

Actividad enzimática en frutos de *Hylocereus undantus* Haw. durante poscosecha y con el uso de atmósferas modificadas

Ramírez-Ramírez, S.P.; M.T. Martínez-Damián*; M.T. Colinas-León,
A.F. Barrientos-Priego; T. Vásquez-Rojas

Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. C.P. 56230. México

*Corresponding author, e-mail: teremd@correo.chapingo.mx

Received 5th November, 2010; Accepted 6th June, 2012

Resumen

El objetivo del presente estudio fue conocer la actividad enzimática en poscosecha de frutos de pitahaya con el uso de películas plásticas y refrigeración. Se usaron dos tipos de películas plásticas, una de baja densidad (PBD) y una película multicapa PD-960 de Cryovac, con dos temperaturas de almacenamiento y a temperatura ambiente ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 días, y almacenamiento a 5°C durante 8, 16, 24 y 32 días. Las enzimas estudiadas fueron catalasa (CAT), peroxidasa (POX), polifenoloxidasas (PFO) y pectinmetilesterasa (PME). La producción de etileno estuvo relacionada con la concentración de proteína soluble. La actividad de PFO disminuyó durante el almacenamiento a temperatura ambiente, el tiempo de almacenamiento en frío no influyó en la actividad de PFO pero el uso de películas si, disminuyéndola en un 50%. La actividad máxima de POX se presentó con los contenidos máximos de proteína, la presencia de la película plástica marcó diferencias ($P \leq 0.05$) con el testigo, la refrigeración disminuyó la actividad pero al ser transferidos los frutos a temperatura ambiente la actividad se incrementa 50%. La actividad de CAT disminuyó significativamente ($P \leq 0.05$) durante la refrigeración, sin embargo, al ser transferidos a temperatura ambiente la actividad incrementó, en los frutos con película plástica la actividad fue significativamente ($P \leq 0.05$) menor ($7 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ de peso fresco). La actividad de PME fue mayor en los frutos con película PD-960, los días de refrigeración influyeron significativamente ($P \leq 0.05$) tuvieron mayor actividad los frutos con 32 días de refrigeración, sin embargo, la actividad de PME no influyó sobre la firmeza de los frutos.

Palabras clave: películas plásticas, pitahaya, polifenoloxidasas, peroxidasa, catalasa, pectinmetilesterasa.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the enzymatic behavior related to the ripening of fruits of pitahaya using of two types of plastic films, low density (PBD) and multilayered film PD-960 of Cryovac, under two storage temperatures, room temperature ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) during 15 days and storage at 5°C during 8, 16, 24 and 32 days. The enzymes evaluated were catalase (CAT), peroxidase (POX), polyphenoloxidase (PFO) and pectinmethylesterase (PME). It was found that the production of ethylene was related to the concentration of soluble protein. The activity of PFO was reduced during storage at room temperature, the time of cold storage did not influence the activity of PFO but the use of plastic films did, reducing it up to 50%. The maximum activity of POX coincides with the maximum contents of soluble protein, the presence of plastic film pointed significant differences ($P \leq 0.05$) compared to the control, the cold storage reduced the activity up to a 50%, when the fruits were

transferred to room temperature the activity increased. The CAT activity reduced significantly ($P \leq 0.05$) during cooling, nevertheless, when the fruits were transferred to room temperature the activity increased, in the fruits with plastic film the activity was significantly ($P \leq 0.05$) lower ($7 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ of fresh weight). The PME activity was higher in the fruits with film PD-960, the days of cold storage influenced significantly ($P \leq 0.05$) and had greater activity with 32 days of cold storage, and nevertheless, the activity of PME did not influenced fruit firmness.

Keywords: plastic films, dragon fruit, pitahaya, polyphenoloxidase, peroxidase, catalase, pectinmethylesterase.

Introducción

La pitahaya (*Hylocereus undatus* Haw.) pertenece a la familia de las cactáceas. Su fruto es de color atractivo, cáscara rosa intensa con brácteas verdes y pulpa blanca con semillas negras muy pequeñas. En la actualidad está teniendo gran demanda en el mercado europeo y japonés. En México se le conoce desde la época prehispánica, sin embargo, se conoce muy poco de la fisiología y comportamiento enzimático de la fruta en postcosecha. El estado de madurez en el que es cosechado el fruto va a influir en el comportamiento postcosecha.

La maduración de los frutos integra un gran número de cambios que ocurren desde las últimas etapas del crecimiento y desarrollo hasta las primeras etapas de senescencia, incluyendo ablandamiento, cambio de color, acumulación de compuestos volátiles, y azúcares que derivan en ácidos orgánicos catalizados por enzimas específicas, estos cambios se traducen en las características sensoriales de los frutos (Sanz, 2005). Las películas plásticas ayudan a mantener las características de la fruta durante la postcosecha, en muchos casos ayudan a retrasar la senescencia mejorando apariencia, textura, sabor y reduciendo el ablandamiento (Remon *et al.*, 2000), sin embargo, es importante reconocer que las atmósferas modificadas también pueden producir cambios no deseados. Las bajas temperaturas también ayudan a conservar en mejores condiciones las característica de los frutos, sin embargo, también pueden causar daños a los mismos o inducir alteraciones metabólicas no deseadas. El ablandamiento de los frutos durante la maduración se atribuye principalmente a la hidrólisis enzimática de los polisacáridos de la pared celular (Wakabayashi, 2000). La acción de algunas enzimas como la pectinmetilesterasa, poliglacturonasa y peroxidasa es trascendental para la calidad de los frutos ya que tienen una importante participación en el ablandamiento de los frutos (Tijskens *et al.*, 1999). El etileno es muy importante para la activación de las enzimas responsables de los cambios que ocurren en las paredes celulares durante la maduración (Karakurt y Huber, 2002). La catalasa es una de las enzimas que protege a las células de las especies activas de oxígeno que son inducidas por frío (Wise y Naylor, 1987). Ésta enzima cataliza la descomposición de peróxido de hidrógeno para la formación de agua y oxígeno (Salas y Lafuente, 2000), y parece inducir la aclimatación del fruto ante el estrés por frío (Prasad, 1997). La peroxidasa también cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno pero difiere de la acción de la catalasa en que la peroxidasa libera radicales libres en lugar de oxígeno y estos radicales son altamente fitotóxicos (Burris, 1960 citado por Wang, 1995). Las enzimas fenólicas como la peroxidasa y polifenoloxidasa están relacionadas con el deterioro y oscurecimiento de los frutos.

El objetivo del presente estudio fue conocer el comportamiento de polifenoloxidasa, peroxidasa, catalasa y pectinmetilesterasa, que son las enzimas que están asociadas generalmente al deterioro de los frutos en postcosecha, con el uso de películas plásticas con y sin almacenamiento en frío.

Materiales y métodos

Para la realización del experimento se usaron frutos de pitahaya cáscara roja y pulpa blanca, provenientes de Tehuacán, Puebla, México. Los cuales inmediatamente después de ser cosechados fueron trasladados al laboratorio, donde se distribuyeron en sus respectivos tratamientos.

Las películas plásticas utilizadas fueron:

- Polietileno de baja densidad (PBD) de calibre 150 (1.5 milésimas de pulgada de espesor) con una permeabilidad al O₂ del $1.62 \times 10^6 \text{ cc}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$ y al CO₂ $2.38 \times 10^5 \text{ cc}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$.
- Película multicapa Cryovac PD-960, de calibre 125 (equivalente a 1.25 milésimos de pulgada con una permeabilidad al oxígeno de 6,000-8,000 $\text{cc}\cdot\text{m}^{-2}\cdot 24 \text{ h}^{-1}$ (73 °F a 1 atm) y de 19,000-22,000 $\text{cc}\cdot\text{m}^{-2} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ (73 °F a 1 atm) al CO₂.

Los frutos se lavaron y trataron con Benlate a 10 mg·litro⁻¹; además, se secaron y prepararon con su respectiva película plástica. Los frutos fueron homogéneos en la medida de lo posible en cuanto a tamaño y color, ya que el color es un buen indicador del grado de madurez. También, se procuró que no estuvieran dañados mecánicamente o por insectos. Dos experimentos fueron desarrollados: el primero se hizo a temperatura ambiente (20±1 °C) y con las películas plásticas; el segundo se hizo con refrigeración a 5 °C y, después, a temperatura ambiente.

Para el primer experimento se generaron tres tratamientos: frutos testigo, frutos con polietileno de baja densidad (PBD) y frutos con polietileno PD-960. El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones, siendo la unidad experimental un fruto. Cuatro frutos se usaron por cada día de evaluación. Los frutos se expusieron durante 15 días a temperatura ambiente; las evaluaciones se realizaron cada tres días.

El segundo experimento se desarrolló con dos factores, tipo de película y refrigeración. El diseño experimental fue factorial completamente al azar, siendo los factores las películas con tres niveles y los días de almacenamiento con cuatro niveles (3 x 4). Cuatro repeticiones fueron involucradas. La unidad experimental fue un fruto. Los frutos se conservaron durante 8, 16, 24, y 32 días en refrigeración a 5 °C y, posteriormente, se expusieron a temperatura ambiente (20 ±1 °C). Las evaluaciones se hicieron cada tres días. Cuatro frutos por tratamiento se usaron por cada día de evaluación.

Evaluación de variables

Proteína

La proteína se determinó por el método de Bradford (1976) la considerar 1 g de peso fresco de pulpa con 5 ml de buffer Tris-HCl 0.1M pH= 7.1 frío. La mezcla se centrifugó a 12,000 x g durante 30 min. Luego, 100 µl del sobrenadante se adicionaron a 5 ml de la solución Coomassie blue, se agitó y registró el incremento de absorbancia a 595 nm. La cuantificación se realizó mediante una calibración con albúmina de bovino.

Producción de etileno

El etileno se cuantificó por el método de respiración estática. Para ello, el fruto se colocó en un recipiente hermético de volumen conocido durante una hora para el caso de los frutos sin película plástica. En los frutos con cubierta se colocó un adherencia de silicón, se tomaron 5 ml de aire y se conservaron en vacutainer a -20 °C hasta su lectura. Las muestras se inyectaron en un cromatógrafo de gases marca Varian modelo 3400 CX con una columna capilar de 27.5 cm de largo 0.32 mm de diámetro interno y 0.45 mm de diámetro externo y 10 mm de grosor de película tipo abierto con capa porosa de sílica fundida con base estacionaria de Porapak tipo Q. La temperatura de la columna fue de 80 °C, la del detector de 170 °C y la del inyector de 150 °C: Como estándar se utilizó etileno (INFRA) 103 mg·litro⁻¹. El gas de arrastre fue helio con un flujo de 32.3 ml·min⁻¹ y la cantidad de muestra inyectada fue de 1.0 ml, tomado con una jeringa hipodérmica.

Comportamiento enzimático

Determinación de Polifenoloxidasas (PFO)

La actividad de PFO se determinó mediante la metodología descrita por Laminkara (1995) con modificaciones hechas por Alia-Tejagal *et al.* (2002). Se tomó 1 g de pulpa con 5 ml de Tris-HCl frío (pH 6.5), se mezcló en un homogenizador de tejidos durante 30 s, posteriormente se centrifugó la muestra durante 30 min a 10,000 x g a 4 °C. El sobrenadante se utilizó para el ensayo y se evaluó el cambio de absorbancia a A₄₂₀ nm; la mezcla de

reacción consistió en 2 ml de catecol (25 mM)+75 µl del sobrenadante. Luego se determinó el cambio de absorbancia en 2 min. La actividad enzimática se reportó como U·g⁻¹ de peso fresco; donde U=Unidad de actividad enzimática y una unidad es igual a la formación de 1 µmol·min⁻¹ de *o*-benzoquinona.

Determinación de Peroxidasa (POX)

La extracción de POX fue similar a PFO y se realizó de acuerdo con Flurkey y Jen (1978) con modificaciones de Alia-Tejacal *et al.* (2002). La mezcla del ensayo tuvo un volumen total de 3 ml. De amortiguador Tris-HCl (pH 7.1) hubo 2.5 ml, 0.2 ml de guayacol 0.1 M, 0.1 ml de peróxido de hidrógeno 0.25 % y 0.2 ml del sobrenadante. El cambio de absorbancia en 3 min se evaluó a 470 nm. La actividad enzimática se registró como U·g⁻¹ de peso fresco, donde U=Unidad de actividad enzimática y una unidad es igual a la formación de 1 µmol·min⁻¹ de tetraguaicol.

Determinación de Catalasa (CAT)

La actividad de catalasa se evaluó mediante la metodología descrita por Blackwell *et al.* (1990). Para ello se consideró el cambio a una absorbancia de 240 nm. En una celda de cuarzo se colocaron 2.7 ml de 10 mM Tris-HCL (pH 8.5) y 0.1 ml de 0.88% de H₂O₂ en 100 mM Tris-HCl (pH 8.5). La reacción se empezó añadiendo 0.2 ml de extracto crudo y se determinó el cambio de absorbancia en 3 min.

Determinación de la actividad de pectinmetilesterasa (PME)

La actividad de pectinesterasa se determinó con la metodología descrita por Ranngana (1979). Se molieron 5 g de pulpa en 40 ml de pectina cítrica al 1 %. Inmediatamente después se neutralizó la mezcla a un pH de 7.5 con hidróxido de sodio al 0.2 N y se colocó en baño maría a 30 °C. Posteriormente, cada 10 min la mezcla se valoró con hidróxido de sodio de concentración 0.01 N hasta pH 7.5 en un tiempo de reacción de 30 min. La actividad de petinmetilesterasa se evaluó como la cantidad de miligramos de metoxilo desdoblados por la enzima. Las unidades de PME se expresan en éster hidrolizado en meq·min⁻¹·g⁻¹ de peso fresco.

Resultados y discusión

Durante el almacenamiento a temperatura ambiente, la proteína se incrementó en comparación con el contenido inicial (26.66 mg·100 g⁻¹ peso fresco). Lo mismo sucede en plátano según Areas *et al.* (1988). Esto puede suceder debido a los cambios que ocurren durante la maduración, ya que se requiere la síntesis de nuevas proteínas. Existió un incremento en el contenido hasta el día 9, pero luego disminuyó. El tratamiento con película PBD fue el de la mayor disminución (21.64 mg·100 g⁻¹ peso fresco), existiendo diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo. Los frutos sin película plástica y la película PBD tuvieron un comportamiento similar en la cantidad presente de proteína, pero no hubo diferencias significativas. Aunque los frutos con película PD-960 tuvieron menor contenido (Cuadro 1).

Cuadro 1. Proteína (mg·100 g⁻¹ peso fresco) de frutos de pitahaya almacenados a 20 °C.
Table 1. Protein (mg·100 g⁻¹ fresh weight) of pitahaya fruits stored at 20 °C.

Película plástica	Días					
	0	3	6	9	12	15
Testigo	26.66	110.89 b ^z	159.07 a	166.25 a	128.62 b	
BD		103.88 b	137.62 a	152.51 a	21.65 a	140.54 a
PD-960		63.99 a	132.92 a	107.07 a	58.85 a	153.79 a
DMSH		20.58	39.36	61.56	41.41	59.86
CV (%)		11.22	13.92	21.96	30.09	23.5

^zValores con letras distintas dentro de columnas indican diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey a $P \leq 0.05$. PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película multicapa Cryovac; DMSH: diferencia mínima significativa honesta; CV: coeficiente de variación.

Al igual que en los frutos sin refrigeración, el comportamiento del contenido de proteína soluble fue en aumento aunque fue mayor la cantidad encontrada en los frutos con refrigeración. La cantidad de proteína soluble encontrada en los frutos almacenados a 5 °C fue disminuyendo a mayor número de días en almacenamiento; al ser transferidos a temperatura ambiente la concentración se incrementó. Hubo diferencias ($P \leq 0.05$) con 16 días de refrigeración durante los primeros 9 días de almacenamiento teniendo una mayor concentración, pero a los 12 días de exposición, a temperatura ambiente (20 ± 1 °C), los frutos con 8 días de almacenamiento en frío fueron los que tuvieron significativamente mayor contenido de proteína soluble. Las películas plásticas influyeron significativamente en la concentración de proteína soluble que se encontró en los frutos (Figura 1).

Durante los 12 días de exposición a temperatura ambiente (20 ± 1 °C), la concentración encontrada de proteína en los frutos sin película plástica fue significativamente mayor ($P \leq 0.05$). Del día 0 al día 12 cambió de 120 y 207 mg·100 g⁻¹ peso fresco, siendo un 66 % más de proteína soluble en comparación con los frutos con película al final del estudio.

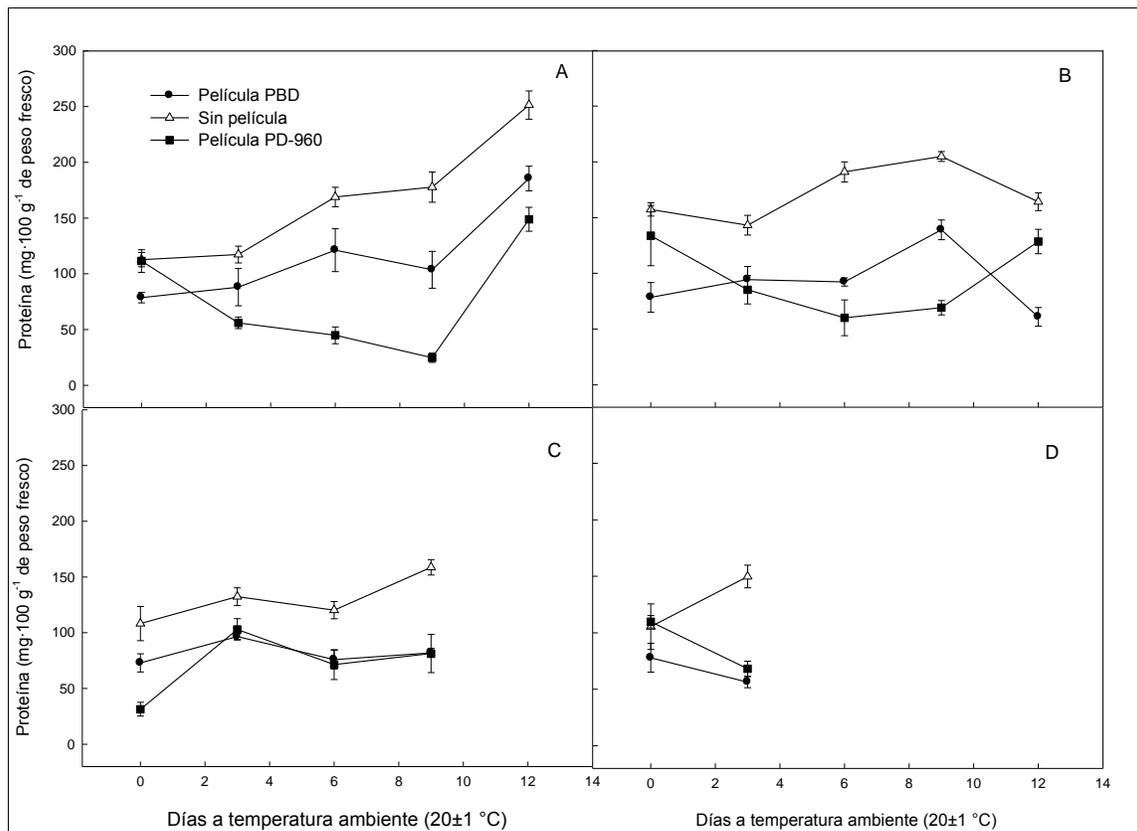


Figura 1. Proteína soluble de frutos pitahaya a 20 ± 1 °C después de 8 (A), 16 (B), 24 (C) y 32 (D) días de almacenamiento a 5 °C cubiertos con dos tipos de películas plásticas. Cada punto representa la media de cuatro observaciones \pm error estándar. PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película Cryovac.

Figure 1. Soluble protein of pitahaya fruits at 20 ± 1 °C after 8 (A), 16 (B), 24 (C) y 32 (D) days of storage of 5 °C covered with two types of plastic films. Each point represents the mean of four observations \pm standard error. PBD: polyethylene of low density; PD-960: Cryovac film.

Según Wang (1982), tal incremento se debió a que se pueden sintetizar nuevas proteínas por efecto del etileno (Figura 2). En cuanto a las películas plásticas solo hubo diferencias ($P \leq 0.05$) entre ellas a los 6 y 9 días, a temperatura ambiente.

Los resultados obtenidos demuestran que la producción de etileno tiene relación con el contenido de proteína soluble, ya que a menor producción de etileno hubo menor cantidad de proteína soluble (Figuras 1 y 2). Alia-Tejagal *et al.* (2005) encontraron un comportamiento similar en *Pouteria sapota*.

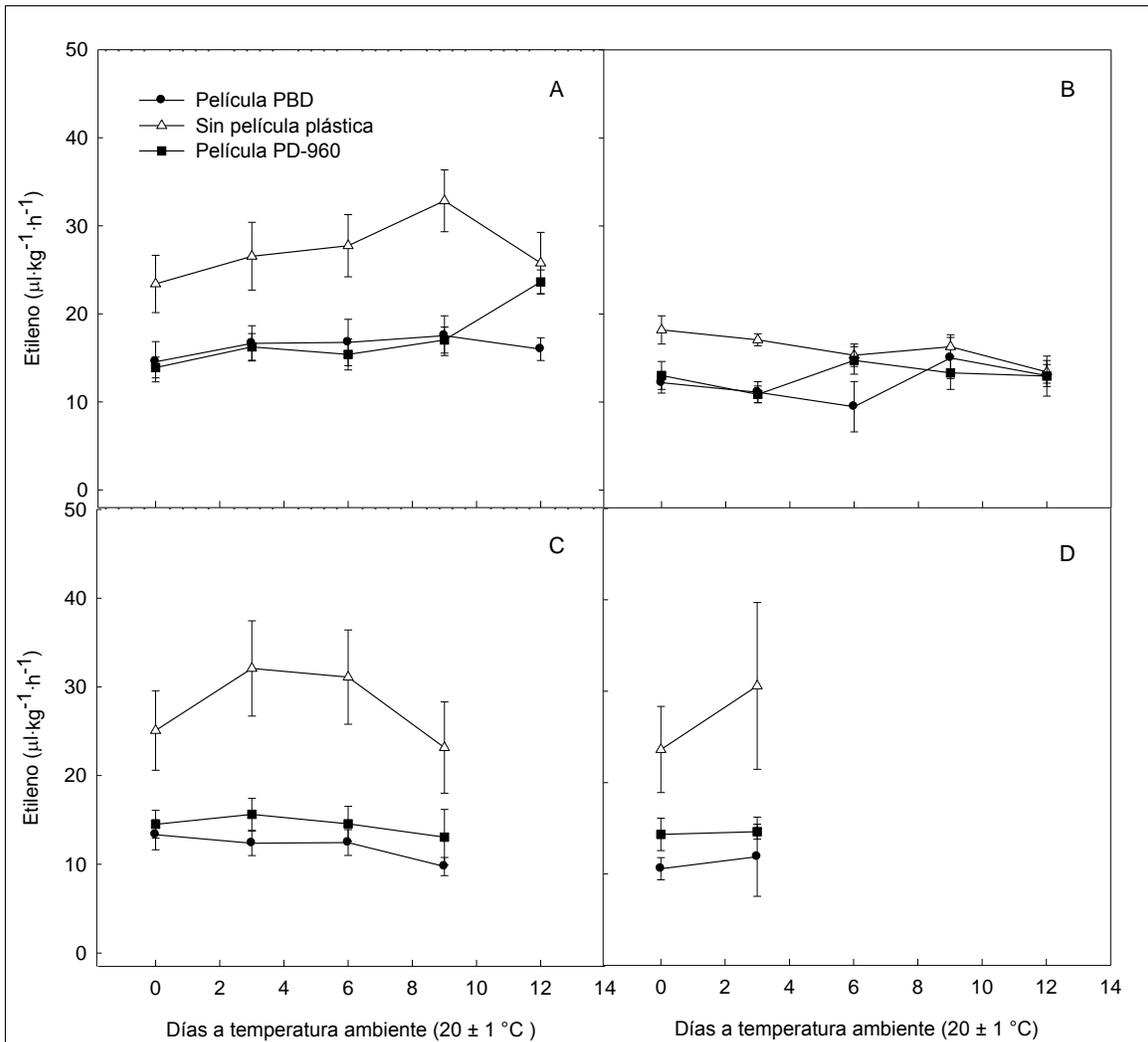


Figura 2. Producción de etileno de frutos pitahaya a 20 ± 1 °C después de 8 (A), 16 (B), 24 (C) y 32 (D) días de almacenamiento a 5 °C cubiertos con dos tipos de películas plásticas. Cada punto representa la media de cuatro observaciones \pm error estándar. PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película Cryovac.

Figure 2. Production of ethylene of pitahaya fruits at 20 ± 1 °C after 8 (A), 16 (B), 24 (C) y 32 (D) days of storage of 5 °C covered with two types of plastic films. Each point represents the mean of four observations \pm standard error. PBD: polyethylene of low density; PD-960: Cryovac film.

La actividad de la enzima polifenoloxidasas (PFO) durante el almacenamiento fue disminuyendo con respecto a la actividad inicial ($47.96 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso fresco), a partir del sexto día de almacenamiento a temperatura ambiente (Figura 3).

Varios autores (Alia-Tejagal *et al.*, 2005; Tian *et al.*, 2002; Cano *et al.*, 1995; Lung-Ming y Ming-Chang, 1990) han encontrado que la actividad de PFO al momento de la cosecha de los frutos es baja; a los cinco días después de la cosecha se incrementa para posteriormente disminuir. Generalmente, la mayoría de los frutos son

cosechados antes de que empiece su maduración por lo que el pico máximo de actividad enzimática se presenta cercano a la madurez del fruto. En este estudio se encontró que, al momento de la cosecha, la actividad de la PFO fue mayor y disminuyó considerablemente a los seis días después de cosecha. Esto puede deberse a que los frutos de pitahaya son cosechados en un estado avanzado de maduración.

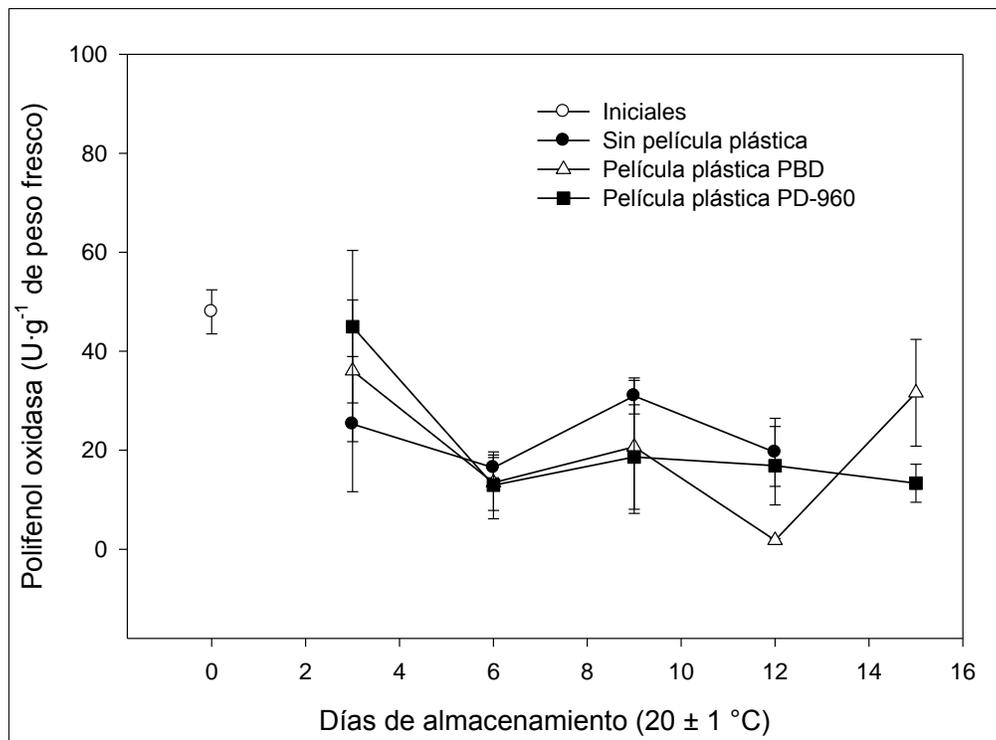


Figura 3. Actividad de polifenol oxidasa en frutos de pitahaya a 20 ± 1 °C durante 15 días cubiertos con dos tipos de películas plásticas. Cada punto representa la media de cuatro observaciones \pm error estándar. PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película Cryovac.

Figure 3. Polyphenol oxidase activity of pitahaya fruits at 20 ± 1 °C during 15 days covered with two types of plastic films. Each point represents the mean of four observations \pm standard error. PBD: polyethylene of low density; PD-960: Cryovac film.

El tiempo de almacenamiento en refrigeración no influyó significativamente ($P \leq 0.05$) sobre la actividad de PFO. Sin embargo, la actividad de la enzima si fue menor con respecto a los frutos sin refrigerar. A diferencia de los frutos almacenados a temperatura ambiente y sin película plástica que no mostraron diferencias ($P \leq 0.05$), los que estuvieron almacenados en refrigeración a 5 °C y sin película fueron significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) en la actividad enzimática de la PFO ya que tuvieron hasta tres veces mayor actividad (Cuadro 2).

En el presente estudio se encontró que la PFO disminuyó su actividad al almacenar los frutos a 5 °C. Además, al ser expuestos a temperatura ambiente, su actividad continuó siendo baja en los frutos con película plástica; mientras que en los frutos sin película, su actividad se incrementó significativamente ($P \leq 0.05$).

Mayer (1987) encontró que existe una forma latente de PFO que comúnmente se activa durante la maduración, senescencia o en condiciones de estrés en las que la membrana se daña y el resultado es el incremento de la actividad de PFO. Ello puede explicar que los frutos sin película plástica sufrieron daño en la membrana celular por el almacenamiento a 5 °C. Stewart *et al.* (2001) propusieron que el incremento de la actividad de PFO después de un tratamiento de bajas temperaturas está relacionado con una nueva síntesis de PFO.

Cuadro 2. Actividad de polifenoloxidasa ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso fresco) en frutos de pitahaya almacenados a 5 °C en cuatro diferentes fechas de evaluación con dos tipos de película plástica y posteriormente expuestos a temperatura ambiente hasta por 12 días.

Table 2. Polyphenol oxidase activity ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ of fresh weight) in pitahaya fruits stored at 5 °C in four different evaluation dates, covered with two plastic films, and after exposed to room temperature during 12 days.

Días en refrigeración (5 °C)	Días a 20±1 °C				
	0	3	6	9	12
8	20.05 a ^z	11.92 a	18.58 a	24.01 a	36.28 a
16	21.74 a	22.03 a	38.98 a	30.03 a	29.83 a
24	20.94 a	13.28 a	24.38 a	26.94 a	
32	20.46 a	23.23 a			
DMSH	19.25	11.58	25.17	18.77	19.21
CV (%)	88.76	63.05	90.99	68.64	67.75

Película plástica	Días a 20±1 °C				
	0	3	6	9	12
Testigo	29.28 a ^z	32.33 b	55.55 b	54.29 b	57.79 b
BD	16.20 a	5.71 a	8.81 a	16.61 a	22.04 a
PD-960	16.92 a	14.80 a	17.57 a	10.07 a	19.33 a
DMSH	15.97	9.61	25.17	18.77	28.58
CV (%)	88.76	63.05	90.99	68.64	67.75

^zValores con letras distintas dentro de columnas indican diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P\leq 0.05$.

PBD: Polietileno de Baja Densidad; PD-960: película Cryovac; DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta; CV: Coeficiente de Variación.

Las cubiertas semipermeables han demostrado que, por lo general, retardan la maduración de los frutos por la modificación de los niveles de CO_2 , O_2 y etileno. Zhang y Quantick (1997) encontraron que el uso de quitosan en litchi retrasó cambios fisiológicos, entre ellos la activación de la PFO; por ello, propusieron que la atmósfera modificada generaba una barrera protectora lo que reduce el suministro de oxígeno para la oxidación enzimática de fenoles. La PFO está relacionada con el oscurecimiento del tejido debido a la oxidación de compuestos fenólicos, como resultado de la pérdida de la compartimentalización entre las células cuando son expuestas a estrés físico y/o fisiológico, sin embargo, existen diferentes opiniones al respecto (Tian *et al.*, 2004).

Arellano-Gómez *et al.* (2005) encontraron una relación negativa entre la actividad de PFO y la concentración del ácido ascórbico. Así sugirieron que esta enzima no solo está involucrada en el oscurecimiento de los frutos sino que también interfiere en la calidad nutricional.

La POX es capaz de oxidar compuestos fenólicos y se relaciona con el deterioro de la fruta (Martínez-Téllez y LaFuente, 1997). La peroxidasa (POX) tuvo una actividad de incremento con respecto al dato inicial ($29.86 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso fresco). Hubo mayor actividad de POX en los frutos sin película plástica y fue significativa ($P\leq 0.05$) a partir del sexto día. La actividad fue hasta tres veces mayor en estos frutos. La actividad de POX fue igual ($P\leq 0.05$) con los dos tipos de película plástica (Figura 4). Zhang y Quantick (1997) encontraron que la actividad de POX disminuyó al utilizar una cubierta en frutos de litchi posiblemente por la reducción de suministro de oxígeno.

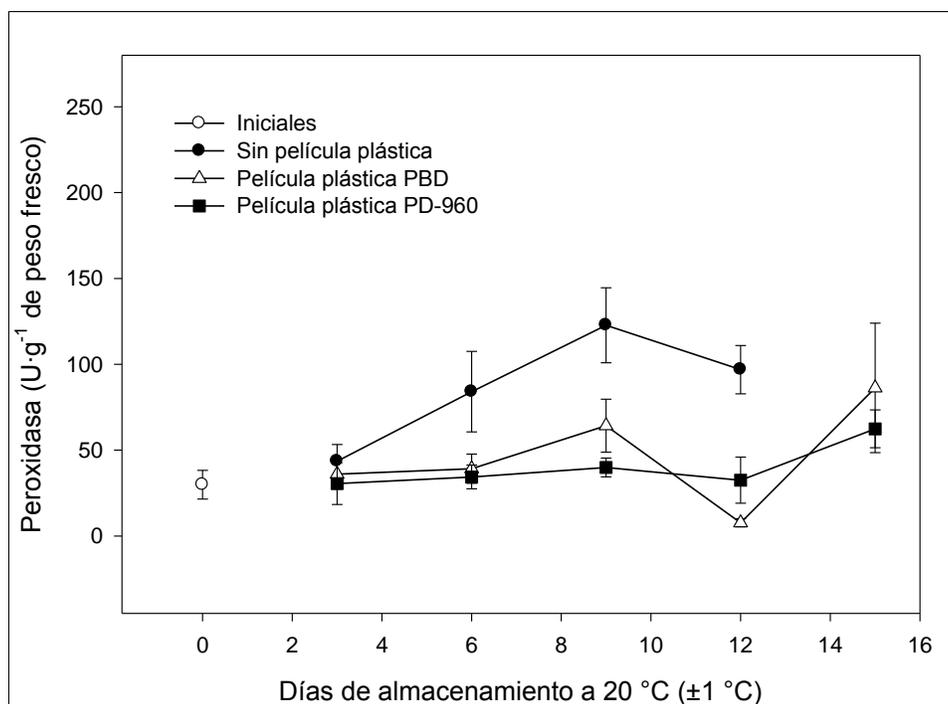


Figura 4. Actividad de peroxidasa en frutos de pitahaya a 20 ± 1 °C durante 15 días cubiertos con dos tipos de películas plásticas. Cada punto representa la media de cuatro observaciones \pm error estándar. PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película Cryovac.

Figure 4. Peroxidase activity of pitahaya fruits at 20 ± 1 °C during 15 days covered with two types of plastic films. Each point represents the mean of four observations \pm standard error. PBD: polyethylene of low density; PD-960: Cryovac film.

Cano *et al.* (1995) encontraron que los picos de máxima actividad de POX coincidían con los contenidos máximos de proteína lo cual concuerda con el presente estudio. La POX tuvo el mismo comportamiento que la PPO, no hubo diferencias significativas en cuanto a la duración en refrigeración. Sin embargo, la actividad de dicha enzima fue en aumento a mayor tiempo en refrigeración. La presencia de la película plástica marcó diferencias ($P \leq 0.05$) ya que en los frutos sin película la actividad enzimática fue cuatro veces mayor (Cuadro 3).

La actividad de POX en frutos almacenados en refrigeración fue en promedio 50% menor; entonces, las bajas temperaturas disminuyeron la actividad de esta enzima, pero al generarse daños por frío se puede observar un incremento en la actividad de POX (Campa, 1991; citado por Zhou *et al.*, 2003). En plátano se observó una disminución del 30% en fruta almacenada a 10 °C (Toraskar y Modi, 1984).

Tian *et al.* (2004) encontraron que las atmósferas modificadas ayudaron a disminuir la actividad de la POX, similar a lo ocurrido en el presente estudio. Lesiewska y Kmiecik (2000) mencionan que la POX está considerada como una de las principales enzimas que contribuyen al deterioro de algunos aspectos organolépticos y pérdida de nutrientes en tomate, por lo que es importante que la actividad de ésta enzima sea baja para conservar la fruta en buenas condiciones. Campa (1991), citado por Zhou *et al.* (2003), mencionó que el incremento en la actividad de POX ha sido observado después de exposiciones a ozono, contaminación, desórdenes nutricionales, golpes y daños por frío, por lo que se puede concluir que las películas plásticas protegen al fruto del frío cuando la actividad de POX es baja. Ketsa y Atantee (1998) encontraron que, en frutos de mangostán sin daños, la actividad de la peroxidasa no cambió ocurriendo lo contrario en frutos dañados, lo cual coincidió con el presente estudio. Por ello, se puede considerar que los frutos con película plástica fueron protegidos de daños por frío.

Cuadro 3. Actividad de peroxidasa ($U \cdot g^{-1}$ de peso fresco) en frutos de pitahaya almacenados a 5 °C en cuatro diferentes fechas de evaluación con dos tipos de película plástica y posteriormente expuestos a temperatura ambiente hasta por 12 días.

Table 3. Peroxidase activity ($U \cdot g^{-1}$ of fresh weight) in pitahaya fruits stored at 5 °C in four different evaluation dates, covered with two plastic films, and after exposed to room temperature for 12 days.

Días en refrigeración (5 °C)	Días a 20±1 °C				
	0	3	6	9	12
8	35.14 a ^z	48.65 a	58.61 a	74.08 a	62.41 a
16	48.34 a	39.47 a	46.46 a	39.55 a	63.99 a
24	53.10 a	84.79 b	73.51 a	78.45 a	
32	81.16 a	60.88 ab			
DMSH	50.38	34.22	33.38	40.77	20.92
CV (%)	88.73	56.14	55.36	62.86	38.60

Película plástica	Días a 20±1 °C				
	0	3	6	9	12
Testigo	86.87 b ^z	89.98 b	100.17 b	133.52 b	121.94 b
BD	22.91 a	35.86 a	32.56 a	27.27 a	33.83 a
PD-960	53.53 ab	49.50 a	45.85 a	31.29 a	33.83 a
DMSH	41.78	28.38	33.38	40.77	31.12
CV (%)	88.73	56.14	55.36	62.86	38.60

^zValores con letras distintas dentro de columnas indican diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película Cryovac; DMSH: diferencia mínima significativa honesta; CV: coeficiente de variación.

La actividad de POX puede estar relacionada con el estrés oxidativo en los tejidos de las plantas cuando existen condiciones de estrés y hay un incremento en la actividad de esta enzima. La POX puede actuar reduciendo el daño oxidativo en la fruta (Laminkara y Watson, 2001).

La actividad de catalasa (CAT) se incrementó con respecto a la inicial ($2.49 U \cdot g^{-1}$ de peso fresco) a partir del tercer día y continuó constante. Los frutos con película PBD fueron los que tuvieron menor actividad (Cuadro 4). A diferencia de peroxidasa no hubo diferencia ($P \leq 0.05$) entre tratamientos al estar almacenados a temperatura ambiente. La actividad máxima se tuvo al sexto día de almacenamiento la cual fue en promedio de $10.5 U \cdot g^{-1}$ de peso fresco para el testigo y el tratamiento con PD-960; mientras que en los frutos con película PBD fue de $8 U \cdot g^{-1}$ de peso fresco.

Las plantas tienen varios sistemas enzimáticos para protegerse del ataque de los radicales libres. La CAT ha sido de interés para su estudio debido a que es una enzima antioxidante que responde al estrés como las bajas temperaturas (Wang, 1995). La CAT usa peróxido de hidrógeno como donador de hidrógeno y como sustrato en la descomposición catalítica del peróxido de hidrógeno para formar oxígeno y agua (Burris (1960), citado por Wang, 1995).

Cuadro 4. Actividad de catalasa ($U \cdot g^{-1}$ de peso fresco) en frutos de pitahaya almacenados a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en cuatro diferentes fechas de evaluación con dos tipos de película plástica y posteriormente expuestos a temperatura ambiente hasta por 12 días.

Table 4. Catalase activity ($U \cdot g^{-1}$ of fresh weight) in pitahaya fruits stores at $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ in four different evaluation dates, covered with two plastic films, and after exposed to room temperature for 12 days.

Película plástica	Días				
	0	3	6	9	12
Testigo	6.97 a ^z	8.85 a	10.43 a	8.45 a	
BD	5.39 a	6.61 a	7.94 a	5.85 a	8.8 a
PD-960	8.90 a	6.11 a	10.58 a	6.51 a	6.41 a
DMSH	3.79	4.64	5.44	3.51	3.59
CV (%)	27.07	32.65	28.56	25.61	27.24

^zValores con letras distintas dentro de columnas indican diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

PBD: Polietileno de Baja Densidad; PD-60: Película Cryovac; DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta; CV: Coeficiente de Variación.

En el presente estudio se encontró que a mayor tiempo de almacenamiento a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ fue menor la actividad de CAT existiendo diferencias ($P \leq 0.05$) entre todos los tratamientos al momento de sacar los frutos de refrigeración. A los tres días de exposición a temperatura ambiente siguieron existiendo diferencias ($P \leq 0.05$), presentando menor actividad los frutos con 32 días de almacenamiento en frío (Figura 5).

Notablemente, una tendencia a incrementar la actividad durante el tiempo de exposición a temperatura ambiente fue apreciada. Ello contrasta lo encontrado por Alia-Tejacal (2005) en zapote, en cuyo caso, la actividad de la catalasa después de la refrigeración disminuyó con respecto a la actividad que tuvieron los frutos sin refrigeración. En manzana, a mayor actividad de CAT al momento de la cosecha hubo mayor éxito en el almacenamiento en frío (Masia, 1998). El comportamiento de la actividad de la CAT después del almacenamiento en frío dependerá del tiempo que esté almacenada la fruta y la temperatura (Lisiewska y Kmiecik, 2000). En mandarina, la CAT opera como un mecanismo de defensa en contra del estrés causado por temperatura baja (Salas y Lafuente, 2000); al igual que la POX, la CAT está considerada como un mecanismo de defensa causado ante el estrés oxidativo, pues hay mayor actividad de CAT en frutos tolerantes al frío (Sala, 1998). A temperaturas de congelamiento, la actividad de la CAT se afecta mientras que en los casos de la POX y PFO ello no ocurre (Gong *et al.*, 2000).

Entre el tipo de películas usadas hubo diferencias no significativas ($P \leq 0.05$); sin embargo, si las hubo con el testigo. El testigo fue el que mostró mayor actividad de CAT como efecto significativo a partir de los tres días a exposición a temperatura ambiente, hasta 55 % mayor que en los frutos con película plástica (Figura 6). Esto se puede deber a lo explicado anteriormente para PFO y POX; i.e., el frío daña las membranas celulares y hubo mayor cantidad de radicales libres, por lo que hay mayor actividad de CAT. El comportamiento de la actividad de CAT (Figura 4) está muy relacionado con el de la proteína soluble (Figura 1).

En el presente estudio, la actividad de la pectinmetilesterasa (PME) al momento de la cosecha fue de $91\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de metoxilo en peso fresco y al tercer día de almacenamiento disminuyó $50\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de metoxilo en peso fresco; posteriormente tuvo cambios durante el almacenamiento. En aguacate, Awad y Young (1980) encontraron que la actividad de PME al momento de la cosecha es alta pero disminuyó conforme avanzó la maduración. En este estudio, la actividad de PME fue mayor en los frutos con película plástica PD-960, la mayor actividad se presentó a los 9 días después de la cosecha ($120\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de metoxilo en peso fresco) y luego la actividad bajó considerablemente. El comportamiento de la PME fue similar en los frutos testigo y la película PBD; pero contrario a lo sucedido con la película PD-960, pues la menor actividad la presentó 9 días después de la cosecha, a los 12 días se incrementó y finalmente a los 15 disminuyó, siendo una actividad similar para los frutos con los dos tipos de película ($60\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de metoxilo en peso fresco). Los frutos con menor fluctuación en la actividad

fue el testigo (Figura 4). En aguacate La actividad de la PME, con relación a la maduración de diferentes frutos, presentó un incremento, decremento o se mantuvo sin cambio; antes del punto climatérico la actividad fue muy alta, pero después de este periodo la actividad disminuyó considerablemente especialmente durante la etapa de maduración (Awad y Young, 1979).

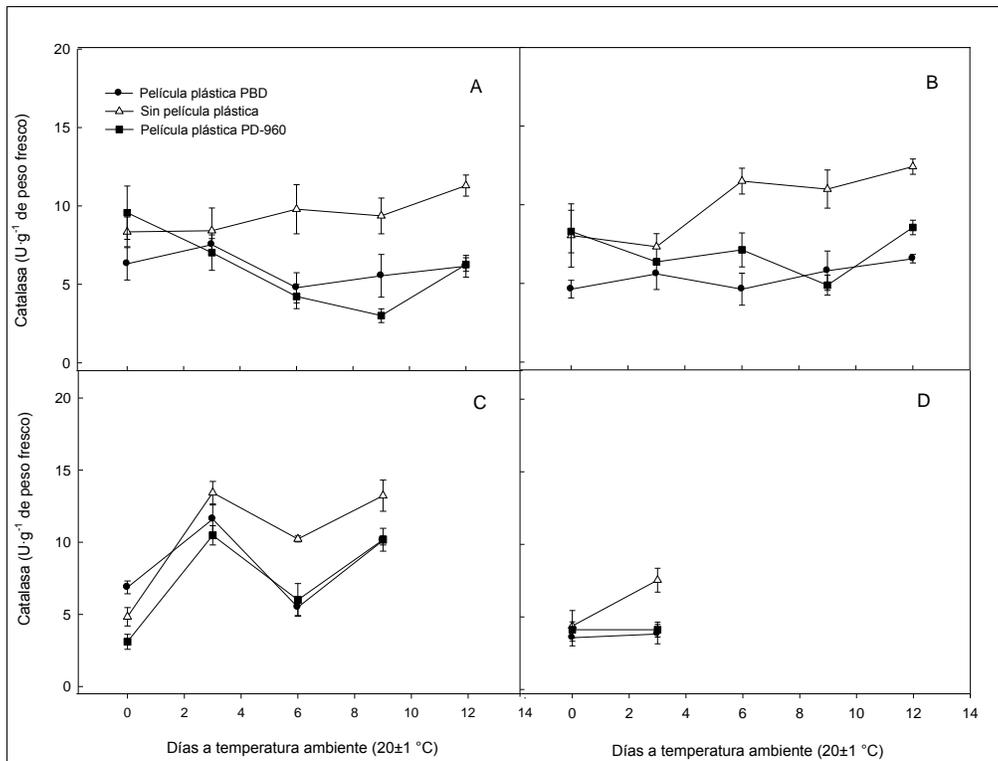


Figura 5. Actividad de catalasa en frutos pitahaya almacenados a 20 ± 1 °C después de 8 (A), 16 (B), 24 (C) y 32 (D) días de almacenamiento a 5 °C cubiertos con dos tipos de películas plásticas. Cada punto representa la media de cuatro observaciones \pm error estándar. PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película Cryovac.

Figure 5. Catalase activity in pitahaya fruits at 20 ± 1 °C after 8 (A), 16 (B), 24 (C) y 32 (D) days of storage of 5 °C covered with two types of plastic films. Each point represents the mean of four observations \pm standard error. PBD: polyethylene of low density; PD-960: Cryovac film.

Los días de refrigeración influyeron significativamente ($P \leq 0.05$) sobre la actividad de PME, teniendo mayor actividad en los frutos con 32 días de refrigeración. También se observó una relación de mayor número de días en refrigeración a mayor actividad de PME durante el tiempo de exposición a temperatura ambiente (Cuadro 5).

En aguacate, la PME responde a la temperatura como una enzima soluble típica y no es sensible al etileno (Awad y Young, 1980). Sin embargo, Arellano-Gómez *et al.* (2005) encontraron una relación positiva entre la PME y el etileno en zapote negro, pero en el presente estudio no se observó dicha relación por lo que se puede deducir que la PME de la pitahaya puede ser insensible al etileno.

El tipo de película influyó significativamente ($P \leq 0.05$) sobre la actividad de la PME. Los frutos con película PD-960 fueron los que mostraron, en general, mayor actividad, con nivel significativo ($P \leq 0.05$) al tercero, sexto y noveno días con 72.93, 80.20 y 81.25 $U \cdot g^{-1}$ de peso fresco, respectivamente (Cuadro 5). Lazan *et al.* (1993) encontraron que las atmósferas modificadas retardan el incremento inicial de la actividad de PME durante la maduración. Sin embargo, en el presente estudio no se observó dicha relación. Existen diferentes evidencias de cuando se presenta la mayor actividad de PME en la fruta. En pera, aguacate y mango corresponde al estado

inmaduro del fruto y, por otro lado, la máxima actividad se encuentra durante el ablandamiento en cereza, jitomate y mango africano (Assis *et al.*, 2001). Entonces, en pitahaya la máxima actividad de PME se encuentra en la maduración total del fruto, ya que a 24 y 32 días de cosechado se presentó la mayor actividad. La PME se relaciona con algunos cambios en la textura de frutos durante la maduración, pero en este estudio no se observó que existiera una relación entre firmeza y PME, lo cual coincide con lo encontrado por Arellano-Gómez (2005) en frutos de zapote negro, lo cual pueda deberse a que se cree que la principal función de la PME es preparar el sustrato para la hidrólisis por poligalacturonasa (PG), ya que la pectina debe tener una desmetilización parcial antes de que la PG pueda llevar a cabo una hidrólisis significativa (Awad y Young, 1979). La PG y celulasa son enzimas que se han relacionado con el decremento de la firmeza de la chirimoya (Sánchez *et al.*, 1998). En jitomate se observó que la PME controla el metabolismo del metanol y que, a su vez, éste regula el metabolismo del etanol durante la maduración de los frutos (Frenkel *et al.*, 1998).

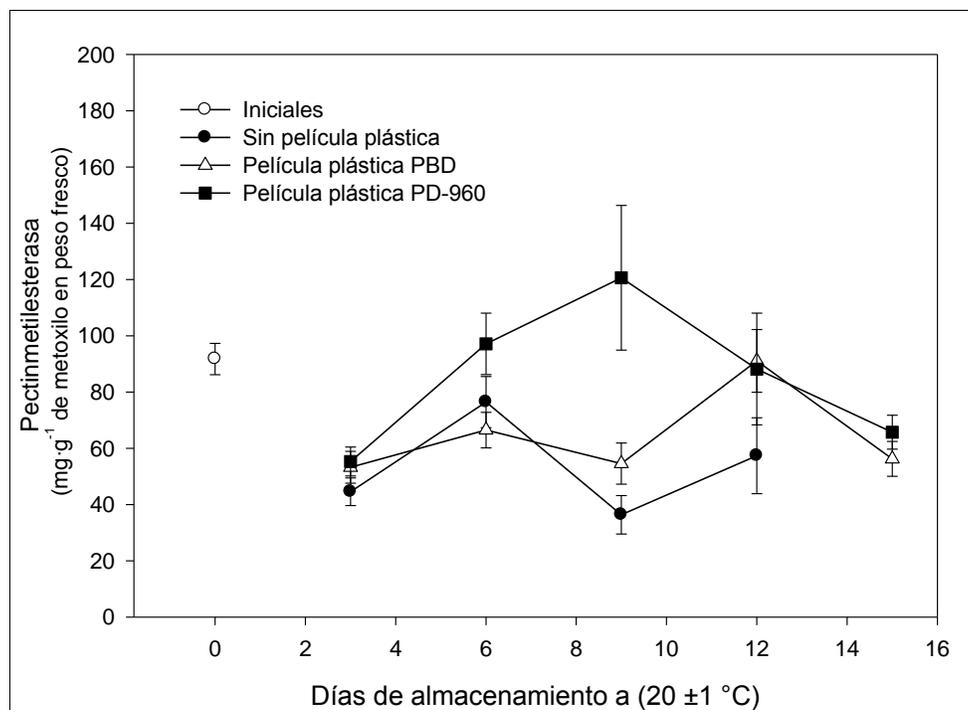


Figura 6. Actividad de peroxidasa en frutos de pitahaya almacenados a 20 ± 1 °C durante 15 días cubiertos con dos tipos de películas plásticas. Cada punto representa la media de cuatro observaciones \pm error estándar. PBD: polietileno de baja densidad; PD-960: película Cryovac.

Figure 6. Peroxidase activity of pitahaya fruits at 20 ± 1 °C during 15 days covered with two types of plastic films. Each point represents the mean of four observations \pm standard error. PBD: polyethylene of low density; PD-960: Cryovac film.

Conclusiones

Durante el almacenamiento de los frutos a temperatura ambiente, el uso de las películas plásticas no influyó sobre la actividad de la PFO y CAT, pero la de POX disminuyó por efecto de las películas y la PME incrementó su actividad con la película PD-960.

La actividad de POX, PPO y CAT, durante un periodo de almacenamiento en frío, se mantuvo baja en los frutos con película plástica, la de PME fue similar en los tres tratamientos.

La actividad de las enzimas PPO, POX y CAT en los frutos sin película, después del almacenamiento en frío, se incrementó en un 90, 26 y 37 %, respectivamente, con respecto a cuando los frutos permanecieron a temperatura ambiente.

Cuadro 5. Actividad de pectinmetilesterasa (mg g^{-1} de metoxilo en peso fresco) en frutos de pitahaya almacenados a 5 °C en cuatro diferentes fechas de evaluación con dos tipos de película plástica y posteriormente expuestos a temperatura ambiente hasta por 12 días.

Table 5. Pectinmethylesterase activity ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ of fresh weight) in pitahaya fruits stores at 5 °C in four different evaluation dates, covered with two plastic films, and after exposed to room temperature for 12 days.

Días en refrigeración (5 °C)	Días a 20 ± 1 °C				
	0	3	6	9	12
8	66.52b c ^z	67.38 ab	56.15 a	57.07 a	48.66 a
16	54.99 a	58.36 a	63.74 a	64.93 ab	67.72 b
24	62.24 ab	54.84 a	81.54 b	73.60 b	
32	74.26 c	74.84 b			
DMSH	10.43	16.39	16.03	15.04	12.21
CV (%)	15.51	24.61	23.57	22.77	24.47

Película plástica	Días a 20±1 °C				
	0	3	6	9	12
Testigo	70.01 b	59.86 ab	60.52 a	62.24 a	60.52 ab
BD	57.61 a	58.78 a	60.71 a	52.11 a	67.24 b
PD-960	65.88 ab	72.93 b	80.20 b	81.25 b	46.82 a
DMSH	8.65	13.59	16.03	15.04	18.17
CV (%)	15.51	24.61	23.57	22.77	24.47

^zValores con letras distintas dentro de columnas indican diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P\leq 0.05$.

PBD: Polietileno de Baja Densidad; PD-960: Película Cryovac; DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta; CV: Coeficiente de Variación.

References

- Alia-Tejagal, I., Colinas-León, M.T., Martínez-Damián, M.T. y Soto-Hernández, R.M. 2002. Factores fisiológicos, bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) en postcosecha. Rev. Chapingo. Serie Hort. 8: 263-281.
- Alia-Tejagal, I., Colinas-León, M.T., Martínez-Damián, M.T., y Soto-Hernández, R.M. 2005. Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). II. Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. Rev. Fit. Mex. 28: 25-32.
- Areas, J. A., García, E., and Lajolo, F.M. 1988. Effect of protein synthesis inhibitors on the climateric of banana (*Musa acuminata*). J. Food Biochem. 12: 51-60.
- Arellano-Gómez, L. A., Saucedo-Veloz, C., y Arévalo-Galarza, L. 2005. Cambios bioquímicos y fisiológicos durante la maduración de frutos de zapote negro (*Diospyros digyna* Jacq.). Agrociencia 39: 173-181.

- Assis, S.A., Lima, D. C., y Faria-Oliviera, O. 2001. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. *Food Chem.* 74: 13-137.
- Awad, M., and Young, R.E. 1979. Postharvest variation in cellulose, polygalacturonase, and pectinmethylesterase in avocado. (*Persea americana* Mill. cv. Fuerte) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiol.* 64: 306-308.
- Awad, M., and Young, R. E. 1980. Avocado pectinmethylesterase activity in relation to temperature, ethylene and ripening. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105: 638-641.
- Blackwell, R. D., Murray, A. J. S., and Lea, P. J. 1990. Enzymes of Photorespiratory Carbon Pathway. *In: Lea, P.J. (ed.). Methods in Plant Biochemistry.* Ed. Academic Press. USA. pp. 129-144.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Cano, P.A., Ancos, B., and Lobo, G. 1995. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in papaya during postharvest ripening and after freezing/thawing. *J. Food Sci.* 60: 815-817.
- Frenkel, C., Peters, J. S., Tieman, D. M., Tiznado, M. E., and Avtar, H. K. 1998. Pectin methylesterase regulates methanol and ethanol accumulation in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruit. *J. Biol. Chem.* 273: 4293-4295.
- Flurkey, W.H., and Jen, J.J. 1978. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.* 43(5): 1828-1831.
- Gong, Y., Toivonen, P. M. A., Wiersma, P. A., and Lu, C. 2000. Effect of freezing on the activity of catalasa in apple flesh tissue. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5537-5542.
- Karakurt, Y., and Huber, D. J. 2002. Cell wall-degrading enzymes and pectin solubility and depolymerization in immature and ripe watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit in response to exogenous ethylene. *Physiol. Plant.* 116: 398-405.
- Ketsa, S., and Atantee, S. 1998. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. *Postharvest Biol. Technol.* 14: 117-124.
- Lamikanra, O. 1995. Enzymatic browning of Muscadine grapes products, pp. 166-177. *In: Lee, C.L., and Whitaker J.R. (eds.). Enzymatic Browning and its Preventions.* Ed. ACS. Washington, D.C., USA.
- Laminkara, O., and Watson, M.A. 2001. Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. *J. Food Sci.* 66: 1283-1286.
- Lazan, H., Alid, Z. M., and Selamat, M. K. 1993. The underlying biochemistry of the effect of modified atmosphere and storage temperature on firmness decrease in papaya. *Acta Hort.* 343: 141-147.
- Lisiewska, Z., and Kmiecik, W. 2000. Effect of storage period and temperature on the chemical composition and organoleptic quality of frozen tomato cubes. *Food Chem.* 70: 167-173.
- Lung-Ming, T., and Ming-Chang, W. 1990. Studies on the physio-chemical properties of postharvest sugar apple. *Acta Hort.* 269: 241-246.

- Martínez-Téllez, M.A., and Lafuente, M. T. 1997. Effect of high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled 'Fortune' mandarin fruit. *J. Plant Physiol.* 150: 674- 678.
- Masia, A. 1998. Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and with special reference to ethylene. *Physiol. Plant.* 104: 668-672.
- Mayer, A.M. 1987. Polyphenol oxidase and peroxidase in plants- recent progress. *Phytochemistry* 26:11-20.
- Prasad, T.K. 1997. Role of catalase in inducing chilling tolerance in preemergent maize seedlings. *Plant Physiol.* 114: 1369-1376.
- Ranngana, S. 1979. *Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products*. McGraw Hill Publishing Company Limited. New Delhi, India. pp. 1-20.
- Remon, S., Ferrer, A., Marquina, P., Burgos, J., and Oria, R. 2000. Use of modified atmospheres to prolong the postharvest life of Bulat cherries at two different degrees of ripeness. *J. Sci. Food Agri.* 80: 1545-1552.
- Sala, J. M. 1998. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. *Postharvest Biol. Technol.* 13: 255-261.
- Salas, J.M., and Lafuente, M.T. 2000. Catalase enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruits to chilling. *Postharvest Biol. Technol.* 20: 81-89.
- Sanchez, J.A., Zamorano, J. P., and Alique, R. 1998. Polygalacturonase, cellulase and invertase activities during cerimoya fruit ripening. *J. Hort. Sci.* 73: 87-92.
- Sanz, C. 2005. Postharvest management beyond quality maintenance. *Acta Hort.* 682: 427-435.
- Zhang, D., and Quantick, P. C. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 12: 195-202.
- Stewart, R.J., Sawyer, B.J.B., Bucheli, C.S., and Robinson, S.P. 2001. Polyphenol oxides is induced by chilling and wounding in pineapple. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 181-191.
- Tian, S.P., Xu, Y., Gong, Q.Q., Jiang, A.L., Wang, Y., and Fan, Q. 2002. Effects of controlled atmospheres on physiological properties and storability of longan fruit. *Acta Hort.* 575: 659-665.
- Tian, S. P., Jiang, A. L., Xu, Y., and Wang, Y. S. 2004. Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage. *Food Chem.* 87: 43-49.
- Tijsskens, L.M.M., Rodis, P.S., Hertog, M.L.A.T.M., Perxenias, N., and Dijk, C. 1999. Activity of pectin methyl esterase during blanching of peaches. *J. Food Eng.* 39:167-177.
- Toraskar, M.V., and Modi, V.V. 1984. Peroxidase and chilling injury in banana fruit. *J. Agric. Food Chem.* 32: 1352-1354.
- Wakabayashi, K., Chun, J.P., and Huber, D.J. 2000. Extensive solubilization and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*Persea americana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase. *Physiol. Plant.* 108: 345-352.

Wang, C.Y. 1982. Physiological and biochemical responses of plants to chilling injury. *HortScience* 17: 173-186.

Wang, C.Y. 1995. Effect of temperature preconditioning on catalasa, peroxidasa, and superoxide desmutase in chilled zucchini squash. *Postharvest Biol. Technol.* 5: 67-76.

Wise, R.R., and Naylor, A.W. 1987. Chilling-enhanced photooxidation. The peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure. *Plant Physiol.* 83: 272-277.

Zhou, Y., Dahler, J.M., Underhill, S.J.R., and Wills, R.B.H. 2003. Enzymes associated with blackhart development in pineapple fruit. *Food Chem.* 80: 565-572.