La disminución de antocianinas no explica la reversión de color en zarzamora

Ángel R. Flores Sosa[a], Diana Soto Magaña[a], Luis E. González de la Vara[b], Lino Sánchez Segura[c],Moustapha Bah[d], Dulce M. Rivera Pastrana[a], Gerardo
M. Nava[a], Edmundo M. Mercado Silva[a,*]

[a]Departamento de Investigación y Posgrado deAlimentos, Facultad de Química, UniversidadAutónoma de Querétaro, Centro Universitario S/N, Cerro de las Campanas, C.P. 76010, Querétaro, México.
[b]Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Unidad Irapuato, CINVESTAV-Irapuato,Libramiento Norte Carr, Irapuato-León Km 96, Irapuato, Guanajuato, México.
[c]Departamento de Ingeniería Genética, Unidad Irapuato, CINVESTAV-Irapuato, Libramiento NorteCarr, Irapuato-León Km 96, Irapuato, Guanajuato, México.
[d]Posgrado en Ciencias Químico Biológicas, Facultadde Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario S/N, Cerro de las Campanas,
C.P. 76010, Querétaro, México.
*Autor de correspondencia: mercado501120@gmail.com

Resumen

La reversión de color (RC) en zarzamora es un desorden fisiológico en el cual las drupas del fruto cambian de color negro a rojo. El mecanismo por el cual se genera este cambio de color se desconoce; sinembargo, su presencia se ha asociado con la vibración(10 Hz y aceleración de 0.5 *g*) que ocurre durante el transporte y con una disminución en el contenido de antocianinas (56–63 %). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue establecer un modelo de vibración para evaluar la relación entre el contenido de antocianinas y la RC. Las cajas de zarzamora *cv.* APF-122 (170 g) se sometieron a una vibración (10 Hz y aceleración de 0.5 g) durante 1, 3 y 5 min para inducirla RC. El color y el contenido de antocianinas se evaluó a las 0, 24, 48, 72, 96 y 120 h del almacenamiento a 1°C. La RC se observóinmediatamente después de someter los frutos a 5 minde vibración; no obstante, no se observaron cambios en el contenido de antocianinas en las primeras 72 h de almacenamiento. Se observó que, en los frutos conRC, se presenta ruptura de aglomerados de antocianinas y disminución de la intensidad de fluorescencia, lo cual sugiere pérdida de interacciones intermoleculares. Los datos obtenidos demostraron que la disminución del contenido de antocianinas no explica la RC, pero el cambio de color podría explicarse por la pérdida de integridad de los aglomerados de antocianinas y nuevas interacciones intermoleculares.

Palabras clave: reversión de color, fruto de zarzamora, contenido de antocianinas, aglomerado de antocianinas

Abstract

Color reversion (CR) in blackberry is a physiological disorder in which the fruit drupes change from black to red. The mechanism by which this color change is generated is unknown; however, its presence has been associated with the vibration (10 Hz and 0.5 g acceleration) that occurs during transport and with a decrease in anthocyanin content (56-63 %). Therefore, the objective of this study was to establish a vibration model to evaluate the relationship between anthocyanin content and CR. Blackberry boxes cv. APF-122 (170 g) were subjected to vibration (10 Hz and 0.5 g acceleration) for 1, 3 and 5 min to induce CR. Color and anthocyanin content were evaluated at 0, 24, 48, 48, 72, 96 and 120 h after storage at 1°C. CR was observed immediately after subjecting the fruits to 5 min of vibration; however, no changes in anthocyanin content were observed in the first 72 h of storage. It was observed that, in fruits with CR, there was a breakdown of anthocyanin agglomerates and a decrease in fluorescence intensity, suggesting a loss of intermolecular interactions. The data obtained showed that the decrease in anthocyanin content does not explain CR, but the color change could be explained by the loss of integrity of anthocyanin agglomerates and new intermolecular interactions.

Keywords: Color Reversion, blackberry fruit, anthocyanin content, anthocyanin agglomerates

Introducción

La zarzamora es un fruto agregado conformado de numerosas drupas unidas a un receptáculo. Durante elproceso de maduración en la planta, la zarzamora cambia gradualmente de color: de verde a rojo yfinalmente a negro. La cosecha de la zarzamora se realiza cuando sus drupas son completamente negras, pero en el proceso de transporte y almacenamiento, algunas drupas cambian a color rojo; este fenómeno se conoce como reversión de color (RC) (Edgley, Close, Measham, & Nichols, 2019) y su presencia provoca el rechazo del fruto en los mercados de exportación (Edgley, Close & Measham, 2020).

El mecanismo químico o bioquímico que genera el cambio de color característico de la RC se desconoce; pero algunos estudios han sugerido que la disminución en el contenido de antocianinas podría relacionarse con la presencia de este fenómeno (Edgley et al., 2020; Edgley et al., 2019; Kim et al., 2019); por ejemplo, en la RC inducida por el almacenamiento a baja temperatura por 1 o 7 días, se ha reportado reducción entre el 50 y 60 % del contenido de antocianinas en variedades Apache, Ouachita, y Triple Crown (Edgley et al., 2019; Kim et al., 2019). También, se ha sugerido que esta disminución de antocianinas podría generarse por el daño mecánico que se presenta durante el transporte (Edgley et al., 2020; Pérez Pérez et al., 2016).

La vibración es considerada una de las causas de daño mecánico más importantes que se genera durante el transporte (Fernando, Fei & Stanley, 2019) y se ha asociado con la presencia de RC en zarzamora (Gil &Beaudry, 2020). Recientemente se ha reportado que los niveles de vibración (10 Hz y aceleración de 0.5 *g*) alcanzados durante la comercialización de la fruta podrían inducir daño mecánico y RC en zarzamora *cv.* Tupi (Pérez Pérez et al., 2016). Estos estudios soportan la hipótesis que la RC podría estar relacionada con el daño de la fruta y cambios en el contenido de antocianinas. Con base en lo anterior, elobjetivo de este estudio fue establecer un modelo de vibración para evaluar la relación entre el contenido de antocianinas y la RC.

Metodología

Material biológico

Los frutos de zarzamora (*Rubus* spp. *cv* APF-122) fueron obtenidos de un empaque comercial ubicado en Guanajuato, México (20°40'18" N, 101°20'48" O). Frutos completamente maduros de color negrobrillante fueron transportados al laboratorio defisiología y bioquímica poscosecha de la UAQ. Se seleccionaron aquellos que no presentaban defectos visuales y se almacenaron a 1 °C y 95 % de humedadrelativa por 24 h.

Modelo de laboratorio para inducir la RC

Las cajas de zarzamora se colocaron un sistema simulador de vibración integrado por un módulo generador de señal DDS, un osciloscopio DS0138 y un materializador de señal (Subwoofer, POWER12). La vibración se realizó a una frecuencia entre 10 y 15 Hz con una aceleración de 0.5 *g*, niveles alcanzados durante el transporte comercial (Pérez Pérez et al., 2016). En la identificación del tiempo mínimo para inducirla RC, las cajas de 170 g de zarzamora se vibraron por 0,1, 3, y 5 min. Dicho estudio se realizó por triplicado. Después de la vibración, los frutos fueron fotografiados y se realizaron mediciones de color.

Relación entre RC y contenido de antocianinas

Las cajas de zarzamora de 170 g de la variedad APF-122 fueron sometidas a dos tratamientos: fruta revertida (5min de vibración con frecuencia de 10 a 15 Hz y aceleración de 0.5 *g*) y fruta no revertida (0 min de vibración). Como se mencionó arriba, este experimento se realizó por triplicado.Las cajas se almacenaron por 0, 24, 48, 72, 96, y 120h a 1 °C y 95 % de humedad relativa. Las muestras fueron fotografiadas y se midió su color; después delalmacenamiento, se separaron

las drupas con y sin reversión de color, se y conservaron a -80 °C hasta su análisis de antocianinas.

Análisis de color

El color (L*, a*, b*) se midió en la zona ecuatorial del fruto utilizando un colorímetro CM-600D (Konica Minolta, Japón) con un iluminante D65 y ángulo de observación de 10°. Los valores de cromaticidad (C*) y ángulo de matiz (hue°) fueron estimados de acuerdo conlo reportado (McGuire, 1992).

Análisis del contenido de antocianinas

Se obtuvo un extracto de antocianinas a partir de 3 g de drupas y 25 mL de una mezcla de solventes [metanol, agua, y ácido fórmico (80:19.9:0.1)]. La muestra se homogenizó (T-25, IKA, Alemania) y posteriormente se centrifugó (13,500 rpm) durante 15min a 4 °C; el sobrenadante se filtró (Whatman no. 4) y se analizó el contenido de antocianinas monoméricas por espectrofotometría y por HPLC.

Antocianinas monoméricas

Quinientos microlitros del extracto de antocianinas se diluyeron en 2 mL de solución amortiguadora decloruro de potasio (0.025 M, pH 1.0) y de acetato de sodio (0.4 M, pH 4.5). Para cada solución se determinó el espectro de absorción de 400 a 700 nm en un espectrofotómetro (Lambda 365, Perkin Elmer,Inc., EUA). El contenido de antocianinas monoméricas (AM) se estimó con la siguiente ecuación:

$$MA = \frac{A * MW * DF * 1000}{\varepsilon * 1}$$

Donde *MA* es el contenido de antocianinas monoméricas; $A = (A_{\lambda vismax}-A_{700})_{pH1.0} - (A_{\lambda vismax}-A_{700})_{pH4.5}$; *MW* es el peso molecular de la cianidin-3-glucósido (449.2 g mol^{-1}); ε es el coeficiente de absortividad molar de la cianidin-3-glucósido (26,900L cm^{-1} mol^{-1}); *DF* es el factor de dilución, y 1 es el grosor de la celda (1 cm). Los resultados se expresaron como equivalentes de cianidin-3-glucósido en mg g^{-1} de muestra (Giusti & Wrolstad, 2001).

congelaron en nitrógeno líquido

Perfil de antocianinas por HPLC

El análisis de antocianinas por HPLC se realizó en unequipo Waters (Waters, EUA) compuesto de una bomba cuaternaria (modelo Alliance e2695) y un detector PDA (modelo 2998). Se inyectó treinta microlitros del extracto de antocianinas en la bomba y, en cuanto a la separación de los compuestos, se realizó con una columna symmetry C-18 (5 µm, 150 mm x 4.6 mm), la cual se mantuvo a una temperatura de 35 °C. La fase móvil consistió en un solvente A [agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v)] y un solvente B (acetonitrilo)con flujo de 0.5 mL min^{-1}. El gradiente usado fue: 0 min, 5% B; 0 a 20 min, 20% B; 20 a 25 min, 40% B; y 25 a 30 min, 5% B (Yang, Ou, Zhang, Zhou, & Ma,2017). La detección de antocianinas se realizó a 520 nm, y se hizo la identificación con base en la comparación del tiempo de retención y espectro de absorción UV-VIS de un estándar de cianidin-3- glucósido (Sigma Aldrich). La cuantificación de antocianinas se realizó con una curva estándar de cianidin-3-glucósido (de 0.006 a 0.10 mg mL^{-1}); las antocianinas no identificadas se cuantificaron como equivalentes de cianidin-3-glucósido (Garcıia- Viguera, Zafrilla & Tomás Barberán, 1997).

Observaciones en microscopio

Para evaluar la distribución de las antocianinas dentro de las drupas, se realizó un análisis histológico. Las muestras de piel de drupas fueron cortadas de forma manual con una navaja de doble filo. El tejido se colocó en un portaobjetos (25 x 75 mm) y se protegió con un cubreobjetos (20 x 40 mm).

Las observaciones se realizaron con un microscopio compuesto (Olympus BX43, Tokio, Japón)

equipado con una cámara digital (Olympus, EUA). Para la observación de la fluorescencia de las antocianinas, los frutos fueron fijados con *p*-formaldehído al 4 % (Electron Microscopy Sciences, EUA) disuelto en una solución amortiguadora de fosfatos (0.16 M, pH = 7.2). Se colocó los tejidos en un portaobjetos y cubiertos con un cubreobjetos (D = 0.17 mm ± 0.005 mm, índice de refracción = 1.5255 ± 0.0015, Abbe número = 56 ± 2). La detección de antocianinas se realizó con un microscopio multifotónico (LSM 880-NLO, Zeiss,Alemania) acoplado a un láser Ti: Zafiro (Chameleon Vision II, COHERENT, EUA). Los análisis fueron realizados con un objetivo de inmersión (40X/1.3, NAα–0.17, Zeiss Plan NEOFLUAR) y el espectro de fluorescencia fue determinado con el láser sintonizado a 710 nm con 1.2% de poder.

Análisis estadístico

Fueron realizadas tres bases de datos, parámetros de color, contenido de antocianinas y emisión de fluorescencia, con sus respectivas repeticiones para cada tratamiento. Para evaluar el efecto del tiempo de vibración en los parámetros de color, se realizó un análisis ANOVA de una vía y, en las variables de respuesta donde se encontró diferencia significativa, se realizó una prueba de Tukey. Para comparar el contenido y emisión de fluorescencia de las antocianinas de los frutos revertidos y no revertidos, se hizo una prueba *t* de Student. El nivel de significancia se estableció a $p \leq 0.05$. Ambos procedimientos fueron analizados con el software JMP 6 (SAS Institute Inc., USA).

Resultados

Modelo para generar RC

Para identificar el tiempo mínimo de vibración al que se deben someter los frutos de zarzamora para inducir la RC, las cajas de zarzamora fueron vibradas durante 0, 1, 3 y 5 min. La inspección visual reveló que la fruta de zarzamora vibrada por 0 y 1 min no mostró signos de RC; las muestras vibradas por 3 min presentaron algunas drupas con coloración roja, y todos los frutos sometidos a 5 min de vibración mostraron un cambio de color característico de la RC (ver Figura 1).

Figura 1. La vibración (frecuencia entre 10 y 15 Hz, aceleración de 0.5 g) por 5 min induce la reversión de color en frutos de zarzamora. Fuente: Elaboración propia.

Para confirmar estas observaciones con valores objetivos, se realizó la medición de color. El valor de L incrementó conforme se prolongó el tiempo deexposición de los frutos a la vibración, por lo que el mayor valor de L se observó en los frutos vibrados por
5 min; en este tratamiento la luminosidad (L*) incrementó 80 % en comparación con el control (0 min de vibración) (Cuadro 1). Respecto a la cromaticidad (C*), los tratamientos de vibración de 0 y 1 min presentaron valores comparables, pero a partir de los 3 min de vibración las muestras aumentaron sucromaticidad. El ángulo de matiz (hue° o h°) de los frutos vibrados por 0, 1 y 3 min permaneció entre 310° y 350° (color morado en el espacio de color), mientras que el valor de hue° se desplazó hasta los 43° (color rojo en el espacio de color) en los frutos vibrados. En conjunto, los tres parámetros de color revelaron que las muestras vibradas por 5 min presentaron RC por lo que los frutos de este tratamiento fueron seleccionados para los análisis de antocianinas.

Cuadro 1. La vibración (frecuencia entre 10 y 15 Hz, aceleración de 0.5 g) por 3 y 5 min, induce cambios en los parámetros de color (L*, C* y hueº) de los frutos de zarzamora.

Tiempo de vibración (min)	L*	C*	hº
0	15,8±0,7 D	1,2±0,2 B	324,2±3,4 C
1	18,9±0,6 C	1,7±0,2 B	310,6±3,0 B
3	23,3±0,9 B	2,7±0,3 A	353,6±4,8 D
5	28,5±0,7 A	3,1±0,2 A	43,0±3,4 A

Los datos se expresan como la media ± error estándar (n=15). Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos utilizando una prueba de Tukey. Fuente: Elaboración propia

Relación entre RC, color y contenido de antocianinas

Con el propósito de comprobar si la disminución en elcontenido de antocianinas explica la RC en las zarzamoras, frutos revertidos (5 min con frecuencia de10 Hz y aceleración de 0.5 *g*) y no revertidos se almacenaron (a 1 °C durante 120 h), cada 24 h se evaluó el color y contenido de antocianinas.

En los tres parámetros de color evaluados, se observaron diferencias entre los frutos revertidos y norevertidos. Durante todo el almacenamiento los primeros presentaron mayores valores de luminosidad y cromaticidad (Cuadro 2**)**. Con respecto al ángulo de matiz, estos frutos mostraron valores entre 28.5° y 90.2°, indicando que se encontraban en la región de color rojo-naranja; mientras que, en los frutos no revertidos, los valores registrados oscilaron entre 226.6° y 327.5º, indicandoque los frutos mantenían su coloración azul-violeta.

En las primeras 72 h de almacenamiento, los frutos revertidos y no revertidos presentaron contenidos de antocianinas monoméricas similares; a partir de las 96 h de almacenamiento, los primeros mostraron20 % de reducción en el contenido de antocianinas respecto de los segundos (Figura 2A).

El análisis por HPLC reveló que el perfil de antocianinas del fruto de zarzamora está conformado por cuatro antocianinas diferentes (Figura 2B). Los frutos revertidos y no revertidos mostraron el mismo perfil de antocianinas durante todo el almacenamiento, lo cual indicó que el cambio de colorobservado en la RC no se debe a cambios en el perfilde antocianinas de los frutos.

Cuadro 2: Los frutos de zarzamora no revertidos (NR) y revertidos (R) presentan diferencias en los parámetros de color (L*, C* y hue°) durantesu almacenamiento poscosecha de 120 h a 1 °C

Tiempo	L*		C*		hº	
(horas)	NR	R	NR	R	NR	R
0	15,8±0,7B	19,1±1,1 A	1,2±0,2B	3,1±0,2 A	324,2±19,9A	43,0±9,6B
24	12,1±2,2B	16,0±4,1 A	1,9±0,9B	6,2±0,6 A	318,9±32,5A	83,9±22,4B
48	15,1±1,1B	23,7±3,7 A	1,0±0,3B	4,0±0,3 A	305,4±21,1A	90,2±19,1B
72	15,8±2,1B	21,9±4,3 A	2,0±0,5B	5,6±0,5 A	327,5±16,8A	66,0±16,8B
96	16,0±2,4B	21,3±3,1 A	1,1±0,7B	5,8±0,5 A	280,5±25,3A	28,5±16,0B
120	16,1±3,3B	22,9±2,8 A	1,1±1,0B	4,6±0,6 A	226,6±44,2A	53,0±27,9B

Los datos se expresan como la media ± error estándar (n=15). Las diferentes letras indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos (frutos no revertidos y revertidos) utilizando una prueba t de Student. Fuente: Elaboración propia.

Con el uso de un estándar, el pico 1 fue identificado como cianidina-3-glucósido. Durante las primeras 48h de almacenamiento, los frutos revertidos y no revertidos presentaron contenidos de cianidina-3- glucósidos comparables; pero a partir de las 72 h,frutos revertidos registraron 18 % menos concentración de cianidina-3-glucósido que los frutosno revertidos (Figura 2C). Las tres antocianinas minoritarias mostraron una tendencia similar; en las primeras 72 h de almacenamiento no se observaron diferencias entre frutos revertidos y no revertidos, pero a las 96 h de almacenamiento, en frutos revertidos se observó una disminución entre el 20 y 25 % en comparación con frutos no revertidos (Figura 2D-F).

Los resultados del análisis de color y antocianinas demostraron que la RC no está asociada con la disminución en el contenido de antocianinas, ya que, desde la hora 0 de almacenamiento, los frutos

presentaban coloración roja y el contenido de antocianinas no cambió hasta después de 72 horas dealmacenamiento a 1 °C.

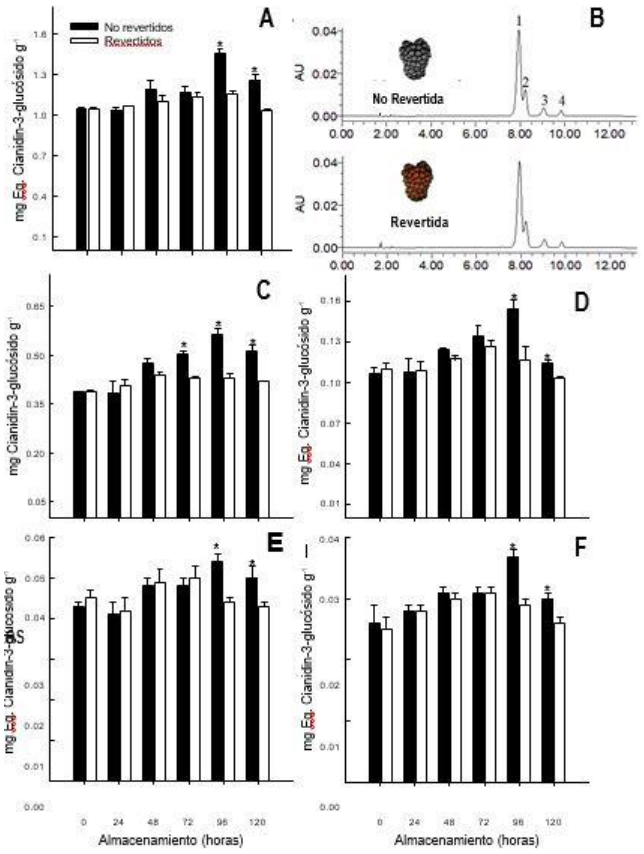

Figura 2. La Reversión de Color no está asociada a una reducción en el contenido de antocianinas. A) antocianinas totales, B) perfil de antocianinas, C) cianidina-3-glucósido, D-F) antocianinas no identificadas. Barras indican la media ± error estándar (n=3). *indicadiferencia estadística ($p < 0.05$) entre los grupos utilizando una prueba de t de Student. Fuente: Elaboración propia.

Cambios en aglomerados de antocianinas durante laRC

Para identificar si el cambio de color observado en losfrutos con RC se debe a cambios en la estructuraintracelular donde se almacenan las antocianinas, se realizaron observaciones por microscopía óptica y multifotónica en las drupas de frutos revertidos y no revertidos.

Los análisis de microscopía revelaron que las antocianinas en las muestras no revertidas se encuentran en forma de aglomerados esféricos (Figura 3A y C); de forma contrastante, en los frutos revertidos, las antocianinas se encuentran dispersas enel medio celular (Fig. 3B y D). Esto sugiere que el daño mecánico generado por la vibración afecta la estructura intracelular donde se almacenan las antocianinas, lo cual provoca su dispersión en el medio intracelular.

La intensidad de la emisión de fluorescencia es un parámetro indirecto para la detección de interacciones intermoleculares (Trouillas et al., 2016). Para evaluarsi la ruptura de los aglomerados de antocianinas que se presenta en los frutos con RC provoca cambios en estas interacciones, se midió la fluorescencia que emiten las antocianinas de los frutos revertidos y no revertidos. Las antocianinas de los frutos revertidos presentaron menor intensidad de fluorescencia en comparación con las antocianinas de frutos no revertidos, lo que sugiere una pérdida de interacciones intermoleculares en las antocianinas de frutos con RC(Figura 3E). Es probable que el cambio de color que se observa en la reversión de color se debe a la pérdida de las interacciones intermolecularesde las antocianinas.

Discusión

Recientemente se ha reportado que la vibración generada durante el transporte comercial de la fruta dezarzamora es un factor que induce la RC (Gil & Beaudry, 2020; Pérez Pérez et al., 2016). La evidencia fotográfica mostró que la vibración (frecuencia de 10-15 Hz y aceleración de 0.5 *g*) por 5min induce la RC. Asimismo, los cambios en los parámetros CIELab demostraron que los frutos sometidos a este tratamiento (5 min de vibración confrecuencia de 10-15 Hz y aceleración de 0.5 *g*) cambiaron su color morado, oscuro y con poca intensidad a un color rojo con mayor claridad y cromaticidad (McGuire, 1992; Wrolstad, Durst & Lee, 2005). Esto confirmó que la vibración es un factor asociado a la RC y que el tratamiento de 5 min de vibración a 10-15 Hz y 0.5 *g* de aceleración es un modelo adecuado para inducir la RC y estudiar el fenómeno desde el primer momento en que se manifieste en los frutos de zarzamora.

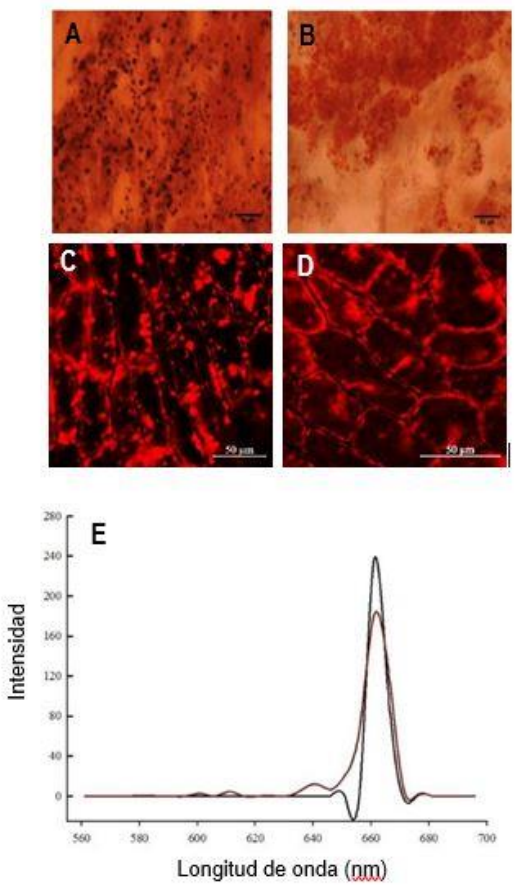

Figura 3. La Reversión de Color es asociada a la pérdida de aglomerados de antocianinas. Tejido de drupa de zarzamora observada en microscopio óptico A) Fruta no revertida y B) revertida. Tejido de drupa de zarzamora observado en microscopía multifotónica. Fluorescencia de antocianinas excitadas a λ 710 nm en C) Fruta no revertida y D) Revertida. E) Espectro de emission de fluorescencia de antocianinas en frutos no revertidos (línea negra) y revertidos (línea roja). Fuente: Elaboración propia

El análisis de color y de contenido de antocianinas durante el almacenamiento permitió demostrar que la RC no está asociada a la reducción del contenido de antocianinas ni a cambios en el perfil de dicha sustancia.Otros estudios han reportado disminución de antocianinas entre el 50 – 60 % en zarzamora con RC después de 24 h de almacenamiento (Edgley et al., 2019; Kim et al., 2019); es posible que la reducción de antocianinas reportada en frutos revertidos se debea cambios enzimáticos que ocurren durante su almacenamiento a baja temperatura posterior a la aparición de la RC (González, de Ancos & Cano, 2000). Pero dichos cambios no explican el mecanismopor el cual ocurre el fenómeno.

Se ha reportado que, en células de maíz, a pesar de mantener el mismo contenido y perfil de antocianinas,puede presentarse un oscurecimiento en su coloración asociado con la formación de aglomerados deantocianinas (Irani & Grotewold, 2005). Esta modificación en la coloración se ha atribuido a que, dentro de los aglomerados, las antocianinasinteraccionan con copigmentos como compuestosfenólicos, taninos y otros compuestos (Chanoca et al., 2015; Markham et al., 2000; Zhang et al., 2006). Estas interacciones antocianinas-copigmento producen un efecto hipercrómico en el espectro de absorción y fluorescencia de las antocianinas, por lo que se produce un cambio en la coloración (Trouillas et al., 2016). Debido a esto, en los frutos con RC, al perderse la estructura de los aglomerados de antocianinas, podría estar ocurriendo cambios en las interacciones intermoleculares de las antocianinas y que estas seanlos responsables del cambio de color que presentan los frutos revertidos.

Conclusión

Los datos de este estudio revelaron que la vibración de los frutos entre 10-15 Hz y 0.5g durante 5 min induce la RC; que este cambio de coloración no está relacionado con reducción en el contenido de antocianinas; y que la pérdida estructural de aglomerados que contienen las antocianinas podría provocar cambios moleculares queexpliquen el cambio de color de los frutos revertidos.

Referencias Bibliográficas

Chanoca, A., Kovinich, N., Burkel, B., Stecha, S., Bohorquez Restrepo, A., Ueda, T., Otegui, M. S. (2015). Anthocyanin Vacuolar Inclusions Form by a Microautophagy Mechanism. *The Plant Cell, 27*(9), 2545-2559. doi:10.1105/tpc.15.00589

Edgley, M., Close, D. C., & Measham, P. F. (2020). Red drupelet reversion in blackberries: A complex of genetic and environmental factors. *Scientia Horticulturae,*

272, 109555.

doi:10.1016/j.scienta.2020.109555

Edgley, M., Close, D. C., Measham, P. F., & Nichols, D. S. (2019). Physiochemistry of blackberries (Rubus L. subgenus Rubus Watson) affected by red drupelet reversion. *Postharvest Biology and Technology, 153*, 183-190.

doi:10.1016/j.postharvbio.2019.04.012

Fernando, I., Fei, J., & Stanley, R. (2019). Measurement and analysis of vibration and mechanical damage to bananas during long-distance interstate transport by multi-trailer road trains. *Postharvest Biology and Technology, 158*, 110977.

doi:10.1016/j.postharvbio.2019.110977

Garcıia Viguera, C., Zafrilla, P., & Tomás Barberán, F. A. (1997). Determination of authenticity of fruit jams by HPLC analysis of anthocyanins. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 73*(2), 207- 213.

Gil, M. I. & Beaudry, R. M. (2020). *Controlled and modified atmospheres for fresh and fresh-cut produce*: Academic Press.

Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. (2001). *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry(1), F1. 2.1-F1.2.13.*

González, E. M., de Ancos, B., & Cano, M. P. (2000). Partial characterization of peroxidase and polyphenol oxidase activities in blackberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*(11), 5459-

5464.

Irani, N. G., & Grotewold, E. (2005). Light-inducedmorphological alteration in anthocyanin- accumulating vacuoles of maize cells. *BMC Plant Biology, 5*(1), 1-15.

Kim, M. J., Lee, M. Y., Shon, J. C., Kwon, Y. S., Liu, K. H.,Lee, C. H., & Ku, K. M. (2019). Untargeted and targeted metabolomics analyses of blackberries–Understanding postharvest red drupelet disorder.*Food Chemistry, 300*, 125169

Markham, K. R., Gould, K. S., Winefield, C. S., Mitchell, K. A., Bloor, S. J., & Boase, M. R. (2000). Anthocyanic vacuolar inclusions—their nature and significance in flower colouration. *Phytochemistry, 55*(4), 327- 336

McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. HortScience, 27(12), 1254-1255.

Pérez Pérez, G., Fabela Gallegos, M., Vázquez-Barrios, M., River -Pastrana, D., Palma Tirado, L., Mercado Silva, E., & Escalona, V. (2016). Effect of the transport vibration on the generation of the color reversion in blackberry fruit. Paper presented at the VIII International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits- Ethical and Technological Issues 1194.

Trouillas, P., Sancho García, J. C., De Freitas, V., Gierschner, J., Otyepka, M., & Dangles, O. (2016). Stabilizing and modulating color by copigmentation: Insights from theory and experiment. Chemical reviews, 116(9), 4937- 4982.

Wrolstad, R. E., Durst, R. W., & Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. Trends in Food Science & Technology, 16(9), 423-428.

Yang, J., Ou, X., Zhang, X., Zhou, Z., & Ma, L. (2017). Effect of different solvents on the measurement of phenolics and the antioxidant activity of mulberry (Morus atropurpurea Roxb.) with accelerated solvent extraction. Journal of Food Science, 82(3), 605-612.

Zhang, H., Wang, L., Deroles, S., Bennett, R., & Davies, K. (2006). New insight into the structures and formation of anthocyanic vacuolar inclusions in flower petals. BMC Plant Biology, 6(1), 1-14.