

NOTA TÉCNICA**Parámetros colorimétricos y contenido de pigmentos en cinco colores de cáscara de fruto de guayabo [*Acca sellowiana* (Berg) Burret]**Fernanda Zaccari^{1,2}, Marta Del Puerto², Beatriz Vignale³, Clara Pritsch⁴¹ Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Producción Vegetal, Poscosecha de Frutas y Hortalizas. Avenida Garzón 780, 12900 Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: fzaccari@fagro.edu.uy² Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Producción Animal, Grupo de Nutrición y Calidad de Alimentos (Nutrical), Laboratorio de Calidad de Alimentos y Calidad de Productos³ Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Producción Vegetal, Mejoramiento y Recursos Genéticos⁴ Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Biología Vegetal, Laboratorio de Biotecnología

Recibido: 2016-08-03 Aceptado: 2017-09-17

Resumen

El objetivo de este estudio fue caracterizar cinco colores de cáscara de fruta de guayabo del país establecidas en una escala visual utilizada en la selección y mejoramiento genético de esta especie en Uruguay con los parámetros colorimétricos en el espacio tridimensional CIELAB y cuantificar el contenido de clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides totales. La escala visual analizada comprende los colores de cáscara Amarillo (A), Amarillo Verde (AV), Verde Amarillo (VA), Verde (V) y Verde Verde (VV). La luminosidad y la saturación del color de la cáscara de los frutos bajaron al aumentar el color verde de la escala visual (L^* 57,2 a 36,4; C_{ab}^* 41,4 a 15,9). El tono varió de 90,4 a 121,3 °h_{ab} coincidiendo con lo percibido en la escala visual en las categorías de color de cáscara desde A a VV. La diferencia de color (ΔE_{ab}) entre las categorías de la escala visual es distinguida fácilmente por un observador no experto. El índice de color discriminó estadísticamente los cinco colores de cáscara siendo los valores 0 (A), -4 (AV), -5 (VA), -12 (V) y -17 (VV). El contenido de clorofila total (0,160 a 0,119 mg g⁻¹) y de clorofila *a* (0,085 a 0,362 mg g⁻¹ peso fresco) se correlacionó positivamente con la escala creciente de verde de la cáscara ($r = 0,56$ y $0,80$; $p \leq 10^{-5}$). En cambio, los carotenoides totales (0,043 a 0,119 mg g⁻¹ peso fresco) no se correspondieron claramente en función de la escala visual ($r = -0,03$; $p 0,225$) probablemente enmascarados por la clorofila y también con contenido de clorofila más alto en los frutos VV.

Palabras clave: fruta, exocarpio, índice de color, escala visual, clorofilas**Colorimetric Parameters and Pigments Content in Five Different Peel Colors of Feijoa Fruit [*Acca sellowiana* (Berg) Burret]****Summary**

The aim of this study was to characterize five guava fruit peel color on a visual scale used in the selection and breeding of this species in Uruguay by the colorimetric parameters in the CIELAB color space and measure total chlorophyll, chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total carotenoids content. The visual scale analyzed the skin colour ranked of Yellow (A), Green (AV) Green Yellow (VA), Green (V) and Green Green (VV). The brightness and saturation of the skin fruit colour, lowered by increasing the green colour of the visual scale (L^* 57.2 to 36.4, C_{ab}^* 41.4 to 15.9). The tones were 90.4 to 121.3 °h_{ab} coincident with perceived in the skin visual scale colour categories A to VV. The color difference between categories of visual scale was easily differentiated by a non-expert observer. The color index statistically discriminated the five skin colour which values were 0 (A) -4 (AV), -5 (VA), -12 (V) and -17 (VV). The total chlorophyll content (0.160 to 0.119 mg g⁻¹ fresh weight) and 0.085 to 0.362 mg g⁻¹ fresh weight chlorophyll *a*, was positively correlated with the colours toward skin greenish- ($r = 0.56$ and 0.80 ; $p \leq 10^{-5}$). Instead, total carotenoids (0.043 to 0.119 mg g⁻¹ fresh weight) had low relation with the visual scale ($r = -0.03$; $p 0.225$), probably masked for chlorophylls, also with the highest content in skin VV fruits.

Keywords: fruit, exocarp, colour index, visual scale, chlorophylls

Introducción

El color de la cáscara en los frutos es un atributo de calidad que influencia las preferencias del consumidor, e induce la expectativa de sabor, gusto y palatabilidad (Wadhwa y Capaldi-Phillips, 2014), siendo al mismo tiempo en la mayor parte de los vegetales una variable utilizada como indicador de estado de madurez y/o deterioro de calidad de los mismos (Castro Camacho, Cerquera Peña y Gutierrez Guzmán, 2013; Wadhwa y Capaldi-Phillips, 2014). Es por ello que también es de utilidad para su aplicación en cultivo y/o industria construir escalas de colores utilizando instrumentos como colorímetros, procesamiento digital de imágenes y otras técnicas de determinación objetivas de color, para reducir la subjetividad de los operadores (CIE, 2004; Castro Camacho, Cerquera Peña y Gutierrez Guzmán, 2013). Por otro lado, el color en la cáscara de los frutos es consecuencia de la concentración y distribución de pigmentos presentes en los tejidos. Los pigmentos se encuentran principalmente en los cloroplastos y cromoplastos (clorofilas y carotenoides), y en las vacuolas los compuestos fenólicos (antocianos, flavonoides, cumarinas, quinonas y otros). Las clorofilas responsables del color verde, y dominantes en los vegetales, son la clorofila *a* que confiere al tejido el color azul-verde (verde intenso) y la clorofila *b* que otorga el color amarillo-verde (verde), ambos presentes en una relación de 2 o 3 a 1 (Lancaster et al., 1997). Los carotenoides son más de 600 compuestos producidos por los vegetales, algunos de los cuales son responsables de los colores en gamas del amarillo, anaranjado y rojo; pocos son fuente de provitamina A, y por su estructura química tienen alto potencial como antioxidantes (Hock-Eng Khoo et al., 2011; Gülçin, 2012). Los compuestos fenólicos como las antocianinas desarrollan colores rojo, rosa, azul o púrpura, dependiendo del fruto, mientras que cumarinas y algunos flavonoides tienen colores en tonos de blanco amarillento, teniendo también estos compuestos alta capacidad antioxidante (Kader y Barrett, 1996; Gülçin, 2012). Los cambios de color en la cáscara de la mayor parte de los frutos son debidos a la degradación de las clorofilas provocada por cambios en el pH, contenido de ácidos, y aumento de procesos oxidativos y de la actividad de las clorofilasas (Kader y Barrett, 1996; Crowhurst et al., 2008; González, 2010). Sin embargo la expresión del color no solo depende de los pigmentos presentes sino además de otros aspectos físicos y/o químicos del vegetal (Timberlake y Henry, 1986; Lancaster et al., 1997). La presencia de ceras, tricomas y otras estructuras epiteliales, el tamaño de las células y topo-

grafía del tejido influyen en la reflexión y refracción de la luz incidente (Lancaster et al., 1997). Al mismo tiempo, las clorofilas y sus derivados, los carotenoides y compuestos fenólicos forman parte de los compuestos fitoquímicos. Algunas de estas moléculas están involucradas en los procesos de la fotosíntesis (clorofila y carotenoides), y se les atribuye acciones biológicas relacionadas a actividad antioxidante, respuesta inmune, de comunicación celular *in vivo* y antimutagénica, que contribuyen a reducir los riesgos del desarrollo de algunas enfermedades y prevención de diferentes tipos de cáncer (Steinmetz y Potter, 1996; Basile et al., 1997; Ferruzzi y Blakeslee, 2007; Ebrahimzadeh et al., 2008; Weston, 2010).

Los frutos de guayabos del país [*Acca sellowiana* (Berg) Burret] que forman parte de proyectos de prospección, selección y mejoramiento genético, presentan distintos colores de cáscara en el rango de amarillo y verde, siendo este uno de los atributos que hacen a la caracterización de clones y/o variedades (Vignale y Bisio, 2005; González, 2010; Calvete, 2013; Puppo et al., 2014; Vignale et al., 2015). En los trabajos de selección y mejoramiento genético en Uruguay se han construido escalas visuales del color de la cáscara, junto a otros atributos de los frutos (Puppo et al., 2014). El color verde de la cáscara de guayabos de la especie [*Acca sellowiana* (Berg) Burret] se mantiene en la mayoría de los frutos de plantas silvestres o cultivadas aún en su estado de madurez organoléptica (Calvete, 2013; Puppo et al., 2014; Quezada et al., 2014; Pasquariello et al., 2015).

Los frutos de guayabo se consumen en fresco principalmente sin cáscara, pero hay algunas selecciones de cáscara muy fina que pueden consumirse enteros (Vignale y Bisio, 2005; Calvete, 2013; Silveira et al., 2015), por lo cual la cuantificación de los compuestos fitoquímicos asociados al color de la cáscara puede contribuir a valorizar aún más las virtudes nutraceuticas de estos frutos (Weston, 2010). Así mismo, la caracterización física y química de la cáscara es relevante para identificar su uso potencial como materia prima en la industria de alimentos innovadores o farmacéutica, debiéndose tener en cuenta que los procesos domésticos y/o industriales alteraran estos compuestos (Ebrahimzadeh et al., 2008; Weston, 2010; Sun-Waterhouse et al., 2013; Duong y Balaban, 2014; Quintero, 2015). En consecuencia, el objetivo de este trabajo fue caracterizar con parámetros colorimétricos del espacio CIELAB cada categoría de color de la escala visual para la cáscara utilizada en los trabajos de selección y mejoramiento genético de

frutos de guayabos del país, y reportar la cantidad de clorofila y carotenoides totales.

Materiales y métodos

Material vegetal

Los frutos de guayabos fueron obtenidos durante un muestreo de rutina de evaluaciones de materiales genéticos del Jardín de introducción y mejoramiento genético de guayabos instalados en la Estación Experimental de San Antonio de la Facultad de Agronomía (latitud S 31.33, longitud W 57.83). Fueron cosechados más de ochenta frutos en estado maduro, utilizando el criterio de cosecha cuando estos son removidos manualmente de la planta con facilidad (*touch-picking*) (Silveira et al., 2015). Las frutas cosechadas se asignaron a cinco clases de una escala visual de color de cáscara (amarillo a verde) denominadas: Amarilla (A), Amarilla Verde (AV), Verde Amarilla (VA), Verde (V) y Verde Verde (VV), (Figura 1). Una muestra aleatoria de 10 frutos por cada clase de la escala visual fue utilizada en las determinaciones posteriores. Los frutos se mantuvieron en condiciones ambientales del laboratorio (20 °C y 80 % HR) por 24 h antes de ser analizados.

Color

Las variables del color de la cáscara se midieron en la zona ecuatorial del fruto (n = 10) sobre cuatro puntos opuestos y sin presencia visual de defectos. Se utilizó un colorímetro CR10 (Konica Minolta, Japón) determinando el color en el espacio triestímulo CIELAB ($L^*a^*b^*$) con iluminante D65,

observador estándar 10° y apertura 8 mm, midiendo los valores L^* , a^* y b^* . Se calculó la relación a^*/b^* , y el tono ($^{\circ}h_{ab}$), la saturación (C^*_{ab}) y la diferencia del color (ΔE_{ab}) con las siguientes ecuaciones (CIE, 2004):

$$^{\circ}h_{ab} = \text{arctg}(b^*/a^*)$$

$$C^*_{ab} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$$

$$\Delta E_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}$$

Además se calculó un índice de color (IC) con la ecuación utilizada en la escala de color de cáscara de cítricos (Jiménez-Cuesta, Cuquerella y Martínez-Javega, 1982)

$$IC = 1000 [a^* (L^* b^*)^{-1}]$$

Se guardaron en congelador (-20 °C) cinco frutos enteros sin daños visibles de cada color de cáscara para medir posteriormente el contenido de pigmentos de la cáscara.

Contenido de clorofila y carotenoides totales

El contenido de clorofila y carotenoides totales se determinó en la cáscara de los frutos. Se consideró sólo el exocarpio cortando con un bisturí un espesor aproximado de 0,2 a 0,5 mm. En el caso que correspondió se removieron los restos de mesocarpio (Castro Camacho, Cerquera Peña y Gutiérrez Guzmán, 2013) diferenciándose claramente debido al rápido oscurecimiento de ese tejido (*pardeamiento* o *browning*).

La determinación de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides totales se realizó de acuerdo a Arno (1949) y las modificaciones y cálculos sugeridos por Lichtenthaler y Wellburn (1983). La extracción, para cada color de cáscara, fue ob-



Figura 1. Escala visual del color de la cáscara de guayabos del país.

tenida de una muestra compuesta de la cáscara de cinco frutos. Se realizaron 10 extracciones totales de cada color de cáscara en el área entrono a la zona ecuatorial de los frutos (± 1 cm), y tres repeticiones analíticas por extracción. Se utilizó para cada extracción 0,050 g de cáscara y 10 mL de acetona (80 %) homogenizado la muestra a 3500 rpm por 45 s (UltraTurrax XHF-D IKA, China). El extracto se filtró rápidamente con papel de filtro. Todos los procedimientos se hicieron manteniendo la muestra en hielo y oscuridad a fin de minimizar la degradación de compuestos. El extracto filtrado obtenido se midió inmediatamente en un espectrofotómetro (Unico S2150UV, UV-Visible) en tres longitudes de onda: λ 663 nm, λ 646 nm y λ 470 nm. Se calculó el contenido de clorofila a (Cl *a*), clorofila b (Cl *b*), clorofila total (Cl *t*) y carotenoides totales (C *x+c*) con las siguientes ecuaciones:

$$Cl\ a = 2,21A_{663} - 2,81A_{646}$$

$$Cl\ b = 20,13A_{646} - 5,03A_{663}$$

$$Cl\ t = Cl\ a + Cl\ b$$

$$C\ x+c = (1000 A_{470} - 3,27 C\ a - 104 C\ b) (229)^{-1}$$

Los resultados se expresaron en miligramos de clorofila o carotenoides totales por gramo de peso fresco de cáscara de guayabo ($mg\ g^{-1}_{PF}$).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en las variables de color luminosidad (L^*), tono ($^{\circ}h_{ab}$), saturación (C^*_{ab}), relación a^*/b^* , índice de color (IC), diferencia de color (ΔE_{ab}) y contenido de clorofilas y carotenoides totales se analizaron estadísticamente realizando un análisis de varianza ($p = 0,95$) y cuando correspondió se compararon las medias utilizando el test de Tukey ($p \leq 0,05$). Se realizó además un análisis de relación entre la escala visual del color de la cáscara y los parámetros de color y contenido de clorofila y carotenoides

determinadas, calculando el coeficiente de correlación lineal de Pearson ($p \leq 0,05$), asignando a la escala visual valores crecientes de color verde con una escala ordinal de 1 (A) a 5 (VV).

Resultados y discusión

Color

La luminosidad (L^*) del color de los frutos de las categorías de la escala visual fueron entre si distintas estadísticamente ($p \leq 0,0001$) siendo la cáscara de los frutos menos luminosa al aumentar el color verde de la escala visual (Cuadro 1). La saturación del color (C^*_{ab}) también disminuyó al aumentar el color verde, observándose el color más vivo e intenso de la cáscara A y AV. Al mismo tiempo el tono ($^{\circ}h_{ab}$) de color se correspondió a los colores amarillo y verde representados en la escala, siendo similares estadísticamente el tono de la cáscara AV y VA. Este resultado fue similar a los obtenidos en la relación a^*/b^* [variables a^* ($-a^*$ verde, $+a^*$ rojo) y b^* ($-b^*$ azul, $+b^*$ amarillo)].

Los valores de la variable b^* disminuyeron entre cada categoría de color en mayor proporción para el color de cáscara V y VV, al mismo tiempo que los valores de la variable a^* se mantuvieron constantes, diferenciándose estadísticamente sólo del color A (Figura 2). Esto implicó, en la escala visual de colores de cáscara que va desde el color A a VV, una reducción de valores amarillo ($+b^*$) y en menor proporción de los valores verde ($-a^*$). Esto coincide con lo observado en las categorías establecidas en la escala visual (Figura 1 y 2) y probablemente sea explicado por el aumento de las clorofilas, en especial la clorofila *a* desde el color de cáscara A a VV (Figura 3). Pasquariello et al. (2015) reportaron los parámetros luminosidad (L^* 37,5 a 43,3) y tono (112,8 a 102,1 $^{\circ}h$) de la cáscara de frutos de doce variedades cultivadas de guayabos (*Acca sellowiana*) correspondiéndose a similares valores obtenidos en nuestro

Cuadro 1. Luminosidad (L^*), tono ($^{\circ}h_{ab}$) y saturación (C^*_{ab}), relación a^*/b^* e índice de color (IC) en cinco colores de cáscara de guayabos.

	L^*	$^{\circ}h_{ab}$	C^*_{ab}	a^*/b^*	IC
Amarillo	57,2 \pm 0,4 a	90,4 \pm 0,6 d	41,4 \pm 0,7 a	-0,01 \pm 0,01 d	0 \pm 0,1 e
Amarillo Verde	55,1 \pm 0,4 b	101,4 \pm 0,8 c	41,3 \pm 1,1 a	-0,20 \pm 0,02 c	-4 \pm 0,3 d
Verde Amarillo	50,1 \pm 0,3 c	104,1 \pm 0,4 c	37,6 \pm 0,7 b	-0,25 \pm 0,01 c	-5 \pm 0,1 c
Verde	40,4 \pm 0,4 d	115,6 \pm 0,5 b	24,0 \pm 0,3 c	-0,48 \pm 0,01 b	-12 \pm 0,3 b
Verde Verde	36,4 \pm 0,5 e	121,3 \pm 1,1 a	15,9 \pm 0,6 d	-0,62 \pm 0,03 a	-17 \pm 0,8 a

Letras distintas en cada columna indican que son estadísticamente diferentes. Media \pm EE (n = 40).

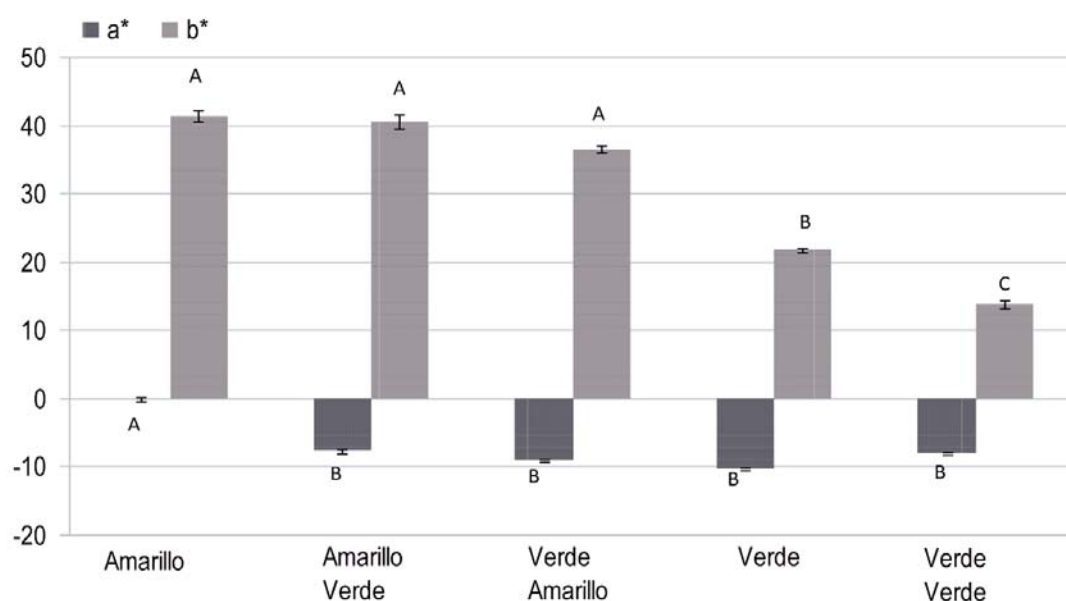


Figura 2. Variables a^* y b^* en cinco colores de cáscara de guayabos. Letras distintas entre columnas de la misma variable (a^* o b^*) indican que son diferentes estadísticamente (Tukey $\leq 0,05$).

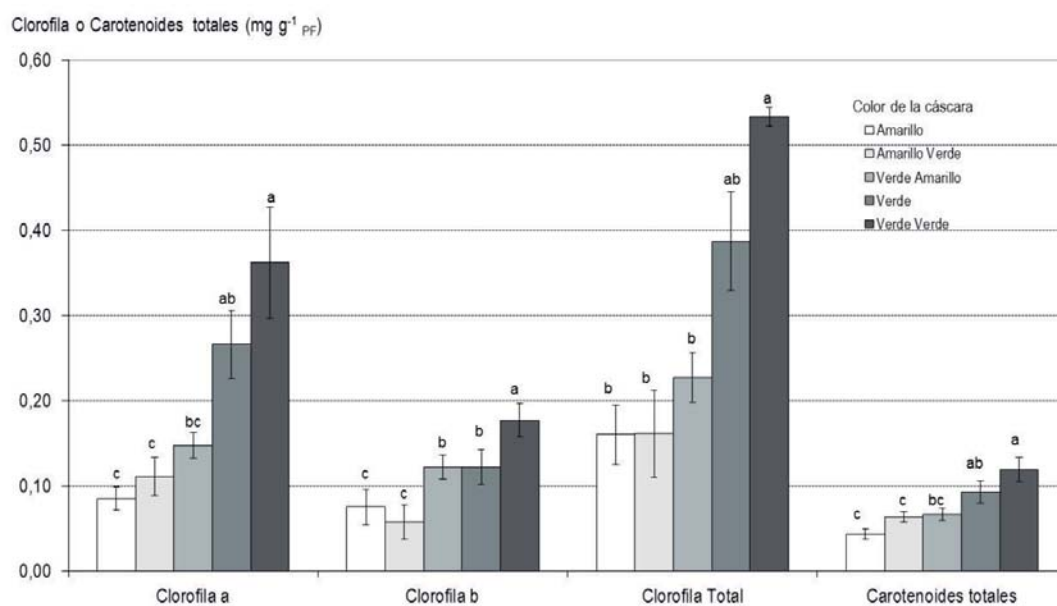


Figura 3. Contenido de clorofila a , clorofila b , clorofila total y carotenoides totales en cinco colores de cáscara de guayabos. Media \pm EE ($n = 30$). Letras distintas sobre las columnas dentro de cada variable indican que son estadísticamente diferentes (Tukey $\leq 0,05$).

trabajo para las categorías de color VA y V de la escala visual. Sin embargo no es posible en este caso atribuirles a dichas variedades un color de las categorías de nuestra escala visual dado que dichos autores no reportan la saturación y/o los parámetros a^* y b^* del color. Por el contrario,

los guayabos de la variedad Unique utilizados en el trabajo de Duong y Balaban (2014) se corresponden con el color de cáscara verde amarillo de nuestra escala visual.

El índice de color (IC) desarrollado para cítricos por Jiménez-Cuesta, Cuquerella, y Martínez-Javega (1982), y

también aplicado en variedades de pomelo por Conesa, Manera y Cámara (2006), fue reportado por estos autores con alto coeficiente de correlación lineal (95 %) entre las apreciaciones visuales del color y las determinaciones instrumentales en el rango de colores de verde oscuro (valores negativos) y amarillo (valores positivos). En guayabos del país, los valores del IC obtenidos para cada color de la escala visual se diferenciaron estadísticamente entre sí ($p \leq 0,0001$). Los valores del IC entre las categorías correlativas de la escala visual presentaron distancias similares, a excepción de los colores de la cáscara AV (-4) y VA (-5) (Cuadro 1), sin embargo todos los colores se diferencian claramente entre sí (ΔE_{ab}). En el Cuadro 2 se presenta la diferencia entre los cinco colores (ΔE_{ab}) de la cáscara de la escala visual. Los resultados obtenidos confirman diferencias importantes (9 a 35,5) entre los colores de la escala visual que son distinguidos muy fácilmente por un observador no experto. En el Cuadro 3 se presenta la correlación lineal de Pearson (r) entre la escala visual desde el color A a VV y los parámetros del espacio CIELAB, la relación a^*/b^* y el IC calculado. Los coeficiente de correlación entre la escala visual y dichas variables fueron altos y negativos ($> -0,900$), exceptuando el tono (0,925) con valores positivos y un valor más bajo de r para el parámetro a^* (-0,580). Los coeficientes de correlación lineal obtenidos entre el IC y los parámetros de color fueron similares y de signo contrario a los obtenidos con la escala

visual. Esto era esperable dado que el IC está determinado por cálculo con los valores L^* , a^* y b^* . Al mismo tiempo el sentido de la correlación es opuesto al de la escala visual (1 A a 5 VV) dado que el IC tiene valores decrecientes de 0 (A) a -17 (VV).

Las variables L^* , a^* , b^* , $^{\circ}h$, C^* y a^*/b^* si bien tuvieron alto coeficiente de correlación con la escala visual, por sí solas en forma independiente no definen ningún color. Para definir el color debe indicarse tres variables L^* , $^{\circ}h$ y C^* o L^* , a^* y b^* . En cambio, el IC es calculado en base a las tres variables que definen el color en el espacio CIELAB (L^* , a^* , b^*) observándose un coeficiente de correlación alto (-0,894) con la escala visual (Cuadro 3). Por tanto, los valores obtenidos del IC (0, -4, -5, -12, -17) podrían ser utilizados como definición práctica de cada categoría de la escala visual del color de cáscara analizada.

Clorofila y carotenoides totales

El contenido de clorofila total en la cáscara de guayabos del país fue desde 0,160 a 0,533 $\text{mg g}^{-1}_{\text{PF}}$. La cáscara de color VV (0,533 $\text{mg g}^{-1}_{\text{PF}}$) presentó similar contenido de clorofila total que la cáscara de color V (0,387 $\text{mg g}^{-1}_{\text{PF}}$), siendo diferente de los demás colores de la escala visual (Figura 3). En la cáscara de color A, AV y VA se cuantificó un 70 a 57 % menos de clorofila total que en los otros dos colores. La cantidad de clorofila a fue tres y cuatro veces superior en la cáscara de color V y VV que los que tienen

Cuadro 2. Diferencia de color (ΔE_{ab}^*) entre los colores de la escala visual para la cáscara de guayabos.

	Amarillo Verde	Verde Amarillo	Verde	Verde Verde
Amarillo	11,7 ± 0,4	14,4 ± 0,4	28,8 ± 0,4	35,5 ± 0,5
Amarillo Verde	-	9,0 ± 0,4	24,8 ± 0,4	34,5 ± 0,4
Verde Amarillo	9,0 ± 0,4	-	18,5 ± 0,3	27,5 ± 0,4
Verde	24,8 ± 0,4	18,5 ± 0,3	-	9,6 ± 0,3

Media ± EE (n = 40).

Cuadro 3. Coeficiente de correlación lineal de Pearson (r) entre el color de la escala visual (EV) de cáscara de guayabos (A a VV) y del índice de color (IC) con los parámetros de color, clorofila y carotenoides totales.

	L^*	$^{\circ}h_{ab}$	C^*_{ab}	a^*	b^*	a^*/b^*	IC	Cl t	Cl a	Cl b	C x+c
EV	-0,930***	0,925***	-0,936***	-0,580****	-0,943***	-0,910***	-0,894***	0,557****	0,802****	0,346***	-0,030ns
IC	0,882****	-0,961****	0,900****	0,485****	0,914****	0,979****	-	-0,603****	-0,688****	-0,398**	-0,041ns

ns : no significativo ($p \geq 0,05$) ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,0001$ **** $p \leq 0,00001$. Escala de EV e [IC]: 1 [0] = Amarillo, 2 [-4] = Amarillo Verde, 3 [-5] = Verde Amarillo, 4 [-12] = Verde, 5 [-17] = Verde Verde. L^* = Luminosidad, $^{\circ}h_{ab}$ = tono, C^*_{ab} = Cromo Cl t = Clorofila total Cl a = Clorofila a Cl b = Clorofila b C x+c = Carotenoides totales.

más colores amarillos. Al mismo tiempo las diferencias encontradas en el contenido de clorofila *b* fueron dos a tres veces superiores en la cáscara de esos colores. La relación entre la $Cl\ a : Cl\ b$ fue 1,7 y 2,1 para el color de cáscara A y AV, y tres para los demás colores. Estos resultados de mayor contenido de clorofila en los colores de la cáscara más verde son concordantes con lo observado en la escala visual desde el color verde amarillo vivo al color verde más opaco y oscuro. El contenido de carotenoides totales fue de 0,043 a 0,119 $mg\ g^{-1}_{PF}$ y aumentó con el color verde de la cáscara (Figura 3). Los carotenoides están ubicados en los cloroplastos, enmascarados por la clorofila e interviniendo probablemente como antioxidantes y protectores de las células en los procesos del deterioro del fruto (Timberlake y Henry, 1986; Hock-Eng Khoo et al., 2011). Los coeficientes de correlación lineal (*r*) obtenidos entre la escala visual de color de cáscara y la clorofila total y la clorofila *b* fueron medios (0,557 y 0,346), presentando una correlación alta (0,802) la clorofila *a* (Cuadro 3). La clorofila *a* pigmenta los tejidos vegetales de azul-verde (Lancaster et al., 1997) confiriendo un color más verde a la cáscara de guayabo, como se observó en la escala visual para el V y VV. Por el contrario, los carotenoides totales no tuvieron correlación estadísticamente significativa con el color de la escala (Cuadro 3). En el Cuadro 3 se presenta un coeficiente de correlación (*r*) medio entre el IC calculado con el contenido de clorofila total (-0,603) y con clorofila *a* (-0,688), indicando que a mayor valor de IC calculado ($0 = A, -17 = VV$) menor fue el contenido de clorofila. El coeficiente de correlación medio obtenido entre estas variables puede estar sugiriendo, en concordancia con Timberlake y Henry (1986) y Lancaster et al. (1997), que además de la clorofila otros factores que participan en la construcción física y química de la cáscara están contribuyendo a definir el color de los frutos. Si bien, entre otros autores Ebrahimzadeh et al. (2008), Weston (2010), Sun-Waterhouse et al. (2013), Duong y Balaban (2014), Silveria et al. (2015) han reportado el color, así como la composición de nutrientes y otros fitoquímicos en frutos de guayabo (*Acca sellowiana*), no se encontraron referencias en contenido de clorofila y carotenoides de la cáscara en esta especie. En la cáscara de otros frutos, Lancaster et al. (1997) reportaron el contenido de clorofila de manzana verde (*Malus pumila*, L.) 0,064, pepino (*Cucumis sativum* L.) 0,792, lima (*Citrullus limon* L.) 0,276, y morrón verde (*Capsicum annum* L.) 0,170 $mg\ g^{-1}_{PF}$. Estos autores también cuantificaron en la cáscara de estos vegetales el contenido de carotenoides totales correspondiéndose correlativamente a 0,008, 0,061, 0,019 y 0,025 $mg\ g^{-1}_{PF}$.

La relación entre carotenoides totales y clorofila total de la cáscara de estas frutas fue menor (6,9 % a 14,7 %) a la obtenida en los frutos de guayabos (22,3 % a 39,1 %). Sin embargo, con rango de contenido de carotenoides totales más alto en la cáscara de guayabos (0,043 a 0,119 $mg\ g^{-1}_{PF}$) que en las especies estudiadas por Lancaster et al. (1997), se observó igual tendencia, en la cual valores altos de carotenoides totales se asociaron también a valores altos de clorofila. En similar sentido González (2010), en tres variedades de guayaba de cáscara de color amarillo verde (*Psidium guajava*) y en el momento de cosecha, cuantificó 0,004 a 0,014 mg de clorofila total g^{-1}_{PF} y 0,044 a 0,047 $mg\ g^{-1}_{PF}$ de carotenoides totales en muestras homogeneizada de cáscara, pulpa y semilla.

En conclusión, los resultados obtenidos en las variables de color medidas en el espacio tridimensional CIELAB permitieron asignar valores objetivos a los colores de la escala visual utilizada en la selección y mejoramiento genético de guayabos del país. Esto posibilitará comparar el atributo de color de cáscara entre diferentes grupos de investigadores y operadores del sector productivo y/o de mercado. El indicador de color utilizado en frutos cítricos puede ser empleado para tipificar las cinco categorías de colores establecidos en la escala visual de la cáscara de guayabos del país. Además se ha cuantificado por un método sencillo el contenido de clorofila y carotenoides totales, que son pigmentos responsables del color de la cáscara. Al mismo tiempo, esta información contribuye a valorar aún más la cáscara de guayabos del país por su potencial aporte de estos fitoquímicos en la alimentación humana.

Bibliografía

- Aron, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
- Basile, A., Vuotto, M. L., Violante, U., Sorbo, S., Martone, G. y Castaldo-Cobianchi, R. (1997). *International Journal Antimicrobial Agents*, 8 (3), 199-203.
- Calvete, A. (2013). *Contribución al mejoramiento genético participativo de guayabos del país [Acca sellowiana, (Berg.) Burret] en el paisaje protegido de la Quebrada de los Cuervos*. (Tesis de grado). Montevideo, Facultad de Agronomía, Universidad de la República.
- Castro Camacho, J. K., Cerquera Peña, N. E. y Gutierrez Guzmán, E. (2013). Determinación del color del exocarpo como indicador de desarrollo fisiológico y madurez en la guayaba pera (*Psidium guajava* cv. Guayaba pera), utilizando técnicas de procesamiento digital de imágenes. *Revista EIA*, 10 (19), 79-89.
- CIE. (2004). *Technical Report. Colorimetry* (3^a ed.). Recuperado de [https://www.google.com.uy/search?q=CIE.+2004.+Technical+Report+Colorimetry%2C+\(3+ed.\)&aq=chrome..69157.7869J0J8&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com.uy/search?q=CIE.+2004.+Technical+Report+Colorimetry%2C+(3+ed.)&aq=chrome..69157.7869J0J8&sourceid=chrome&ie=UTF-8).

- Conesa, A., Manera, F. J. y Cámara, J. M.** (2006). Correlation of colorimetric parameters with visual observation in grapefruits varieties. En *10th Proceedings International Society Citriculture* (pp. 1092-1994). Agadir: International Society of Citriculture.
- Crowhurst, R. N., Gleave, A. P., MacRae, E. A., Ampomah-Dwamena, C., Ross, G., Atkinson, R. A.,... y Laing, W. A.** (2008). Analysis of expressed sequence tags from Actinidia: Applications of a cross species EST database for gene discovery in the areas of flavor, health, color and ripening. *BMC Genomic*, 9(35), 1-26.
- Duong, T. y Balaban, M.** (2014). Optimization of the process parameters of combined high hydrostatic pressure and dense phase carbon dioxide on enzyme inactivation in feijoa (*Acca sellowiana*) puree using response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 93-101.
- Ebrahimzadeh, M. A., Hosseinimehr S. J., Hamidinia, A. y Jafari M.** (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sellowiana fruits peel and leaves. *Pharmacologyonline Young Researchers*, 1, 7-14.
- Ferruzzi, M. G. y Blakeslee, J.** (2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutritional Research*, 27 (1), 1-12.
- González, C. A.** (2010). *Caracterización química del color de diferentes variedades de guayaba colombiana (Psidium Guajava L.)* (Tesis de Maestría). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Gülçin, I.** (2012). Antioxidant activity for food constituents: A review. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391.
- Hock-Eng Khoo, K., Prasad, N., Kong, K. W., Yiang, Y. e Ismail, A.** (2011). Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*, 16(2), 1710-1738.
- Jiménez-Cuesta, M., Cuquerella, J. y Martínez-Javega, J. M.** (1982). Determination of color index for citrus fruits degreening. En *4th Proceedings International Society of Citriculture* (pp. 750-752). Shizuoka: International Society of Citriculture.
- Kader A. A. y Barrett D. M.** (1996). Classification, composition of fruits and postharvest maintenance of quality. En L. P. Somogyi, H. S. Ramaswamy e Y.H. Hui (eds.). *Processing fruits: Science and technology* (Vol. 1 Biology, Principles and Application, pp. 1-24). Lancaster: Technomic Publishing Pennsylvania.
- Lancaster, J., Lister, C. E., Reay, P. F. y Triggs, C. M.** (1997). Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetable. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 122(4), 594-598.
- Lichtenthaler, H. K. y Wellburn, A. R.** (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-603.
- Pasquariello, M. S., Mastrobuoni, F., Di Patre, D., Zampella, L., Capuano, L. R., Scortichini, M. y Petriccione, M.** (2015). Agronomic, nutraceutical and molecular variability of feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) germplasm. *Scientia Horticulturae*, 191(1), 1-9.
- Puppo, M., Rivas, M., Franco, J. y Barbieri, R.** (2014). Propuesta de descriptores para [*Acca sellowiana* (Berg.) Burret]. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(4), 957-970.
- Quezada, M., Pastina, M. M., Ravest, G., Silva, P., Vignale, B., Cabrera, D.,... y Pritsch, C.** (2014). A first genetic map of *Acca sellowiana* based on ISSR, AFLP and SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 169, 138-146.
- Quintero, O.** (2015). Producción y comercialización del Guayabo del País (Feijoa) en Colombia. En *7º Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos* (pp. 43-53). Montevideo: INIA. (Actividades de Difusión, Nº 745).
- Silveira, A. C., Oyarzún, D., Rivas, M. y Zaccari, F.** (2015). Determinación de algunos atributos de calidad en frutos de guayabo del país [*Acca sellowiana* (Berg.) Burret] en diferentes estados de maduración. *Agrociencia (Uruguay)*, 19(1), 24-30.
- Steinmetz, K. A. y Potter, J. D.** (1996). Vegetables, fruit and cancer prevention: A review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96(10), 1027-1039.
- Sun-Waterhouse, D., Wang, W., Waterhouse, G. I. N. y Wadhwa, S. S.** (2013). Utilization potential of feijoa fruit wastes as ingredients for functional foods. *Food Bioprocess Technology*, 6, 3441-3455.
- Timberlake, C. F. y Henry, B. S.** (1986). Plant pigments as natural food colours. *Endeavour*, 10(1), 31-36.
- Vignale, B. y Bisio, L.** (2005). Selección de frutales nativos en Uruguay. *Agrociencia (Uruguay)*, 9(1-2), 35-39.
- Vignale, B., Cabrera, D., Rodriguez, P., Nebbel, J.P. y Zoppolo, R.** (2015). Selección de frutas nativas: Avances. En *7º Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos* (pp. 45-53). Montevideo: INIA. (Actividades de Difusión, Nº 745).
- Wadhera, D. y Capaldi-Phillips, E. D.** (2014). A review of visual cues associated with food on food acceptance and consumption. *Eating Behaviors*, 15(1), 132-143.
- Weston, R. J.** (2010). Bioactive products from fruit of the feijoa (FEIJOA SELLOWIANA, Myrtaceae): A review. *Food Chemistry*, 121(4), 923-926.