenido de MDA, pero sí los días de almacenamiento, observándose una diferencia significativa hasta el último día de evaluación. Al final de la maduración los frutos alcanzaron el máximo de MDA (7.55 nmoles/ g ff), representando un incremento del 30.8%. Este valor contrasta con lo reportado para otros frutos como tomate y mango, donde se presentan aumentos de hasta un 900% (Cárdenas-Torres 2013; Ramírez-Perales 2017). Estos frutos al final del almacenamiento registraron una firmeza de 20 N, reflejo de una alta degradación celular y que se manifiesta en el incremento de MDA.

En el presente estudio, la menor firmeza registrada fue de 76 N, lo que se asocia a una buena integridad celular, lo cual ayudaría a explicar porque el contenido de MDA no incrementó como lo observado en frutos climatéricos como mango y tomate.

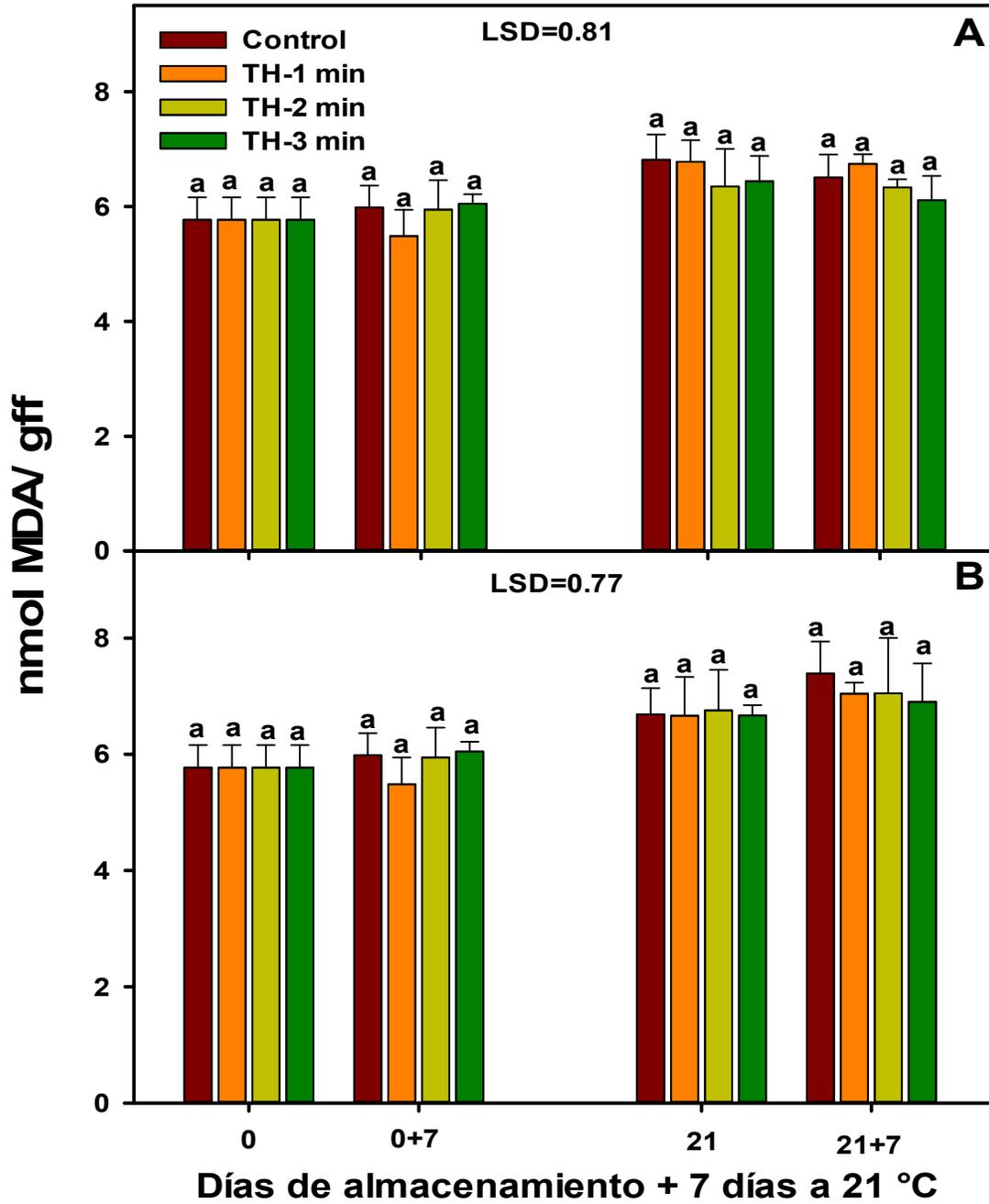


Figura 12. Contenido de malonaldehído (MDA) en chile morrón tratado hidrotérmicamente (53 °C) (TH), por diferentes tiempos (1, 2 y 3 min), durante su almacenamiento a 12 °C (A) y 5 °C (B) más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en la mismo día de evaluación indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

Estudios en frutos de mango mostraron que el contenido de ácido linoléico se reduce en etapas avanzadas de madurez, fenómeno que no se presenta en frutos de chile morrón (Martínez y col 2006; Deshpande y col 2016), este hecho podría explicar porque el contenido de MDA no aumenta durante el almacenamiento de chile morrón, ya que el ácido linoléico es el principal precursor de este compuesto.

En concordancia con los presentado en este trabajo, Whitaker (1995) registró que la composición de los fosfolípidos de membrana de frutos de chile morrón sometidos a DF (14 días a 2 °C + 3 días de 21 °C) no se modificaba, por lo cual en chile morrón no se puede hacer una asociación entre el aumento en el contenido de MDA y el desarrollo de DF.

5. Elección del mejor tratamiento hidrotérmico

Tomando en cuenta los parámetros evaluados en esta etapa del trabajo, el TH por 1 min a 53 °C resultó ser el mejor para inducir tolerancia al DF. Aunque este TH no disminuyó significativamente la pérdida de peso, fue el único tratamiento que presentó diferencia significativa con respecto al control en la evaluación de síntomas de DF. De igual manera en la evaluación de contenido de vitamina C y lixiviación de electrolitos se encontró un mejor efecto en este tratamiento. Entretanto en la evaluación de color y firmeza no se presentó diferencia con respecto al control, este resultado resulta ser positivo, ya que este tratamiento fue capaz de reducir la aparición de síntomas sin alterar la coloración natural del fruto.

Por lo tanto, el TH a 53 °C por 1 min fue utilizado para identificar los compuestos fenólicos asociados con la inducción de tolerancia al daño por frío en chile morrón.

B. SEGUNDA ETAPA

1. Perfil de compuestos fenólicos

a. Análisis cualitativo

El análisis por UPLC-DAD-ESI-MS mostró la presencia de diversos compuestos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico y de los flavonoides luteolina y quercetina (**Figura 13** y **Cuadro 8**).

En base al espectro de masas se identificaron 5 compuestos derivados del ácido cinámico (1-5), caracterizados por un espectro UV-Vis con una longitud de onda máxima (λ_{\max}) a 320 nm (Santon-Buelna y González-Paramás 2014). El ion cuasi molecular $[M-H]^-$ del compuesto **1** presentó un valor de masa/carga $m/z = 325$ unidades (u), así como la presencia de fragmentos del ion a $m/z = 163$ $[(M-H) - \text{hexosa}]^-$ y 145 $[(M-H) - \text{hexosa} - \text{H}_2\text{O}]^-$ correspondientes al ion del ácido *p*-cumárico originado por la pérdida sucesiva de hexosa y agua, respectivamente, por lo tanto el compuesto se identificó como cumaroil-hexósido (**Cuadro 8**); sin embargo, este compuesto presentó un máximo de absorción a 280 nm, que difiere de lo reportado para derivados de ácido cinámico como el ácido cumárico (Jeong y col 2011).

Morales-Soto y col (2013) reportaron la presencia en Chile morrón de un derivado del ácido cafeico unido con una hexosa a través de un hidroxilo del anillo aromático; el espectro de absorción de este compuesto presentó su λ_{\max} a 280 nm en lugar de la banda esperada a 320 nm. Por lo tanto podría sugerirse que la molécula de azúcar está unida al ácido cumárico a través de un grupo hidroxilo del anillo aromático.

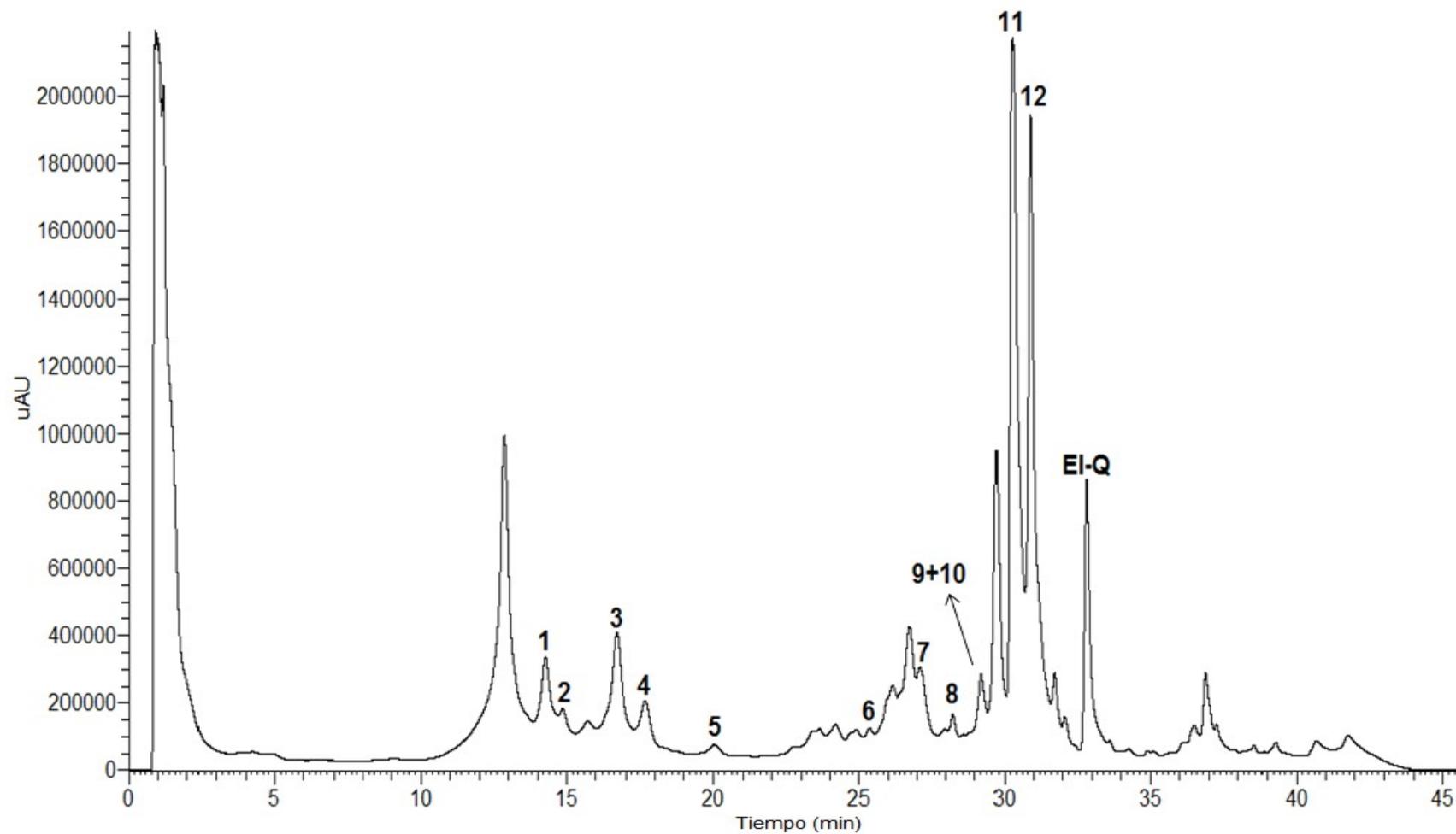


Figura 13. Cromatograma de UPLC representativo de los principales fenólicos del extracto metanólico de chile morrón verde (cv. Coloso). La detección se realizó a una longitud de onda de 320 nm. EI-Q: Estándar interno quercetina. La identidad tentativa de los picos se muestra en el **Cuadro 8**.

Cuadro 8. Datos cromatográficos, espectrales e identificación de los picos mayoritarios de los extractos metanólicos desengrasados de Chile morrón verde (cv. Coloso).

Pico	TR (min)	λ_{\max} (nm)	[M-H] ⁻	Fragmentos	Identidad tentativa
1	14.63	280	325	163, 145	Cumaroil hexósido
2	14.91	312	341	179, 161	Cafeoil hexósido
3	16.47	318	353	191, 179	Ácido clorogénico
4	17.71	324	355	193, 181	Feruoil hexósido
5	20.03	325	385	223, 205, 190, 175	Sinapoil hexósido
6	25.54	269 336	609	463, 441, 301, 271	Quercetín-O-ramnosil O-hexósido
7	26.99	269 333	447	357, 339, 327, 285	Orientina (luteolín-C-hexósido)
8	28.11	269 332	665	621, 603, 469, 399, 369, 285	Luteolín-C-(malonil) hexósido C-pentósido
9	29.15	255 343	579	447, 285	Luteolín-O-(apiosil) hexósido
10	29.15	255 343	463	300, 271	Quercetín-O-hexósido
11	30.14	255 346	447	300, 271	Quercetín-3-O-ramnósido
12	30.77	250 346	665	621, 579, 489, 447, 285	Luteolín-O-(apiosilmalonil) hexósido

RT: Tiempo de retención. λ_{\max} : Longitud de absorción máxima. [M-H]⁻: Ion cuasi molecular.

En los compuestos **2** y **3** se observó un fragmento de ión de $m/z = 179$ u asociado al ion del ácido cafeico, además un ión de $161 [(M-H) -H_2O]^-$ originado por la pérdida de agua característica de compuestos derivados del ácido cinámico (**Cuadro 8**). El compuesto **2** presentó un ion cuasi molecular de $m/z = 341 [M-H]^-$ y el fragmento de $m/z = 179 [(M-H) -162]^-$ debido a la pérdida de hexosa, por lo que fue identificado como cafeoil hexósido. En el caso del compuesto **3** se observó un ion cuasi molecular $[M-H]^-$ con valor m/z de 353, así como un fragmento de ion a $m/z = 191$, el cual corresponde al ácido quínico, por lo cual este compuesto se identificó como ácido cafeoilquínico, también conocido como ácido clorogénico.

Para el compuesto **4** se observó un ion cuasi molecular $[M-H]^-$ con valor m/z igual a 355, y al igual que en el resto de los derivados glicosilados, se presentó un fragmento de ion resultado de la pérdida de una hexosa $[(M-H) -hexosa]^- = 193$ y una posterior pérdida de agua $[ferulato -H_2O]^- = 175$, por lo cual se le asignó el nombre feruloil hexósido (**Cuadro 8**).

El compuesto **5** se identificó como sinapoil hexósido, presentó un ion cuasi molecular $[M-H]^-$ con valor m/z igual a 385 y una posterior fragmentación a 223 $[(M-H) -hexosa]^-$, 205 $[sinapato -H_2O]^-$, 190 $[sinapato -H_2O -CH_3]^-$ y finalmente 175 $[sinapato -H_2O -2CH_3]^-$ (**Cuadro 8**). En Chile morron y otras especies del género *Capsicum* ya se ha registrado la presencia de derivados del ácido cinámico (Materska y col 2005; Blanco-Ríos y col 2011; Jeong y col 2011; Morales-Soto y col 2013).

En el caso de los compuestos de tipo flavonoide, se identificaron 7 compuestos (**6-12**) que presentan dos bandas UV características, una en el rango de 250 a 270 nm y la otra entre 330 y 380 nm (**Cuadro 8**) (Santon-Buelna y González-

Paramás 2014). La **Figura 14** muestra la nomenclatura utilizada para describir el patrón de fragmentación de este tipo de compuestos. Tres de los 7 flavonoides fueron derivados de quercetina (**6**, **10** y **11**), caracterizados por 3 fragmentos de ion en el espectro de masas: 301 y 300 (Y_0) y 271 ($Y_0 - CH_2O$) (**Cuadro 8**).

El compuesto **6** presentó un ion cuasi molecular de $m/z = 609$ $[M-H]^-$, cuyo MS^2 genera un fragmento de ion con $m/z = 463$ $[(M-H) - ramnosa]^-$ y otro con $m/z = 447$ $[(M-H) - hexosa]^-$ (**Cuadro 8**). Considerando que se observa tanto el fragmento correspondiente a la pérdida de hexosa como al de la ramnosa, se puede concluir que éstos están unidos a posiciones diferentes en la aglicona. Por lo tanto, este compuesto fue identificado como quercetín O-ramnosil O-hexósido.

El compuesto **10** se identificó como quercetín O-hexósido, presentando un ion cuasi molecular $[M-H]^-$ con un valor $m/z = 579$, así como un fragmento de ion con $m/z = 300$ (Y_0) asociado a la pérdida de una hexosa (**Cuadro 8**).

El compuesto **11** se identificó como quercetín 3-O-ramnósido empleando un estandar comercial; este compuesto presentó un ion cuasi molecular $[M-H]^-$ con un valor $m/z = 447$ (**Figura 15**) y su MS^2 produjo dos fragmentos adicionales $m/z = 300$ y $m/z = 271$. Este compuesto ha sido identificado en diferentes cultivares de chile morrón (Jeong y col., 2011; Mikulic-Petkovsek y col 2013; Morales-Soto y col 2013).

Los flavonoides **7**, **8**, **9**, y **12** se identificaron como derivados glicosilados de luteolina, todos presentan el fragmento de ion característico con un valor $m/z = 285$ (**Cuadro 8**). En frutos es raro encontrar derivados de luteolina pero son comunes en hojas y cortezas (e.g. apio, tomillo y manzanilla) (Mann 1992).

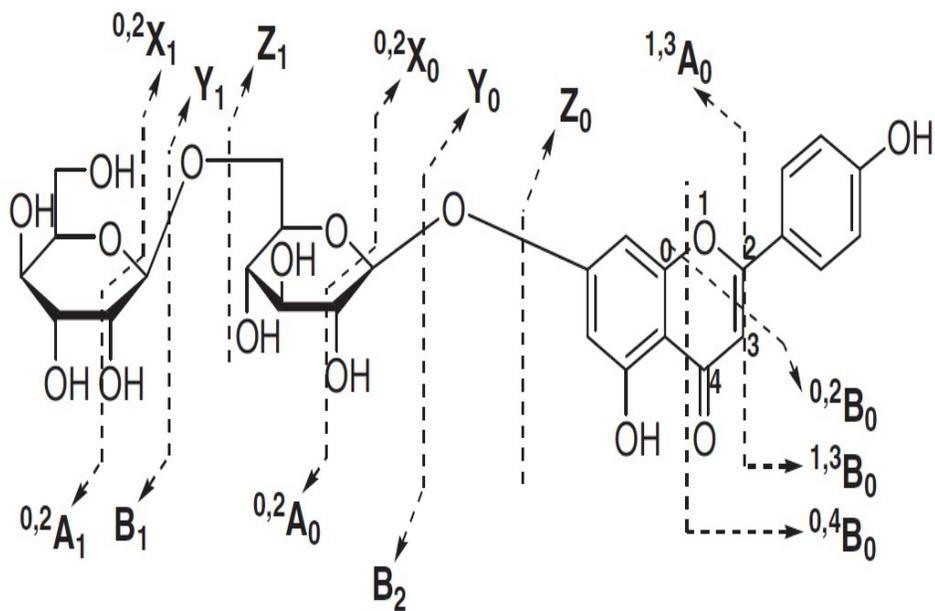


Figura 14. Nomenclatura de iones de flavonoides glicosilados utilizada en la literatura (Jeong y col 2011).

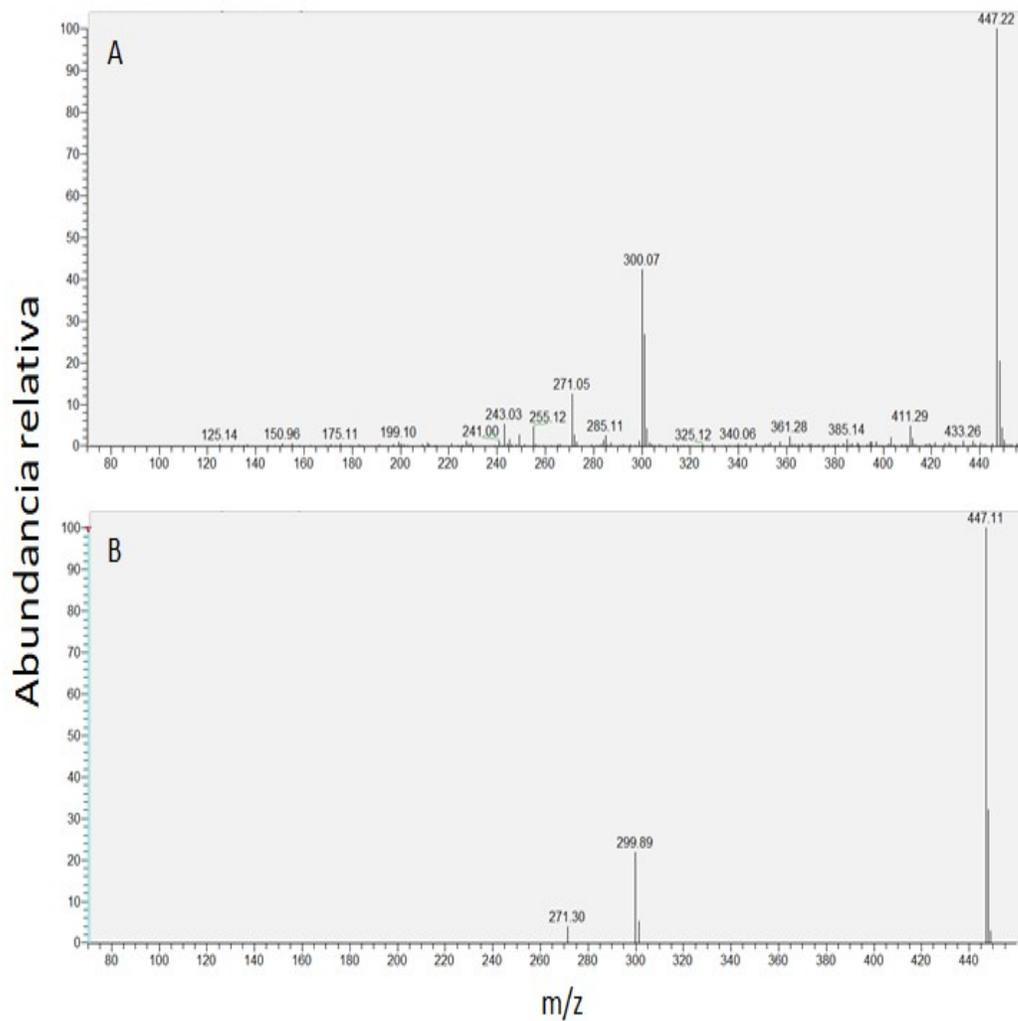


Figura 15. Espectro de MS-ESI en modo negativo del compuesto 11 (A) y el estándar comercial quercetín 3-O-ramnósido (B).

El compuesto **7** presentó un ion cuasi molecular $[M-H]^-$ con un valor $m/z = 447$, que generó los fragmentos de ion con $m/z = 357$ ($^{0,3}X^-$), $m/z = 339$ ($^{0,3}X-H_2O$), $m/z = 327$ ($^{0,2}X^-$) y $m/z = 285$ (Y^-) (**Cuadro 8**). Estos iones se originan de la fragmentación parcial de una hexosa unida a la aglicona con pérdidas de $m/z = 120$ y $m/z = 90$ u. De acuerdo a esta información y comparando con lo reportado por Jeong y col (2011), este compuesto se identificó como orientina o luteolín-C-hexósido.

El ion cuasi molecular $[M-H]^-$ del compuesto **8** presentó un valor de $m/z = 665$ que se fragmentó para producir los iones $m/z = 621$ ($[M-H]^-CO_2$), $m/z = 603$ ($[M-H]^-CO_2-H_2O$), y $m/z = 459$ ($^{0,2}X^-$) derivado de la fragmentación parcial de la hexosa unida al fragmento de $m/z = 621$, $m/z = 399$ generado de la pérdida de ($^{0,2}A_0^-$) y ($^{0,3}A_1^-$), $m/z = 369$ proveniente de la pérdida de los fragmentos ($^{0,2}A_0^-$) y ($^{0,2}A_1^-$), y finalmente $m/z = 285$ (Y^-) (**Cuadro 8**). Comparando esta lista de fragmentos con la reportada por Mikulic-Petkovsek y col (2013), este compuesto fue identificado como luteolín-C-(malonil) hexósido C-pentósido.

El compuesto **9** presentó un fragmento cuasi molecular $[M-H]^-$ con valor $m/z = 579$, que a su vez generó los iones $m/z = 447$ (Y_1) explicado por la pérdida de una apiosa, y $m/z = 285$ (Y_0) correspondiente a la aglicona después de perder una molécula de hexosa (**Cuadro 8**). Considerando la bibliografía y los datos espectrométricos, el compuesto se identificó como luteolín-O-(apiosil) hexósido (Jeong y col 2011).

El ion cuasi molecular compuesto **12** presentó un valor $m/z = 665$ (**Figura 16**) y fue identificado como luteolín-O-(apiosilmalonil) hexósido, que ya ha sido identificado en diversas especies del genero *Capsicum*. La presencia del grupo malonil fue confirmado por la presencia de un fragmento sumamente estable con

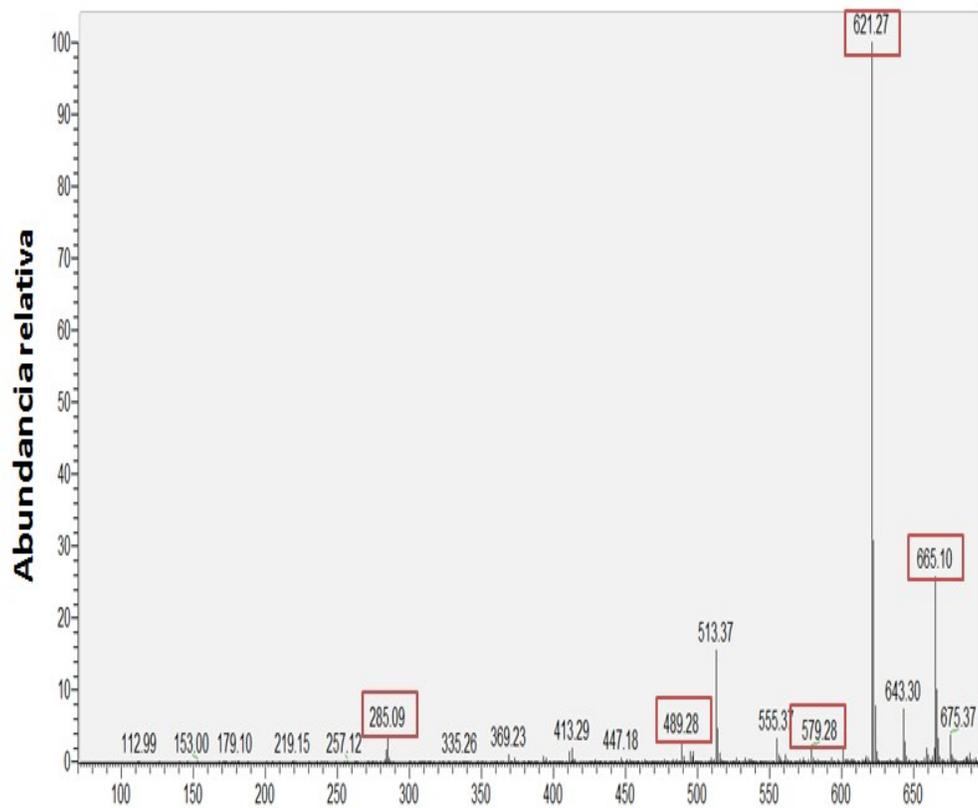


Figura 16. Espectro de MS-ESI en modo negativo del compuesto 12

un valor $m/z = 621$ [(M-H) -CO₂]⁻, el cual describe una pérdida de un grupo carboxilo característico en ácidos orgánicos (Marin y col 2004). La aparición de un fragmento de valor $m/z = 579$ confirmó la pérdida de un grupo malonil [(M-H) - malonil]⁻. Posteriormente se observó un fragmento a 447 (Y₁) que corresponde a la pérdida del grupo malonil y una apiosa, de igual manera se registró un fragmento con valor $m/z = 489$ (^{0,2}X₁⁻), que corresponde a la fragmentación parcial de este glucósido. Finalmente, se detectó el fragmento de la aglicona (Y₀) tras haber perdido una molécula de hexosa.

Resulta interesante que únicamente se identificaron flavonoides derivados de agliconas con grupos hidroxilos en las posiciones 3' y 4' (quercetina y luteolina), característica que incrementa la actividad quelante de metales de transición y favorece la inactivación de ERO (Hodges 2003).

b. Análisis cuantitativo

1) Derivados del ácido cinámico

El **Cuadro 9** muestra el contenido de derivados del ácido cinámico en Chile morrón durante su almacenamiento a 21, 12 y 5 °C. Durante las primeras 2 h a 21 °C no se observó un efecto del TH sobre estos compuestos; al transcurrir 7 días a esta temperatura se observó un aumento en los compuestos 1, 2 y 5 para ambos tratamientos, así como una disminución en el compuesto 3. La **Figura 17** muestra que el periodo de maduración tuvo un efecto significativo al incrementar el contenido total de derivados del ácido cinámico, sin presentarse diferencia entre tratamientos.

Cuadro 9. Contenido de derivados del ácido cinámico (mg/ 100 g ff) en chile morron tratado hidrotérmicamente (TH) durante su almacenamiento a temperatura de maduración (21 °C), de refrigeración comercial (12 °C) y de daño por frío (5 °C).*

No. de comp.	21 °C				12 °C				5 °C			
	2h		7d		21d		21d + 7d 21°C		21d		21d + 7d 21°C	
	Control	TH	Control	TH	Control	TH	Control	TH	Control	TH	Control	TH
1	0.158 ± 0.021 gh	0.136 ± 0.012 h	0.271 ± 0.002 de	0.199 ± 0.011 f	0.177 ± 0.007 fg	0.243 ± 0.024 e	0.341 ± 0.009 c	0.501 ± 0.060 a	0.18 ± 0.010 fg	0.125 ± 0.010 h	0.302 ± 0.019 cd	0.426 ± 0.020 b
2	0.023 ± 0.001 e	0.021 ± 0.001 e	0.035 ± 0.001 b	0.033 ± 0.001 bc	0.02 ± 0.002 e	0.031 ± 0.003 cd	nd.	nd.	0.031 ± 0.001 cd	0.028 ± 0.002 d	0.055 ± 0.004 a	0.052 ± 0.004 a
3	0.182 ± 0.002 e	0.195 ± 0.011 e	0.114 ± 0.004 g	0.142 ± 0.011 f	0.136 ± 0.010 f	0.253 ± 0.013 c	nd.	0.379 ± 0.019 b	0.149 ± 0.022 f	0.145 ± 0.017 f	0.218 ± 0.009 d	0.427 ± 0.007 a
4	0.094 ± 0.004 e	0.089 ± 0.010 e	0.117 ± 0.009 de	0.15 ± 0.006 bc	0.103 ± 0.004 e	0.147 ± 0.019 cd	0.188 ± 0.012 b	0.36 ± 0.050 a	0.127 ± 0.007 de	0.098 ± 0.007 e	0.147 ± 0.019 cd	0.163 ± 0.006 bc
5	0.064 ± 0.008 f	0.047 ± 0.002 f	0.162 ± 0.026 de	0.19 ± 0.029 d	0.157 ± 0.009 de	0.233 ± 0.016 d	0.437 ± 0.023 c	0.806 ± 0.121 ab	0.067 ± 0.007 f	0.073 ± 0.012 ef	0.745 ± 0.098 b	0.874 ± 0.081 a
Total	0.522 ± 0.017 e	0.488 ± 0.029 e	0.699 ± 0.021 d	0.715 ± 0.016 d	0.593 ± 0.030 de	0.906 ± 0.038 c	0.981 ± 0.044 c	1.942 ± 0.097 a	0.555 ± 0.037 e	0.469 ± 0.042 e	1.468 ± 0.092 b	2.052 ± 0.242 a

* Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en la mismo renglón indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

nd.: Compuesto no detectado.

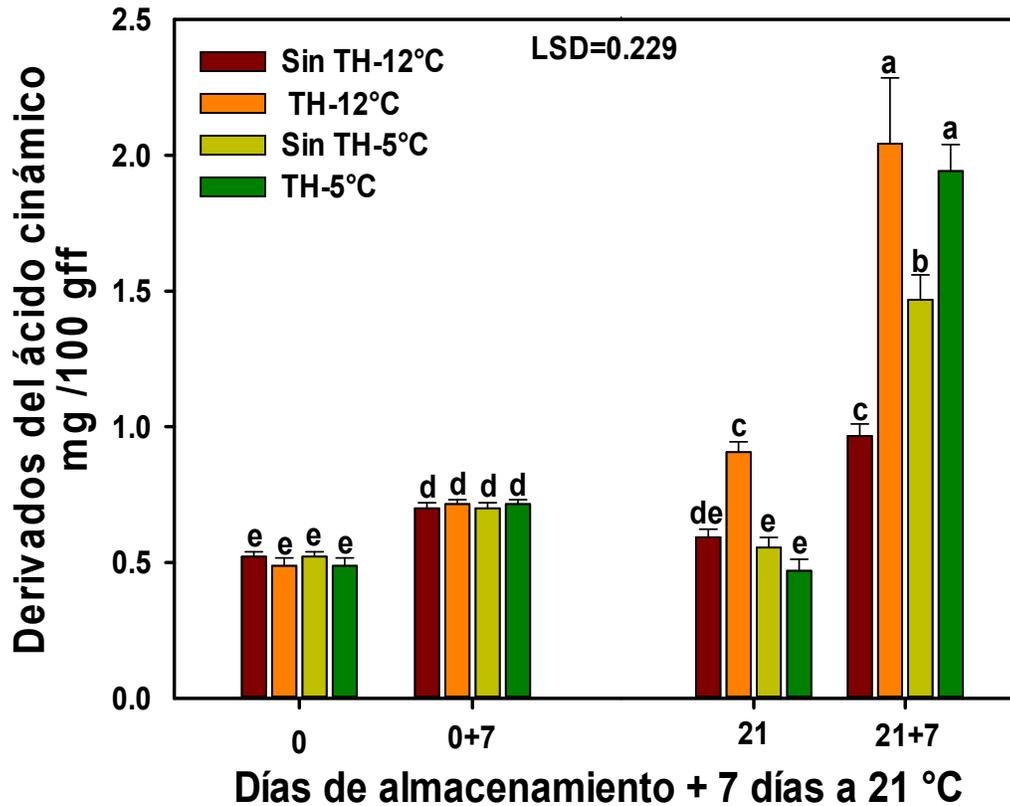


Figura 17. Contenido de derivados del ácido cinámico en chile morrón (cv. Coloso) durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los frutos recibieron tratamiento hidrotérmico (TH) de 53 °C por 1 min antes del almacenamiento. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

Comparado con las muestras del día cero, al final del almacenamiento a 12 °C se observó en los frutos control un aumento en el compuesto 5 y una disminución en el compuesto 3, mientras que en los frutos con TH se tuvo un aumento en todos los derivados del ácido cinámico, presentándose un incremento de 63% en el contenido global con respecto a los frutos sin TH. Al final del almacenamiento a 5 °C se observó un aumento en el compuesto 2 y una disminución en el compuesto 3 para los frutos control y con TH. Cabe mencionar que no se observó un aumento en el contenido global de derivados del ácido cinámico en los frutos almacenados a 5 °C (**Figura 17**).

Al finalizar el periodo de maduración de los frutos almacenados previamente a 12 °C se observó un mayor contenido de los compuestos 1, 4 y 5 en los frutos control y 1, 3, 4 y 5 en los frutos con TH. Cabe mencionar que después de la maduración el compuesto 2 (cafeoil hexósido) desapareció tanto en los frutos control como en los TH, y el 3 (ácido clorogénico) sólo de los frutos control; este hecho resulta interesante debido a que ambos compuestos son derivados del ácido cafeico (**Cuadros 8 y 9**).

Considerando el efecto del periodo de maduración de los frutos almacenados a temperatura de DF (5 °C), los frutos control y TH mostraron un mayor contenido de todos los compuestos derivados del ácido cinámico, a excepción del compuesto 4 en los frutos control. De manera general, el mayor contenido total de derivados del ácido cinámico se registró en los frutos almacenados en refrigeración (12 °C o 5 °C) y madurados, siendo los valores de los frutos con TH (1.94-2.05 mg/ 100 gff) mayores que en los frutos control almacenados a 5 °C (1.47 mg/ 100 gff) y 12 °C (0.98 mg/ 100 gff). Es importante resaltar que estos

valores fueron mucho mayores que los registrados para los frutos que no fueron almacenados en frío y madurados (control \approx TH \approx 0.7 mg/ 100 gff).

Estos resultados resultan muy interesantes debido a que de manera general demuestran que por si solo, el estrés por frío (sin TH a 5 °C) genera un incremento significativo en los compuestos derivados del ácido cinámico con respecto a los frutos almacenados a 12 °C sin TH. Este efecto fue potenciado al someter a los frutos a estrés por calor (TH); sin embargo, el efecto combinado del estrés por frío y calor no resultó ser aditivo o sinérgico (**Cuadro 9**).

El aumento en derivados del ácido cinámico en los frutos sin TH a 5 °C con respecto a los frutos sin TH a 12 °C puede deberse a que presentaron una mayor incidencia en el ataques de hongos, datos que sugieren que el incremento podría deberse a la respuesta del fruto hacia la infección; ya que estos compuestos son precursores de la lignina, el cual es un polímero amorfo de la pared celular que sirve como soporte y protección (Crozier y col 2006; Azcón-Bieto y Talón 2008). Anteriormente en cítricos infectados con *Penicillium italicum* y *Penicillium digitalum* se reportó un incremento en el contenido de lignina (Nafussi y col 2001; Yun y col 2013).

2). Derivados de quercetina

Al transcurrir 2 h de la aplicación del TH, el compuesto 6 no fue detectado, pero el contenido se incrementó después de 7 días a 21 °C (control \approx TH \approx 0.14 mg/ 100 gff); mientras que el compuesto 11 mantuvo valores estadísticamente similares para todas las muestras evaluadas (0.73 – 0.80 mg/ 100 gff). En el contenido total de derivados de quercetina no se observaron cambios (**Cuadro 10** y **Figura 18**).

Cuadro 10. Contenido de flavonoides (mg/ 100 gff) en chile morron tratado hidrotérmicamente (TH, 53 °C/ 1 min) durante su almacenamiento a temperatura de maduración (21 °C), de refrigeración comercial (12 °C) y de daño por frío (5 °C).*

No. de comp.	21 °C				12 °C				5 °C			
	2h		7d		21d		21d + 7d 21°C		21d		21d + 7d 21°C	
	Control	TH	Control	TH	Control	TH	Control	TH	Control	TH	Control	TH
Derivados de quercetina												
6	0.078 ± 0.006 g	nd.	0.139 ± 0.012 f	0.14 ± 0.012 f	0.135 ± 0.009 f	0.184 ± 0.005 e	0.275 ± 0.015 c	0.373 ± 0.011 b	0.111 ± 0.005 f	0.102 ± 0.007 g	0.201 ± 0.006 d	0.482 ± 0.058 a
11	0.797 ± 0.034 cd	0.782 ± 0.054 cd	0.725 ± 0.030 de	0.746 ± 0.098 de	0.784 ± 0.014 cd	0.927 ± 0.077 b	1.026 ± 0.010 b	1.167 ± 0.078 a	0.669 ± 0.025 e	0.75 ± 0.017 de	0.875 ± 0.037 c	1.019 ± 0.038 b
Total	0.876 ± 0.040 de	0.798 ± 0.054 e	0.864 ± 0.040 de	0.886 ± 0.109 de	0.919 ± 0.013 d	1.111 ± 0.077 c	1.300 ± 0.023 b	1.539 ± 0.085 a	0.780 ± 0.028 e	0.849 ± 0.023 de	1.076 ± 0.039 c	1.501 ± 0.061 a
Derivados de luteolina												
7	0.087 ± 0.005 ab	nd.	0.103 ± 0.007 a	nd.	0.070 ± 0.001 b	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
8	0.051 ± 0.007 g	0.025 ± 0.004 h	0.073 ± 0.004 f	0.068 ± 0.008 f	0.046 ± 0.005 g	0.164 ± 0.012 d	0.300 ± 0.014 b	0.14 ± 0.006 e	0.06 ± 0.011 fg	0.045 ± 0.006 g	0.192 ± 0.014 c	0.35 ± 0.005 a
9+10	0.043 ± 0.011 f	0.059 ± 0.008 f	0.231 ± 0.014 c	0.131 ± 0.022 de	0.121 ± 0.009 e	0.236 ± 0.016 b	0.28 ± 0.018 b	0.367 ± 0.078 a	0.146 ± 0.019 d	0.12 ± 0.008 e	0.194 ± 0.006 c	0.279 ± 0.016 b
12	0.688 ± 0.012 b	0.68 ± 0.064 bc	0.628 ± 0.037 bc	0.677 ± 0.015 bc	0.59 ± 0.034 c	0.918 ± 0.063 a	0.931 ± 0.039 a	1.003 ± 0.115 a	0.635 ± 0.013 bc	0.604 ± 0.011 bc	0.988 ± 0.046 a	0.985 ± 0.046 a
Total	0.805 ± 0.110 e	0.724 ± 0.034 e	1.035 ± 0.030 d	0.866 ± 0.029 e	0.824 ± 0.052 e	1.308 ± 0.090 c	1.500 ± 0.050 ab	1.499 ± 0.107 ab	0.831 ± 0.016 e	0.758 ± 0.011 e	1.363 ± 0.039 bc	1.603 ± 0.050 a

* Letras minúsculas diferentes (a, b, c) en la mismo renglón indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

nd.: Compuesto no detectado

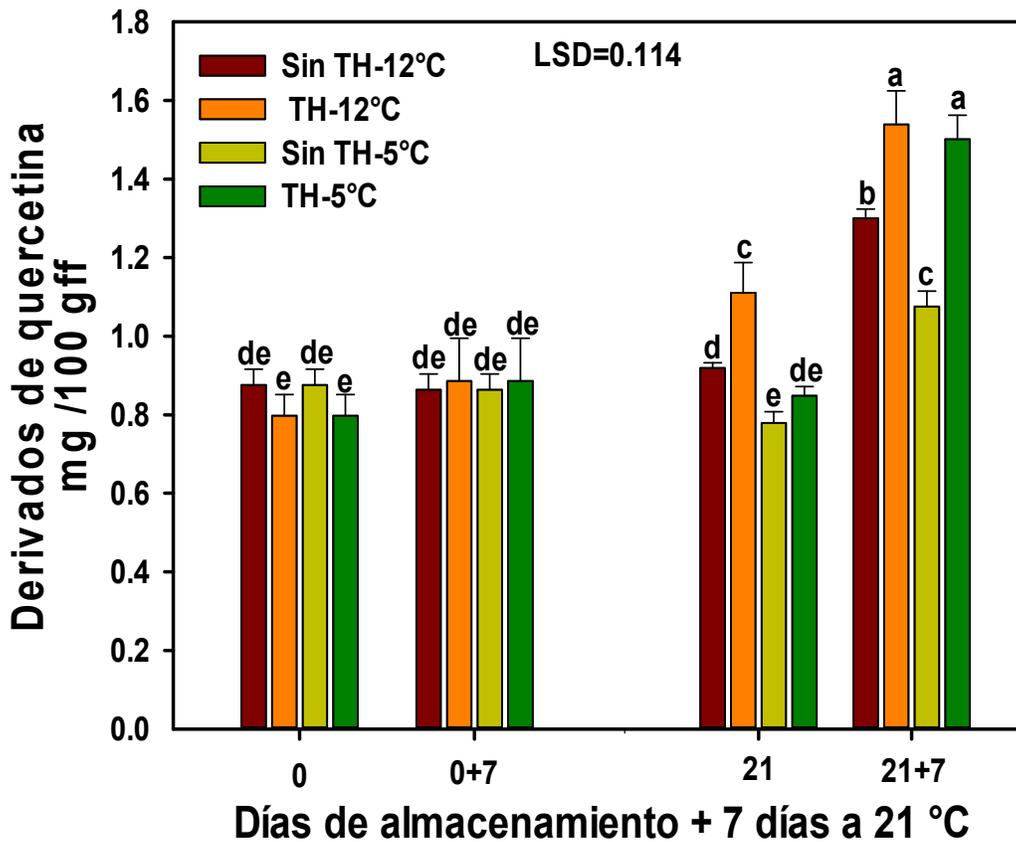


Figura 18. Contenido de derivados de quercetina en chile morrón (cv. Coloso) durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los frutos recibieron tratamiento hidrotérmico (TH) de 53 °C por 1 min antes del almacenamiento. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

En relación a los frutos del primer día de evaluación, el almacenamiento a 12 °C incrementó la concentración el compuesto 6. Al analizar los valores de los frutos almacenados en refrigeración y sometidos al periodo de maduración y contrastarlos con los de los frutos solamente almacenados a 21 °C/ 7 días, el contenido del compuesto 6 se incrementa tanto en los frutos almacenados a 12 °C como a 5 °C, siendo mayor en los frutos TH (0.37 – 0.48 mg/ 100 gff) que en los control (0.20 – 0.28 mg/ 100 g ff) mientras que para las variaciones del contenido del compuesto 11 se registró un patrón similar (**Cuadro 10**).

Al contrastar los valores del contenido total de derivados de quercetina, la maduración o el tratamiento hidrotérmico por si mismos no incrementan los valores (0.80 – 0.88 mg/ 100 g ff) y de manera general el almacenamiento en frío tampoco genera una variación (0.78 – 0.92 mg/ 100 g ff); sin embargo, la aplicación del TH en los frutos induce cambios metabólicos que permiten que el contenido se incremente por efecto del almacenamiento en refrigeración (1.50 – 1.54 mg/ 100 g ff) (**Cuadro 10**).

En concordancia a lo presentado en este trabajo, Yun y col (2013) reportaron que la aplicación de un TH provoca la acumulación de diferentes compuestos derivados de quercetina como: quercetina-O-glucósido y rutina en frutos de naranja durante su almacenamiento comercial. De igual manera, Toda y col (2011) encontraron una mayor acumulación de flavonoles como quercetina e isoramnetina en hojas de soya tolerantes al DF durante su almacenamiento a temperaturas bajas. Adicionalmente en plantas de tabaco y frutos de fresa resistentes a las temperaturas bajas se ha observado una acumulación importante de transcritos de la enzima flavanona 3-hidroxilasa (F3H) que cataliza la reacción que compromete a la naringenina (flavanona) hacia la síntesis de

flavonoles como el kaempferol, quercetina y miricetina (Koehler y col 2012; Meng y col 2015).

3). Derivados de luteolina

La resolución cromatográfica de los compuestos 9 (luteolín-O-(apiosil) hexósido) y 10 (quercetín-O-hexósido) fue insuficiente. Estos picos fueron cuantificados juntos como equivalentes de luteolina, debido a que se ha reportado con anterioridad un mayor contenido de derivados de luteolina en chile morrón, especialmente el cultivares verdes (Mikulic-Petkovsek y col 2013).

En los frutos almacenados solamente 2 h a 21 °C, el contenido de los compuestos 7 y 8 disminuyeron en los frutos TH, de hecho el compuesto 7 no fue detectado, y los compuestos 9+10 y 12 se mantuvo sin cambio. Después de 7 días a 21 °C, el contenido del compuesto 7 se mantuvo como a las 2 h y el del compuesto 8 se incrementó, encontrándose valores similares entre los frutos control y TH; el contenido de los compuestos 9+10 también incrementó, resultando 76% superior en los frutos control que en los TH; y el compuesto 12 se mantuvo sin cambio. Estos resultados nos indican que el compuesto 7 (orientina) fue afectado por el estrés térmico pero no por la maduración, el compuesto 12 luteolín-O-(apiosilmalonil) hexósido no fue afectado por ninguna de las condiciones; mientras que se registró un aumento para los compuestos 8 y 9+10, resalta que el mayor aumento para el compuesto 8 fue en los frutos TH y el de 9+10 en los frutos control (**Cuadro 10**). Considerando el contenido total de derivados de luteolina (**Figura 19**), el único valor significativamente diferente (mayor) fue el de los frutos control, sugiriendo que la maduración es un factor dominante en el incrementó de derivados de luteolina.

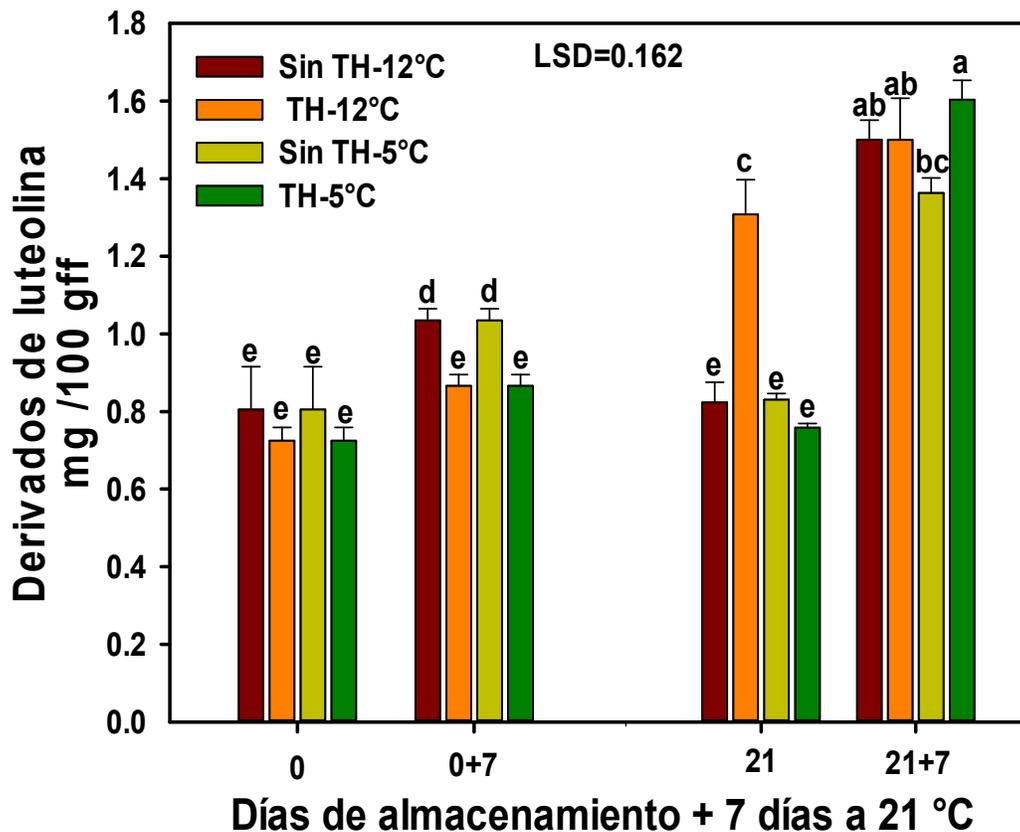


Figura 19. Contenido de derivados de luteolina en chile morrón (cv. Coloso) durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Los frutos recibieron tratamiento hidrotérmico (TH) de 53 °C por 1 min antes del almacenamiento. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$).

Como se mencionó, el compuesto 7 (orientina) es sensible al estrés por calor, y también es sensible al almacenamiento en condiciones de DF, sólo se detecta en los frutos control almacenados a 12 °C (**Cuadro 10**).

Comparadas con los frutos almacenados a 21 °C/ 2 h, el almacenamiento en refrigeración (21 días) no afectó el contenido del compuesto 8, sólo se registró un aumento significativo en los frutos TH almacenados a 12 °C. El contenido de compuestos 9+10 se incrementó tanto en las muestras almacenadas a 12 °C como a 5 °C; sin embargo, el incremento fue mayor en los frutos con TH a 12 °C y en los control a 5 °C. El contenido del compuesto 12 se mantuvo después del almacenamiento en frío (12 °C o 5 °C) (**Cuadro 10**).

Al analizar el efecto combinado del almacenamiento en frío y del periodo de maduración en el contenido de derivados de luteolina y comparando con el de los frutos almacenados a 21 °C/ 7 días, el contenido de los compuestos 8, 9+10 y 12 se incrementó en todas las muestras con excepción de los frutos control almacenados a 5 °C que mantuvieron un valor estadísticamente similar. El mayor contenido del compuesto 8 se registró para los frutos con TH almacenados a 5 °C, seguido del tratamiento control a 12 °C. Del compuesto 9+10, las muestras TH tuvieron el mayor contenido, resaltando las muestras almacenadas a 12 °C. Para el compuesto 12, todas las muestras tuvieron valores estadísticamente similares; estos resultados muestran que el TH permitió tener una mejor respuesta al almacenamiento en frío a 12 °C por 21 días, que no fue notoria en el almacenamiento en condiciones de DF. El contenido total de derivados de luteolina siguió un patrón similar al descrito para el compuesto 12.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Yun y col (2013), quienes encontraron que al haber transcurrido únicamente 2 h de la aplicación de un TH

se presentó un cambio importante en el perfil de metabolitos secundarios en la cáscara de naranja, teniendo un efecto muy marcado en compuestos derivados de quercetina y el ácido clorogénico. Este hecho nos indica que el TH puede alterar relativamente rápido la fisiología de los frutos a nivel del metabolismo secundario.

Un estudio transcriptómico de mango con TH mostró la acumulación de transcritos clave para la síntesis de fenólicos (fenilalanín amonio liasa, chalcona isomerasa y chalcona sintasa) en las primeras horas posteriores al TH, esta acumulación sólo persistió por 17 h y puede asociarse a la generación de compuestos que proporcionan resistencia al fruto en etapas posteriores de desarrollo (Luria y col 2014).

De manera general, la presente investigación registra que derivados del ácido cinámico y flavonoides tienden a aumentar con el tiempo de almacenamiento. En contraste, Materska y col (2015) y Jang y col (2015) encontraron en cultivares de chile rojo que durante la maduración el contenido de derivados del ácido cinámico aumentaban pero el de flavonoides descendía; esto debido a que los flavonoides protegen a los cloroplastos contra los rayos UV antes de su transición a cromoplastos. Esto nos indica que el metabolismo de fenólicos en cultivares verdes difiere de lo registrado para cultivares que cambian de color con el proceso de maduración.

c. Compuestos inducidos por la aplicación del TH y asociados con la tolerancia al DF

Para determinar el efecto del TH sobre los niveles de los diferentes fenólicos se determinó la relación de concentraciones TH/control para cada compuesto y día de evaluación (**Cuadro 11**).

Cuadro 11. Relación TH/control (durante el mismo periodo de almacenamiento) del contenido de fenólicos en chile morrón (cv. Coloso).

Compuesto	21 °C		12 °C		5 °C	
	2h	7d	21d	21d + 7d 21°C	21d	21d + 7d 21°C
Cumaroil hexósido	ns.	0.75	1.34	1.44	0.72	1.39
Cafeoil hexósido	ns.	ns.	1.89	nd.	ns.	ns.
Ácido clorogénico	ns.	ns.	1.93	**	ns.	2.00
Feruoil hexósido	ns.	1.28	ns.	1.91	0.77	ns.
Sinapoil hexósido	ns.	ns.	1.36	1.76	ns.	ns.
Quercetín-O-ramnósil O-hexósido	*	ns.	1.41	1.38	ns.	2.51
Orientina (luteolín-C-hexósido)	*	*	*	nd.	nd.	nd.
Luteolín-C-(malonil) hexósido C-pentósido	0.57	ns.	3.11	0.48	ns.	1.78
Luteolín-O-(apiosil) hexósido + Quercetín-O-hexósido	ns.	0.59	1.87	ns.	ns.	1.42
Quercetín 3-O-ramnósido	ns.	ns.	ns.	ns.	1.12	1.17
Luteolín-O-(apiosilmalonil) hexósido	ns.	ns.	1.55	ns.	ns.	ns.

Las muestras fueron comparadas mediante la prueba t-student. ($p < 0.05$).

* Compuesto detectado únicamente en el tratamiento control. ** Compuesto detectado únicamente en el tratamiento hidrotérmico.

nd.: No detectado en ningún tratamiento. ns.: Diferencia no significativa entre tratamiento control y TH.

A las 2 h de haber aplicado el TH, el contenido de luteolín C-(malonil) hexósido C-pentósido disminuyó por efecto del TH. También se observó que los compuestos orientina y quercetín-O-ramnósido-O-hexósido no fueron detectados en las muestras a las que se les aplicó el TH. Al transcurrir 7 días a 21 °C se observó una disminución en el contenido de luteolín-O-(apiosil) hexóxido+quercetín-O-hexóxido y cumaroil hexósido y un incremento en el contenido de feruloil hexósido.

Al día 21 del almacenamiento comercial (12 °C) se observó un efecto importante en 9 de los 12 compuestos identificados (**Cuadro 11**). Los compuestos luteolín-C-(malonil)-hexósido-C-pentósido (x3) y ácido clorogénico (x2) fueron los que se acumularon en mayor medida. Al pasar los frutos de este tratamiento a su correspondiente periodo de maduración, 4 compuestos estuvieron en mayor concentración en los frutos TH, el ácido clorogénico sólo fue detectado en los frutos TH; mientras que la concentración del luteolín-C-(malonil)-hexósido-C-pentósido, que estuvo a una concentración tres veces superior en los frutos TH el día 21, disminuyó en los frutos TH al día 21 + 7. Los datos obtenidos en el almacenamiento comercial muestran claramente que el estrés por calor modifica tanto el perfil de derivados del ácido cinámico como de flavonoides.

Frutos de mandarina tratados con TH incrementaron la expresión transcripcional y traduccional de la enzima FAL (Sánchez-Ballesta y col 2000). Este hecho podría explicar la acumulación de compuestos fenólicos durante el almacenamiento comercial, debido a que la FAL es clave en la movilización de carbono hacía rutas metabólicas responsables de generar esta clase de compuestos. En concordancia con lo presentado en este trabajo, Sánchez-

Rodríguez y col (2011) observaron en hojas de tomate que el estrés por calor es responsable de la acumulación de quercetín-3-O-hexósido y rutina.

Para el almacenamiento a 5 °C, al día 21 se observó una disminución en el contenido de cumaroil hexósido y feruloil hexósido y un incremento únicamente en quercetín 3-O-ramnósido (**Cuadro 11**), el cual es uno de los compuestos fenólicos mayoritarios. A diferencia del almacenamiento a 12 °C, durante el almacenamiento a temperaturas de daño por frío no se observó un efecto del TH tan marcado sobre el contenido de fenólicos específicos. Esto no significa necesariamente que no hubo generación de estos compuestos en este periodo, la razón por la cual estos compuestos no se acumularon en el tejido podría deberse a la presencia del estrés oxidativo, ya que son utilizados para contrarrestar la proliferación de radicales (Hodges 2003). Cabe mencionar que en este día de evaluación aún no había gran incidencia de síntomas y tampoco se observó diferencia significativa entre el control y los frutos tratados.

Al transferir los frutos de un almacenamiento a temperatura de daño por frío a un posterior periodo de maduración se observó que el mismo TH que logró inducir tolerancia al DF, favoreció la acumulación de 7 de los 12 compuestos identificados, siendo quercetín-O-ramnósil-O-hexósido y ácido clorogénico los que presentaron un incremento significativo; lo que sugiere que estos compuestos están asociados a la inducción de la tolerancia al DF. Cabe mencionar que el único compuesto que se acumuló en los frutos almacenados a 5 °C fue quercetín-3-O-ramnósido, y el único que se acumuló antes y después del periodo de maduración, por lo cual podría ser un marcador del desarrollo del daño por frío así como de la inducción de tolerancia.

Variaciones en el contenido de derivados de quercetina han sido relacionadas previamente con la exposición a condiciones de estrés abiótico (e.g., luz UV, estrés salino y temperaturas bajas) (Rhodes y col 1978; Clé y col 2008; Martínez y col 2016). Asimismo, la acumulación en papa y camote de ácido clorogénico se ha relacionado con la tolerancia al frío, al registrar mayores niveles de actividad de la enzima clave en la síntesis del ácido clorogénico y una mayor concentración del compuesto (Rhodes y col 1978).

Al final del periodo de maduración de los frutos tratados hidrotérmicamente y almacenados a temperatura de DF se observó una acumulación importante de compuestos fenólicos, similar a lo presentado en los frutos del almacenamiento comercial. Esto nos indica que los frutos tratados podrían haber superado el estado de disfunción metabólica presentada durante el almacenamiento a DF, lo que permitió la acumulación de estos compuestos al final del periodo de maduración.

2. Actividad antioxidante (AOX)

En la **Figura 20** se observa la evaluación de la AOX por el método de ABTS de chile morrón durante su almacenamiento a 12 y 5 °C. Al día 0 el TH disminuyó la actividad antioxidante, aunque no significativamente. Al transcurrir 7 días a 21 °C, no se observó diferencia con respecto al día 0.

Al analizar la AOX de los frutos almacenados a 12 ó 5 °C por 21 días, la mayor actividad se registró para los frutos almacenados a 12 °C sin presentarse diferencia estadística con los frutos control. Ahora bien, si analizamos los frutos que fueron almacenados y luego madurados, la AOX se incrementó para todos los tratamientos, presentándose diferencia únicamente entre los frutos almacenados a 5 °C. Si bien la evaluación de AOX *in vitro* con un radical

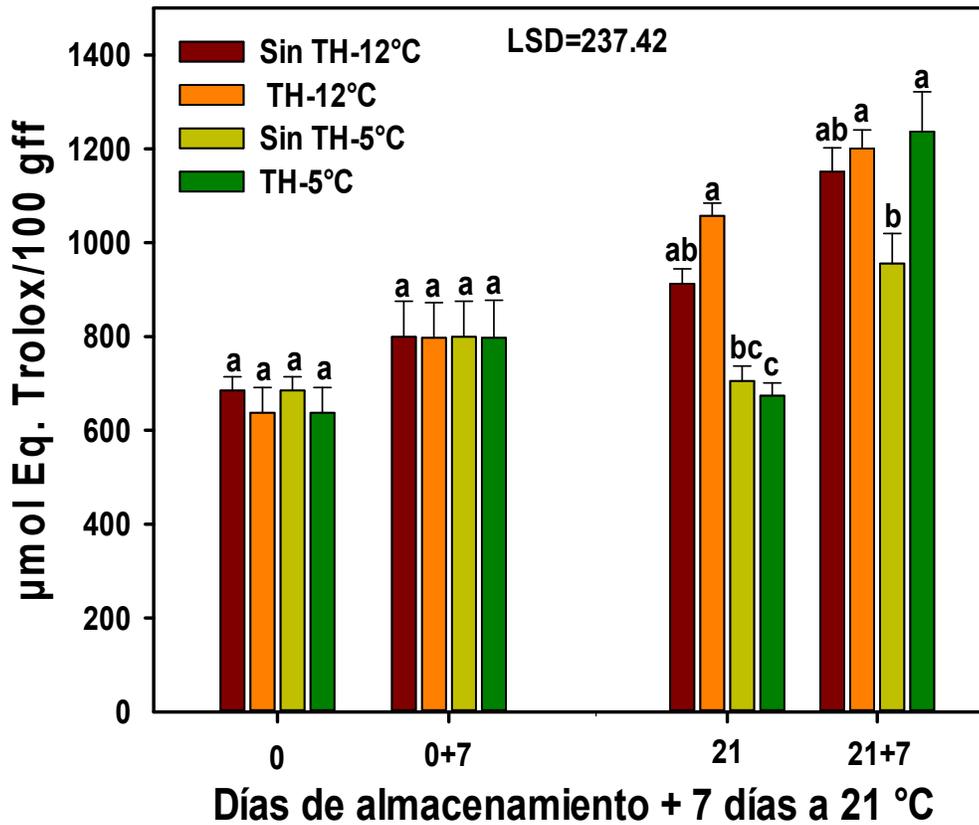


Figura 20. Actividad antioxidante evaluada por el método de ABTS en chile morrón (cv. Coloso), con tratamiento hidrotérmico (TH) a 53 °C por 1 min, durante su almacenamiento a temperaturas bajas más un periodo de maduración de 7 días a 21 °C. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras minúsculas diferentes (a, b, c) indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) en el mismo día de evaluación.

sintético está lejos de representar las condiciones *in vivo*, este análisis nos puede brindar información sobre la habilidad y características estructurales de los compuestos aquí evaluados para donar átomos de hidrógeno y/o electrones con el fin de inhibir el radical ABTS.

Todos los compuestos fenólicos identificados presentaron correlación significativa con la AOX por ABTS con excepción de los compuestos cafeoil hexósido y orientina (**Cuadro 12**). Las correlaciones más fuertes siguieron el siguiente orden: quercetín-O-ramnosil-O-hexósido \approx cumaroil hexósido >luteolín-O-(apiosilmalonil) hexósido \approx sinapoil hexósido \approx luteolín-C-(malonil) hexósido \approx quercetín 3-O-ramnósido ($r^2 = 0.78 - 0.75$); mientras que si se consideran por grupos de compuestos, la correlación más fuerte fue con los derivados de luteolína ($r^2 = 0.83$) (**Cuadro 12**). Estos resultados coinciden con lo presentado por diferentes autores (Jeong y col 2011; Afifa y col 2014; Moo-Huchín y col 2014), quienes han encontrado una correlación positiva entre el contenido de diversos compuestos fenólicos con la evaluación de actividad antioxidante *in vitro*.

Tras determinar la identidad de 12 compuestos fenólicos y cuantificar su contenido en frutos de chile morrón se encontró una fuerte relación de estos compuestos con la actividad antioxidante, así mismo se identificaron compuestos fenólicos específicos en los frutos de chile morrón con tolerancia inducida al daño por frío. Estos compuestos podrían estar inhibiendo el DF mediante la eliminación de las ERO, la quelación de metales, entre otros posibles mecanismos (Raghunath y col 2018).

Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido de compuestos fenólicos individuales y la actividad antioxidante medida por el método de ABTS.

No. de pico	Compuesto	R ²
1	Cumaroil hexósido	0.782 ^{''}
2	Cafeoil hexósido	-0.069 ^{ns}
3	Ácido clorogénico	0.387 ^{''}
4	Feruoil hexósido	0.607 ^{''}
5	Sinapoil hexósido	0.751 ^{''}
	Derivados del ácido cinámico	0.748^{''}
6	Quercetín-O-ramnosil O-hexósido	0.784 ^{''}
11	Quercetín 3-O-ramnósido	0.749 ^{''}
	Derivados de quercetina	0.813^{''}
7	Orientina (luteolín-C-hexósido)	-0.228 ^{ns}
8	Luteolín-C-(malonil) hexósido C-pentósido	0.75 ^{''}
9+10	Luteolín-O-(apiosil) hexósido + Quercetín-O-hexósido	0.718 ^{''}
12	Luteolín-O-(apiosilmalonil) hexósido	0.757 ^{''}
	Derivados de luteolina	0.831^{''}

(^{''}) Indica correlación significativa (p < 0.05).

ns: Correlación no significativa (p > 0.05).

IX. CONCLUSIONES

El tratamiento hidrotérmico por 1 min a 53 °C indujo tolerancia al DF en chile morrón, los frutos tratados presentaron menor incidencia de síntomas de DF y los mejores parámetros de calidad e índices fisiológicos.

El perfil de compuestos fenólicos varió con las condiciones de tratamiento hidrotérmico (TH) y de almacenamiento. Tanto el TH como el almacenamiento en condiciones de DF afectaron la acumulación de derivados del ácido cinámico. Los frutos con TH mostraron una mayor acumulación de derivados de quercetina y luteolina, compuestos que presentaron una correlación fuerte con la actividad antioxidante del tejido.

La tolerancia al DF en chile fue asociada principalmente a los compuestos quercetín *O*-ramnósil *O*-hexósido, luteolin *C*-(malonil) hexósido *C*-pentósido y ácido clorogénico. Asimismo, el quercetín 3-*O*-ramnósido sólo presentó acumulación significativa en los frutos almacenados a temperatura de DF y tratados hidrotérmicamente. Además, la orientina sólo se detectó en los frutos que no fueron expuestos a daño por frío o que recibieron TH.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Kader D, Saleh A, Elmeleigy S, Dosoky N. 2011. Chilling-induced oxidative stress and polyamines regulatory role in two wheat varieties. *Journal of Science of Taibah University* 5:14-25.
- Afifa K, Kamruzzaman M., Mahfuza I, Afzal H, Arzina H, Roksana H. 2014. A comparison with antioxidant and functional properties among five mango (*Mangifera indica* L.) varieties in Bangladesh. *International Food Research Journal* 21: 501-1506.
- Aghdam MS. 2013. Role of alternative oxidase in postharvest stress of fruit and vegetables: Chilling injury. *African Journal of Biotechnology* 12: 7009–7016.
- AOAC. 1999. Association of Official Analytical Chemist. 1999. Official Methods of Analysis. 16^a edición. Association of Official Analytical chemists Washington, D.C. USA.
- Ahmad P, Prasad M. 2012. Abiotic stress response in plants. Primera edición. *Postharvest stress treatments in fruits and vegetables*. Springer. 347-358.
- Artés F, Artés-Hernández F. 1992. Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. *Avances en Ciencias y Técnicas del Frío* 1: 1–14.
- Ashihara H, Crozier A, Komamine A. 2011. *Metabolism and biotechnology*. Primera edición. E.UA: John Wiley & Sons. 758.
- Ayón-Reyna L, González-Robles A, Rendón-Maldonado J, Báez-Flores M, López-López M, Vega-García M. 2017. Application of a hydrothermal-calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. *Postharvest Biology and Technology* 124:85–90.
- Azcón-Bieto J, Talón M. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Segunda Edición. España: Mc Gram Hill. 1034.

- Badui S. 2006. Química de los alimentos. Cuarta edición. México: Pearson. 899.
- Blanco-Ríos AK, Medina-Juárez LA, González-Aguilar GA, Gámez-Meza N. 2013. Antioxidant activity of the phenolic and oily fractions of different sweet bell peppers. *Journal of the Mexican Chemical Society* 57: 137-143.
- Bojórquez-Gálvez A, Vega-García M, Caro-Carrales J, Carrillo-López A, López-Valenzuela JA. 2010. Effect of gradual cooling storage on chilling injury and phenylalanine ammonia-lyase activity in tomato fruit. *Journal of Food Biochemistry* 34: 295–307.
- Bu-KPawoh J, Xi Y, Hang Y, Jin Y. 2002. Polyamine accumulation following hot-water dips influences chilling injury and decay in 'friar' plum fruit. *Food Chemistry and Toxicology* 67: 2649-2653.
- Burg M, Ferraris J. 2008. Intracellular organic osmolytes: function and regulation. *Journal of Biological Chemistry* 283:7309-7313.
- Çandir E, Temizyürek F, Özdemir A. 2009. The effects of hot water dip treatments on the cold storage of Big Top nectarines. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 82: 136-140.
- Cárdenas-Torres F. 2013. Cambios fisiológicos y de actividad de enzimas del sistema antioxidante en frutos de tomate con tolerancia inducida al daño por frío: Tesis de Maestría. Culiacán, Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa. Página 102.
- Crozier A, Clifford M.N, Ashihara H. 2006. Plant secondary metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Primera edición. E.U.A.: Blackwell Publishing. 735.
- Cruz-Mendivil A, López-Valenzuela JA, Calderón-Vázquez C, Vega-García M, Reyes-Moreno C, Valdez-Ortiz A. 2015. Transcriptional changes associated

- with chilling tolerance and susceptibility in 'Micro-Tom' tomato fruit using RNA-Seq. *Postharvest Biology and Technology* 99: 141–151.
- Demidchik, V. 2014. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany* 109: 212–228.
- Deshpande A, Chidley H, Oak P, Pujari K, Giri A, Gupta V. 2016. Data on changes in the fatty acid composition during fruit development and ripening of three mango cultivars (Alphonso, Pairi and Kent) varying in lactone content. *Data in Brief* 9: 480–491.
- Durust N, Sumengen D, Durust Y. 1997. Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 2085-2087.
- Fallik E, Grinberg S, Alkalai S, Yekutieli O, Wiseblum A, Regev F, Beres H, Bar-Lev E. 1999. A unique rapid hot water treatment to improve storage quality of sweet pepper. *Postharvest Biology and Technology* 15: 25–32.
- Fallik E. 2004. Prestorage hot water treatment (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biology and Technology* 32: 125-134.
- FAO, 2003. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Depósito de documentos de la organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Anexo 3: Contenido de nutrientes en alimentos seleccionados. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s1x.htm>. Consultado en enero del 2017.
- FAOSTAT, 2017. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Base de datos estadísticas de la organización de las naciones

- Unidas para la agricultura y la alimentación. Disponible en <http://faostat.fao.org>. Consultado en enero del 2017.
- Fernández-Lozano J, Liverottu O, Sánchez G. 1996. Manejo poscosecha de pimiento. *Corporación del mercado central de buenos aires* 1: 1-27.
- Fornaris G. 2005. Cosecha y manejo postcosecha. *Conjunto Tecnológico para la Producción de Pimiento* 1: 1-11.
- Jiangtao S, Hua L, Qiuyan Ba, Ye H, Kun M, Mijing J, Zhengke Z, Jingping R. 2018. Characteristics of chilling injury-induced lignification in kiwifruit with different sensitivities to low temperatures. *Postharvest Biology and Technology* 135: 8-18.
- González-Aguilar GA, Cruz R, Baez R. 1998. Storage quality of bell peppers pretreated with hot water and polyethylene packaging. *Journal of Food Quality* 22: 1287-299.
- González-Aguilar GA, Gayosso LR, Cruz LR, Fortiz J, Baéz R, Wang CY. 2000. Polyamines induced by hot water treatments reduce chilling injury and decay in pepper fruit. *Postharvest Biology and Technology* 18: 19–26.
- Guasco-Herrera C, Chávez-Servín J, Ferriz-Martínez R, De La Torre-Carbot K, Elton-Puente E, García-Gasca T. 2014. Poliaminas: pequeños gigantes de la regulación metabólica. *Reb* 33: 51-57.
- Hodges DM. 2003. Postharvest oxidative stress in horticultural crops. First Edition. *Low Temperature As a Causative Agent of Oxidative Stress in Postharvest*. E.U.A: Food Products Press. 55-68.
- Hodges DM, Lester GE, Munro KD, Toivonen PM. 2004. Oxidative stress: importance for postharvest quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 39: 924–929.

- Hernández-Fuentes AD, Campos-Montiel R, Pinedo-Espinoza JM. 2010. Comportamiento poscosecha de pimiento morrón (*Capsicum annum* L.) var. California por efecto de la fertilización química y aplicación de lombrihumus. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 1: 82-91.
- Ilic ZS, Trajkovic R, Pavlovic R, Alkalai-Tuvia S, Perzelan Y, Fallik E. 2012. Effect of heat treatment and individual shrink packaging on quality and nutritional value of bell pepper stored at suboptimal temperature. *International Journal of Food Science and Technology* 47: 83–90.
- Jang YK, Jung ES, Lee H, Choi D, Lee CH. 2015. Metabolomic characterization of hot pepper (*Capsicum annum* “CM334”) during fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 9452–9460.
- Jeong Y, Jin J, Cho Y, Jung H, Park S, Jeong S, Kim Y, Lim C, 2011. Determination of polyphenols in three *Capsicum annum* L. (bell pepper) varieties using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Their contribution to overall antioxidant and anticancer activity. *Journal of Separation Science* 34: 2967–2974.
- Jian-ye C, Li-hong H, Yue-ming J, Yong W, Daryl C, Zuo-liang, Wang-jin Lua. 2008. Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. *Physiologia Plantarum* 132: 318–328.
- Kader AA, Sommer NF, Bósquez-molina TE. 2007. *Tecnología poscosecha de productos hortofrutícolas*. Tercera Edición. E.U.A: UC PEER. 1249.
- Khan AL, Kang S, Dhakal KH, Hussain J, Adnan M, Kim JG, Le I. 2013. Flavonoids and amino acid regulation in *Capsicum annum* L. by endophytic fungi under different heat stress regime. *Scientia Horticulturae* 155: 1–7.

- Koehler G, Wilson RC, Goodpaster JV, Sønsteby A, Lai X, Witzmann FA, You J, Rohloff J, Randall S, Alsheikh A. 2012. Proteomic study of low-temperature responses in strawberry cultivars (*Fragaria x ananassa*) that differ in cold tolerance. *Plant Physiology* 159: 1787-1805.
- Kozukue M, Kozukue E, Kishiguchi M. 1979. Changes in the contents of phenolic substances, phenylalanine ammonia-lyase (pal) and tyrosine ammonia-lyase (tal) accompanying chilling-injury of eggplant fruit. *Scientia horticulturae* 11: 51—59.
- Lim C, Mo-Kang S, J Lai, Cho J. 2007. Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) Fruits are susceptible to chilling injury at the breaker stage of ripeness. *HortScience* 42:1659–1664.
- Liu S, Ju J, Xia G. 2014. Identification of the flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3',5'-hydroxylase genes from Antarctic moss and their regulation during abiotic stress. *Gene* 543: 145–152.
- López-Angulo G, Montes-Avila J, Díaz-Camacho SP, Vega-Aviña R, Ahumada-Santos YP, Delgado-Vargas F. 2014. Chemical composition and antioxidant, α -glucosidase inhibitory and antibacterial activities of three *Echeveria* DC. Species from Mexico. *Ariabian Journal of Chemistry* 1: 1-10.
- López-Angulo G, Montes-Avila J, Díaz-Camacho SP, Vega-Aviña R, Báez-Flores M.E, Delgado-Vargas F. 2016. Bioactive components and antimutagenic and antioxidant activities of two *Echeveria* DC. species. *Industrial Crops and Products* 85: 38–48.
- Luengwilai K, Saltveit M, Beckles DM. 2012. Metabolite content of harvested micro-Tom tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit is altered by chilling and

- protective heat-shock treatments as shown by GC–MS metabolic profiling. *Postharvest Biology and Technology* 63: 116–122.
- Luna-Esquivel E, Ojeda-Barrios D, Guerrero-Prieto V, Teresita-Ruíz A, Martínez-Téllez J. 2014. Poliaminas como indicadores de estrés en plantas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 20: 283-295.
- Luria N, Sela N, Yaari M, Feygenberg O, Kobilier L, Lers A, Prusky D. 2014. De novo assembly of mango fruit peel transcriptome reveals mechanisms of mango response to hot water treatment. *BMC Genomics* 14: 1-16.
- Lurie y Sabehat, 1997. Prestorage temperature manipulations to reduce chilling injury in tomatoes. *Postharvest Biology and Technology* 14: 257-269.
- Lurie S. 1998. Review. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biology and Technology* 14: 257–269.
- Lyons JM, 1973. Chilling injury in plants. Review. *Plant physiology*. 24, 445-466.
- Mann J. 1992. Secondary metabolism. Segunda edición. Reino Unido: Oxford University Press. 935.
- Marin A, Ferreres F, Tomas-Barbera F, Gil M. 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 3861–3869.
- Martínez S, Curros A, Bermúdez J, Carballo J, Franco I. 2006. Perfil de ácidos grasos de la grasa de tres variedades de pimientos (Arnoia, Fresno de la Vega y los Valles-Benavente). Influencia del grado de maduración. *Grasas y Aceites* 57: 415-421.
- Martinez V, Mestre T, Rubio F, Girones-Vilaplana A, Moreno DA, Mittler R, Rivero RM. 2016. Accumulation of flavonols over hydroxycinnamic acids

- favor oxidative damage protection under abiotic stress. *Frontiers in Plant Science* 7: 1-17.
- Martínez-Lüscher J, Torres N, Hilbert G, Richard T, Sánchez-Díaz M, Delrot S, Aguirreolea J, Pascual I, Gomès I. 2014. Ultraviolet-B radiation modifies the quantitative and qualitative profile of flavonoids and amino acids in grape berries. *Phytochemistry* 102: 106–114.
- Materska M, Perucka P. 2005. Antioxidant Activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1750-1756.
- McDonald RE, McCollum TG, Baldwin EA. 1999. Temperature of hot water treatments influences tomato fruit quality following low-temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*. 16: 147–155.
- Meng C, Zhang S, Deng Y, Wang G, Kong F. 2015. Overexpression of a tomato flavanone 3-hydroxylase-like protein gene improves chilling tolerance in tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry* 96: 388-400.
- Mikulic-Petkovsek M, Schmitzer V, Jakopic J, Cunja V, Veberic R, Munda A, Stampar F. 2013. Phenolic compounds as defence response of pepper fruits to *Colletotrichum coccodes*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 84: 138-145.
- Mirdehghan SH, Rahemi M. 2005. Effects of Hot Water Treatment on reducing chilling injury of pomegranate (*Punica granatum*) fruit during storage. *Acta Horticulturae* 682: 887-892.
- Morales-Soto A, Gómez-Caravaca AM, García-Salas P, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. 2013. High-performance liquid chromatography coupled to diode array and electrospray time-of-flight mass spectrometry

- detectors for a comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in three pepper (*Capsicum annuum* L.) samples. Food Research International 51: 977–984.
- Moo-Huchín VM, Estrada-Mota I, Estrada-León R, Cuevas-Glory L, Ortiz-Vázquez E, Betancur-Ancona D, Saury-Duch E. 2014. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. Food Chemistry 152: 508-515.
- Musto M, Satriano M. 2010. Fruit responses to postharvest heat treatment time: characterisation of heat-treated strawberry (*Fragaria x ananassa*) cv. 'Candongga' fruits. Agronomy Research 8: 815–826.
- Nafussi B, Ben-Yehoshua S, Rodov V, Peretz J, Ozer B, D'hallewin G. 2001. Mode of action of hot-water dip in reducing decay of lemon fruit Journal of Agriculture and Food Chemistry 49: 107–113.
- Nelson DL y Cox MM. 2005. Principles of Biochemistry. 2005. Fourth Edition. E.U.A: Omega. 1845.
- Nyanjage MO, Wainwright H, Bishop CF. 1999. Effects of hot-water treatment and storage temperature on electrolyte leakage of mangoes (*Mangifera indica* Linn.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 74: 566-572.
- Pedraza-Chaverri N, Cárdenas-Rodríguez J. 2006. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. Educación Química 17: 164–173.
- Petersen M, Hans J, Matern U. 2010. Biosynthesis of phenylpropanoids and related compounds. Annual Plant Reviews 40: 182-257.

- Phimchan P, Chanthai S, Bosland PW, Techawongstien S. 2014. Enzymatic changes in phenylalanine ammonia-lyase, cinnamic-4-hydroxylase, capsaicin synthase, and peroxidase activities in *Capsicum* under drought stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1: 1-23.
- Pranamornkith R. 2009. Effect of postharvest treatments on storage quality (*Citrus latifolia tanaka*) fruits: Tesis doctoral. New Zealand: Massey University. Página 167.
- Raghunath A, Sundarraj K, Nagarajan R, Arfuso F, Bian J, Kuma A, Sethi G, Perumal E. 2018. Antioxidant response elements: Discovery, classes, regulation and potential applications. *Redox biology* 17: 297-314.
- Ramírez-Perales MF. 2017. Aplicación secuencial de dos tratamientos hidrotérmicos en frutos de mango. Efecto sobre la calidad y la inducción de tolerancia al daño por frío: Tesis de maestría. Culiacán, Sinaloa: Universidad Autonoma de Sinaloa. Página 79.
- Rhodes MJC, Wooltouto LSC. 1978. Changes in the activity of hydroxycinnamyl coa:quinate hydroxycinnamyl transferase and in the levels of chlorogenic acid in potatoes and sweet potatoes stored at various temperatures. *Phytochemistry* 7: 1225-1229.
- Roy S, Conway W, Watada A, Sams E, Erbe E, Wergin W. 1994. Heat treatment affects epicuticular wax structure and postharvest calcium uptake in 'golden delicious' apple. *HortScience* 29:1056–1058.
- SAGARPA, 2017. Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SIAP 2017. Servicio de información Agroalimentaria y Pesca. Avances de siembras y cosechas. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/>. Consultado en enero del 2017.

- Sánchez-Ballesta MT, Zacarias L, Granell A, Lafuente MT. 2000. Accumulation of Pal transcript and Pal activity as affected by heat-conditioning and low-temperature storage and its relation to chilling sensibility in mandarin fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 2726–2731.
- Sánchez-Bel P, Egea I, Sánchez-Ballesta MT, Martínez-Madrid C, Fernández-García N, Romojaro F, Olmos E, Estrella E, Bolarín M, Borja-Flores F. 2012. Understanding the mechanisms of chilling injury in bell pepper fruits using the proteomic approach. *Journal of Proteomics* 75. 5463–5478.
- Sánchez-Rodríguez E, Moreno DA, Ferreres F, Rubio-Wilhelmi MM, Ruiz JM. 2011. Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: Changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry* 72: 723–729.
- Santon-Buelna K y González-Paramás E. 2014. Handbook of chemical and biological plant analytical methods. Primer edición. Strategies in the analysis of flavonoids. España: John Wiley & Sons. 962.
- Saucedo-Veloz G, Torres-Esparza F. 1977. incidence of chilling injury and ripening quality. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 90: 205-211.
- Schirra M, Amedeo-Palma A, D'aquino S, Angioni A, Minello E, Melis M, Cabras P. 2008. Influence of postharvest hot water treatment on nutritional and functional properties of Kumquat (*Fortunella japonica* Lour. Swingle Cv. Ovale) fruit. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 56: 455–460.
- Sevillano L; Sanchez-Ballesta M.T; Romojaro F; Flores FB. 2009. Physiological , hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in

- horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89: 555–573.
- Shahkoomahally S, Ramezani A. 2013. The effect of hot water and calcium solution dipping on quality in Kiwifruit during storage. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 13: 1351-1356.
- Sharma R, Singh D, Pal R. 2013. Synergistic influence of pre-harvest calcium sprays and postharvest hot water treatment on fruit firmness, decay, bitter pit incidence and postharvest quality of royal delicious apples (*Malus x domestica* Borkh). *American Journal of Plant Sciences* 4: 153-159.
- Shellie KC, Mangan RL. 1994. Disinfestation: effect of non-chemical treatments on market quality of fruit. In: Champ, B.R. (Ed.), *Postharvest Handling of Tropical Fruits*. ACIAR Proceedings. pp. 304–310.
- Soleimani-Aghdama M, Bodbodak S. 2013. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. Review. *Scientia Horticulturae* 156: 73–85.
- Tangue A, Van Dijck P, Thevelein V. 2003. Determinants of freeze tolerance in microorganisms, physiological importance, and biotechnological applications. *Advances in Applied Microbiology* 53: 129-176.
- Toda K, Takahashi R, Iwashina T, Hajika M. 2011. Difference in chilling-induced flavonoid profiles, antioxidant activity and chilling tolerance between soybean near-isogenic lines for the pubescence color gene. *Journal of Plant Research* 124: 173–182.
- Toivonen, PM. 2004. Postharvest storage procedures and oxidative stress. *Journal of Horticulture Science* 89: 938-942.

- Valenzuela-Ponce L. 2015. Identificación de proteínas asociados con la indicción de tolerancia al daño por frío en frutos de tomate: Tesis de maestría. Culiacán, Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa. 152 páginas.
- Yun Z, Gao H, Liu P, Liu S, Luo T, Jin S, Xu Q, Xu J, Cheng Y, Deng X. 2013. Comparative proteomic and metabolomic profiling of citrus fruit with enhancement of disease resistance by postharvest heat treatment. *Plant Biology* 13: 1-16.
- Wang CY. 1990. Chilling injury of horticultural crops. Primera edición. E.U.A. CRC Press. 726.
- Wang CY. 2010. Alleviation of chilling injury in tropical and subtropical fruits. *Acta Horticulturae* 864: 267–274.
- Wahyuni Y, Ballester AR, Sudarmonowati E, Bino RJ, Bovy AG. 2011. Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: Variation in health-related compounds and implications for breeding. *Phytochemistry* 72: 1358–1370.
- Wahyuni Y, Ballester AR, Sudarmonowati E, Bino RJ, Bovy AG, 2012. Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human Diet. Review. *Journal of Natural Products* 1: A-K.
- Whitaker B. 1995. Lipid changes in mature-green bell pepper fruit during chilling at 2 °C and transfer to 20 °C subsequent to chilling. *Physiologia Plantarum* 93: 683-688
- Woolf AB. 1997. Reduction of chilling injury in stored 'Hass' avocado fruit by 38 °C water treatments. *HortScience* 32, 1247–1251.
- Zhu F, Chen J, Xiao X, Zhang M, Ze Y, Zeng Y, Xu J, Cheng J, Deng X. 2016. Salicylic acid treatment reduces the rot of postharvest citrus fruit by inducing

the accumulation of H₂O₂, primary metabolites and lipophilic polymethoxylated flavones. Food Chemistry 207: 68–74.

Abreviaturas

~	Aproximadamente
α	Alfa
β	Beta
Abs	Absorbancia
ANOVA	Análisis de varianza
AOX	Actividad antioxidante
ABTS	Ácido 2,2'-azinobis (3etilbenzotiazolín)-6-sulfónico
C	Control
CF	Compuestos fenólicos
Col.	Colaboradores
cv.	Cultivar
d	Día
DAD	Detector de arreglo de diodos
DCPI	2,6-Dicloroindofenol
DF	Daño por frío
e.g.	Por ejemplo
ERO	Especies reactivas de oxígeno
ESI	Ionización por electroespreado
FAL	Fenilalanina amonio liasa
FAO	Food and Agriculture Organization
FAOSTAT	Base de datos de la FAO
F3H	Flavanona 3 hidroxilasa
ff	Fruto fresco
GLMC	Grey Level Matrix Correlation
MDA	Malonaldehido
MS-ESI	Espectrómetro de masas con electroespreado
m/z	Relación masa/carga
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
nd	No detectado
ns	No significativo
N _{2(g)}	Nitrógeno molecular en fase gas
ppm	Parte por millón

PTFE	Politetrafluoroetileno
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloracético
TH	Tratamiento hidrotérmico
UPLC-DAD	Cromatografía de ultra alta definición con detector de arreglo de diodos
UV	Luz ultravioleta
V	Volts
% v/v	Porcentaje volumen/volumen