

Universidad Autónoma Metropolitana



Casa abierta al tiempo

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Aplicación de tratamiento térmico e hidrogenfriamiento en frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) para la inhibición del oscurecimiento y conservación del color rojo

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

Q.A. ARIANA ANDREA NICIO CRUZ

COMITÉ TUTORAL:

CODIRECTORES:

DRA. CLARA PELAYO ZALDÍVAR

DR. FERNANDO DÍAZ DE LEÓN SÁNCHEZ

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA POSCOSECHA DE FRUTAS Y HORTALIZAS, UAM-I

LABORATORIO DE FISIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS, UAM-I

MEXICO D.F. A 19 DE DICIEMBRE DEL 2014

“La maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Padrón Nacional de Posgrado del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el No. De Registro 0471-0”.

Esta tesis se realizó en los Laboratorios de Biotecnología Poscosecha de Frutas y Hortalizas y Fisiología, Bioquímica y Biología Molecular de Plantas de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, bajo la dirección de los Doctores Clara Pelayo Zaldívar y Fernando Díaz de León Sánchez.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00190

Matricula: 2123800511

APLICACION DE TRATAMIENTO TERMICO E HIDROENFRIAMIENTO EN FRUTOS DE LITCHI (*Litchi chinensis* Sonn.) PARA LA INHIBICION DEL OSCURECIMIENTO Y CONSERVACION DEL COLOR ROJO

En México, D.F., se presentaron a las 11:00 horas del día 19 del mes de diciembre del año 2014 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. LAURA JOSEFINA PEREZ FLORES
- DR. JOSE RAMON VERDE CALVO
- DR. GUSTAVO MARTINEZ CASTELLANOS
- DR. IRAN ALIA TEJACAL



ARIANA ANDREA NICIO CRUZ
ALUMNA

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGIA

DE: ARIANA ANDREA NICIO CRUZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA SASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

PRESIDENTA

DRA. LAURA JOSEFINA PEREZ FLORES

VOCAL

DR. JOSE RAMON VERDE CALVO

VOCAL

DR. GUSTAVO MARTINEZ CASTELLANOS

SECRETARIO

DR. IRAN ALIA TEJACAL

México D.F. a 19 de Diciembre del 2014

El H. jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

“Aplicación de tratamiento térmico e hidrogenofriamiento en frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) para la inhibición del oscurecimiento y conservación del color rojo”

que presentó:

Q.A. Nicio Cruz Ariana Andrea

Co-directores de tesis:

Dra. Clara Pelayo Zaldívar. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología. Laboratorio de frutas y hortalizas.

Dr. Fernando Díaz de León Sánchez. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Ciencias de la Salud. Laboratorio de fisiología, bioquímica y biología molecular de plantas.

Asesor: Miguel Salvador Figueroa. Universidad Autónoma de Chiapas. Centro de Biociencias.

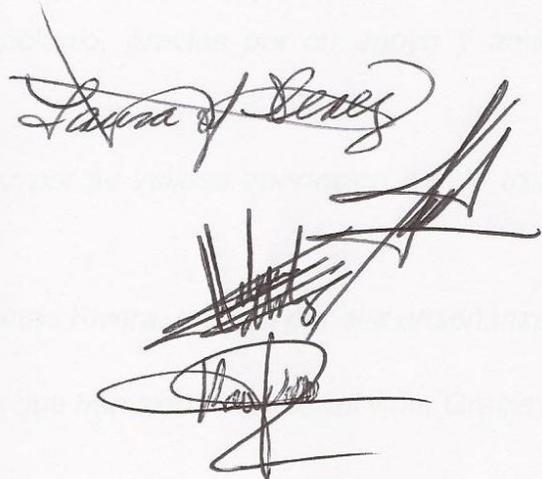
H. Jurado

Presidente: Dra. Laura Josefina Pérez Flores

Secretario: Dr. Iran Alía Tejacal

Vocales: Dr. Gustavo Martínez Castellanos

Dr. José Ramón Verde Calvo

The image shows three handwritten signatures in black ink. The top signature is the most legible, appearing to read 'Laura Josefina Pérez Flores'. Below it are two more signatures, one of which is partially obscured by the other. The signatures are written in a cursive, flowing style.

Agradecimientos

Quiero agradecer al CONACYT la beca de maestría No 283812 otorgada y a PROMEP el apoyo brindado para la realización del presente proyecto, el cual se encuentra dentro de la Red de Ciencia y Tecnología Pre y Poscosecha, integrada por los Cuerpos Académicos de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa UAM-I-CA-26, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos UAEMOR-CA-74 y de la Universidad Autónoma de Chiapas UNACH-80.

Especialmente a la Dra. Clara Pelayo y al Dr. Fernando Díaz de León, por su apoyo, paciencia y enseñanzas, nunca olvidaré todo lo que hicieron por mí. Gracias.

Principalmente a mi familia, mi esposo Fernando Tovar Chávez y mi hijo Amauri Zaid Tovar Nicio, por su apoyo incondicional, su amor y compañía. Los amo. Gracias.

A mi hermana Ericka Nicio, mi hermano Isidro Nicio y mi padre Margarito Nicio. Gracias por su apoyo y compañía.

A mi tía Enriqueta Cruz, que se encuentra al pendiente de mí. Gracias.

A mis compañeras de laboratorio Rosio, Leo, Ara y Sofía, así como a mis chicos de servicio social Alexandra y Apolonio, gracias por su apoyo y amistad, nunca los olvidaré.

A Marlene y a la Dra. Blanca Pérez por su valiosa aportación a este trabajo. Gracias.

A la Dra. Laura Pérez y el Dr. Fernando Rivera, gracias por sus enseñanzas.

A todas y cada una de las personas que han sido parte de mi vida. Gracias.

Dedicatorias

Esta tesis se la dedico a la persona que más amé en la vida y que gracias a toda una vida de trabajo y sacrificios hoy soy quien soy, mi madre Martha Elena Cruz Martínez. Empecé este camino contigo y ahora lo termino sin ti. Aunque tu presencia me hace falta, tus enseñanzas las llevo grabadas en mi mente y corazón. Siempre estarás en mis pensamientos. Gracias madre mía, algún día nos volveremos a encontrar.

Contenido

Agradecimientos	v
Dedicatorias	vi
Lista de cuadros	xi
Lista de figuras	xiii
Resumen.....	1
Introducción	3
1. Marco teórico	6
1.1 Litchi: Origen, hábitat y distribución	6
1.1.1 Aspectos taxonómicos	6
1.2 Desarrollo y maduración de los frutos	7
1.3 Morfología del fruto	7
1.3.1 Variedades comerciales (Cultivares)	9
1.3.2 Composición del fruto	10
1.4 Variación de los componentes químicos durante la maduración	11
1.4.1 Contenido de sólidos solubles totales.....	11
1.4.2 Acidez titulable.....	11
1.4.3 Compuestos aromáticos y metabolitos de fermentación.....	11
1.4.4 Antocianinas y fenoles.....	14
1.4.5 Cambios en textura.....	17

1.5	Problemáticas en el manejo poscosecha de la fruta fresca	17
1.5.1	Oscurecimiento del pericarpio	17
1.6	Parámetros de calidad utilizados para la comercialización del fruto	19
1.7	Métodos poscosecha para mantener la calidad y el color rojo del fruto	21
1.7.1	Fumigación con dióxido de azufre y acidificación.....	21
1.7.2	Enfriamiento y refrigeración	22
1.7.3	Tratamientos térmicos y su efecto en la fisiología y calidad de los productos hortofrutícolas	23
1.7.3.1	Maduración del fruto	23
1.7.3.2	Compuestos bioactivos con actividad antioxidante	24
1.7.3.3	Reducción del daño por frío (DPF)	25
1.7.3.4	Reducción de la pudrición	25
1.7.3.5	Limitaciones del tratamiento térmico (daño por calor).....	26
2.	Justificación	27
3.	Objetivo.....	28
4.	Objetivos particulares	28
5.	Hipótesis	29
6.	Materiales y Métodos	30
6.1	Materiales	30
6.2	Diseño experimental	30
6.3	Procedimientos analíticos utilizados	33

6.3.1 Pérdida de peso	33
6.3.2 Medición del color del fruto.....	33
6.3.3 Índice de encafecimiento	33
6.3.4 Determinación de sólidos solubles totales (SST)	34
6.3.5 Acidez titulable (AT)	34
6.3.6 Determinación de metabolitos de fermentación	35
6.3.7 Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de la cáscara.....	35
6.3.8 pH de la cáscara	36
6.3.9 Extracción de fenoles y antocianinas	36
6.3.10 Determinación de antocianinas totales	36
6.3.11 Determinación de fenoles.....	37
6.4 Procedimiento seguido para el análisis de las muestras y procesamiento de datos	38
6.5 Procedimiento para seleccionar la secuencia de tratamiento térmico-hidrogenfriamiento y la temperatura óptima de tratamiento térmico por el método de superficies de respuesta	39
7. Resultados y discusión.....	40
7.1 Cambio de color del pericarpio. Parámetros cromáticos L*, a* y b*. Metodología de superficies de respuesta.	40
7.2 Variables de apariencia física del fruto: L*, a* e índice de encafecimiento	45
7.2. 1 Color L* y a*	45
7.2.2 Índice de encafecimiento.....	55
7.3 Variables que afectan indirectamente al color: Pérdida de peso y pH	59

7.3.1 Pérdida de peso.....	59
7.3.2 pH.....	63
7.4 Variables asociadas al sabor: sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) cociente SST/AT y metabolitos de fermentación.....	66
7.4.1 Sólidos solubles totales (SST).....	66
7.4.2 Acidez titulable (AT).....	69
7.4.3 Cociente SST/AT.....	72
7.4.4 Metabolitos de fermentación	75
7.5 Variables asociadas a la capacidad antioxidante: compuestos fenólicos y antocianinas.....	81
7.5.1 Compuestos fenólicos.....	81
7.5.2 Contenido de antocianinas.....	84
7.5.3 Capacidad antioxidante.....	88
8. Conclusiones	91
9. Recomendaciones.....	92
10. Trabajos presentados	93
11. Bibliografía	94

Lista de cuadros

Cuadro 1. Variabilidad en las características físicas de algunos cultivares de litchi.	9
Cuadro 2. Cambios en el contenido de acetaldehído y etanol en jugo de litchi cv. Mauritius. .	13
Cuadro 3. Intervalos de calidad aceptados de los parámetros L^* , C^* y h^*	20
Cuadro 4. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases HP 5890 Serie II.	35
Cuadro 5. Valores iniciales de los parámetros L^* y a^* en los cinco experimentos en los que se aplicaron diferentes rangos de temperatura de tratamiento térmico.	45
Cuadro 6. Resultados de la variable de respuesta L^* en los cinco experimentos independientes.	48
Cuadro 7. Resultados de la variable de respuesta a^* en cinco experimentos independientes. ...	49
Cuadro 8. Preguntas de investigación planteadas. Variables de color L^* y a^* . Experimentos 3 y 5.	53
Cuadro 9. Cálculo de C^* y h^* para los mejores tratamientos aplicados en los experimentos 3 y 5.	54
Cuadro 10. Valores iniciales de IE en los litchis utilizados en los 5 experimentos independientes.	55
Cuadro 11. Resultados de la variable de respuesta IE en los cinco experimentos independientes.	57
Cuadro 12. Preguntas de investigación planteadas. Índice de encafecimiento (IE). Experimentos 3 y 5.	58
Cuadro 13. Preguntas de investigación planteadas. Pérdida de peso. Experimentos 3 y 5.	62
Cuadro 14. Preguntas de investigación planteadas. pH de la cáscara. Experimentos 3 y 5.	65

Cuadro 15. Porcentaje de sólidos solubles totales	67
Cuadro 16. Preguntas de investigación planteadas. Sólidos solubles totales (SST). Experimentos 3 y 5.....	68
Cuadro 17. Porcentaje de acidez titulable expresada como ácido málico.	70
Cuadro 18. Preguntas de investigación planteadas. Acidez titulable (AT). Experimentos 3 y 5.	71
Cuadro 19. Cociente SST/AT. Experimentos 1, 3 y 5.....	73
Cuadro 20. Preguntas de investigación planteadas. Cociente SST/AT. Experimentos 3 y 5....	74
Cuadro 21. Análisis de regresión lineal de metabolitos de fermentación efectuado para frutos tratados del tercer experimento.....	76
Cuadro 22. Análisis de regresión lineal de metabolitos de fermentación efectuado para frutos tratados del quinto experimento.....	76
Cuadro 23. Preguntas de investigación planteadas. Metabolitos de fermentación. Experimentos 3 y 5.	80
Cuadro 24. Preguntas de investigación planteadas. Cuantificación de fenoles totales. Experimentos 3 y 5.....	84
Cuadro 25. Preguntas de investigación planteadas. Cuantificación de antocianinas totales. Experimentos 3 y 5.....	87
Cuadro 26. Preguntas de investigación planteadas. Capacidad antioxidante. Experimentos 3 y 5.....	90

Lista de figuras

Figura 1. Sección transversal del epicarpio y zona superior del mesocarpio de litchi maduro. Se ilustra la separación del colénquima de la capa del esclerénquima, a partir de la cual se originan microagrietamientos. Cutícula (cu), epidermis (e), colénquima (c), esclerénquima (s), depósito de antocianina (A). Barra= 20/ μ m. Fuente: Underhill y Simons, 1999.	8
Figura 2. Grupo flavilio.	14
Figura 3. Transformaciones estructurales de las antocianinas con el pH. Fuente: Ocampo y col., 2008.	15
Figura 4. Reacción del bisulfito con las antocianinas (Badui, 1994).	16
Figura 5. Inducción del oscurecimiento por un daño producido por herida y la subsecuente producción de fenoles.	19
Figura 6. Carta de color que ilustra los parámetros cromáticos a* y b*.	20
Figura 7. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante total (H-TAA) de granada sometida a hidrotermia (45°C por 4 min) a los 0 y 45 días de almacenamiento a 2°C. Fuente: Valero y Serrano, 2010.	24
Figura 8. Procedimiento seguido en los experimentos 1 y 2 con litchi de la finca Santa Sofía, Tuxtepec, Oaxaca. DC: Después del corte, UE: Unidad experimental, HE: Hidroenfriamiento, TT: Tratamiento térmico (hidrotermia), IE: Índice de encafecimiento, PP: Pérdida de peso.	31
Figura 9. Procedimiento seguido en los experimento 3, 4 y 5 con litchi de la finca de Mayapán, Puebla. Los cuadros remarcados representan acciones en común para diferentes experimentos. DC: Después del corte, UE: Unidad experimental, HE: Hidroenfriamiento, TT: Tratamiento térmico (hidrotermia), IE: Índice de Encafecimiento, PP: Pérdida de peso.	32
Figura 10. Esquema simplificado de la reacción del radical DPPH° con la especie antioxidante (AH) y el radical (R°).	36

Figura 11. Análisis lineal de frutos sometidos a dos secuencias de choque térmico e inmersión en dos diferentes disoluciones ácidas en un intervalo de temperatura de 66-74°C. a) Parámetro L*, b) parámetro a* y c) parámetro b*. S1: hidrogenfriamiento-tratamiento térmico, S2: tratamiento térmico-hidrogenfriamiento, A1: cítrico 6% p/v y fosfórico 2% v/v, A2: HCl 1% v/v.	41
Figura 12. Ajuste lineal y cuadrático del parámetro a* después de 10 días de almacenamiento cuando se realiza la inmersión ácida.	42
Figura 13. Ajuste lineal y cuadrático del parámetro a* después de 10 días de almacenamiento cuando se realiza la inmersión en agua.	43
Figura 14. Variables L* y a* medidas en los frutos tratados en los cinco experimentos realizados. Primer experimento L* (a) y a* (b), segundo experimento L*(c) y a*(d), tercer experimento, con inmersión ácida L*(e) y a*(f) y sin inmersión ácida L*(g) y a*(h), cuarto experimento L*(i) y a* (j) y quinto experimento con inmersión ácida L*(k) y a*(l) y sin inmersión ácida L*(m) y a*(n).	52
Figura 15. Pérdida de peso de frutos de litchi en a) primer experimento (66-74°C) con inmersión ácida, b) segundo experimento (54-63 °C) con inmersión ácida, c) tercer experimento (48-60°C) con y sin inmersión ácida, d) cuarto experimento (42-54°C) con inmersión ácida, e) quinto experimento (42-60°C) con y sin inmersión ácida. Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05) entre tratamientos de acuerdo al análisis múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).	61
Figura 16. pH del pericarpio de litchi cv. Brewster tratado a 60°,54 y 48°C con a) inmersión ácida y b) sin inmersión ácida, del experimento 3. Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos por día de muestreo de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).	64
Figura 17. pH del pericarpio de litchi cv. Brewster tratado a 60°,51° y 42°C con a) inmersión ácida y b) sin inmersión ácida, del experimento 5. Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos por día de muestreo de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).	64
Figura 18. Contenido de acetaldehído en a) tercer y b) quinto experimento y etanol en c) tercer y d) quinto experimento, respectivamente.	79

Figura 19. Contenido de fenoles totales en cáscara de litchi en el tercer experimento con (a) y sin (b) inmersión ácida, y en el quinto experimento con (c) y sin (d) inmersión ácida. 83

Figura 20. Contenido de antocianinas totales en cáscara de litchi en el tercer experimento con (a) y sin (b) inmersión ácida, y en el quinto experimento con (c) y sin (d) inmersión ácida. 86

Figura 21. Capacidad antioxidante en cáscara de litchi en el tercer experimento con y sin inmersión ácida (a), y en el quinto experimento con y sin inmersión ácida (b). 89

Resumen

En el presente proyecto se evaluó el efecto del tratamiento combinado hidrotermia-hidroenfriamiento-inmersión en solución ácida aplicado en poscosecha, en la inhibición del oscurecimiento y conservación del color rojo del fruto de litchi. Se utilizó la metodología de superficies de respuesta para encontrar la temperatura óptima del tratamiento térmico y el mejor orden o secuencia de aplicación de estas operaciones para mantener el color rojo original del fruto.

Se llevaron a cabo cinco experimentos con frutos cv Brewster procedentes de Tuxtepec, Oaxaca y Lázaro Cárdenas, Puebla. En la hidrotermia se evaluaron temperaturas de 42 a 74 °C manteniendo un tiempo constante de inmersión de los frutos en el agua de 30 segundos y el hidrogenfriamiento se llevó a cabo a 10 °C hasta alcanzar 7/8 de enfriamiento (6-8 minutos). Estas operaciones se aplicaron en dos secuencias: 1) Hidroenfriamiento-tratamiento térmico (HE-TT); 2) Tratamiento térmico-hidroenfriamiento (TT-HE). Después de la aplicación de estas operaciones se prosiguió con la inmersión de los frutos en una solución ácida, evaluándose una mezcla de ácido cítrico y fosfórico al 6% p/v y 2% v/v, respectivamente y una disolución de ácido clorhídrico al 1% v/v.

Se evaluaron diversas variables de respuesta, entre ellas los parámetros cromáticos a^* , b^* y L^* medidos en el pericarpio (cáscara) de los frutos. La variable a^* fue la más informativa de los cambios de color mostrados por los frutos en el almacenamiento. Con base en esta variable y aplicando la metodología de superficies de respuesta, los dos primeros experimentos mostraron que entre más baja era la temperatura del TT, mejor se conservaba el color rojo de los frutos, localizándose en posteriores experimentos (el tres y el cinco) la región de la temperatura óptima (55-59 °C). Asimismo, se encontró que el mejor orden o secuencia de aplicación de estas operaciones fue hidrogenfriamiento seguido de tratamiento térmico (HE-TT) y que la solución que mejor conservó el color rojo de los frutos fue la mezcla de ácido cítrico al 6% y fosfórico al 2%.

La pérdida de peso debida a la transpiración de los frutos, no rebasó los límites recomendados comercialmente en ninguno de los tratamientos aplicados. El cociente sólidos solubles totales (SST)/acidez titulable (AT), que es un indicador de la calidad gustativa de los

frutos, indicó una calidad aceptable en los frutos sometidos a TT (SST/AT=42-48). Los metabolitos de fermentación (etanol y acetaldehído), que son buenos indicadores del progreso de la senescencia, no aumentaron por efecto de los tratamientos aplicados y tampoco por efecto del tiempo de almacenamiento (coeficientes de correlación lineal ≤ 0.5). El pH del pericarpio varió con el tiempo de almacenamiento, pero no guardó relación con el índice de encafecimiento (IE) ni con la pérdida de peso como sugieren algunos investigadores.

El contenido de compuestos fenólicos encontrado en el pericarpio de los frutos Brewster fue superior a lo reportado y en general, la concentración de antocianinas no guardó una relación directa con el parámetro de color a^* , pero sí con el contenido de compuestos fenólicos.

La concentración de compuestos fenólicos y antocianinas, junto con la capacidad antioxidante del pericarpio mostraron un comportamiento similar en los frutos almacenados y no se encontró un efecto significativo de los diferentes tratamientos térmicos en estas variables.

Introducción

El litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) es una fruta ovoide tropical y subtropical que pertenece a la familia de las *Sapindaceae*. Es originaria de China y el norte de Vietnam y es comúnmente exportada debido a su color atractivo y sabor exótico (Sivakumar y col., 2007). En el mundo se siembra un gran número de cultivares y las principales regiones productoras se encuentran en China, India, Tailandia, Vietnam, Indonesia, Madagascar, Sudáfrica, Australia, Estados Unidos de Norteamérica e Israel con una producción anual superior a las 2, 000,000 de toneladas (Kadam y Deshpande, 1995; Jiang y col., 2003). En México se cultiva en los estados de Oaxaca, Michoacán, Veracruz, Puebla, Nayarit, Sinaloa y San Luis Potosí, con época de cosecha de mayo a julio, siendo la variedad comercial más importante la Brewster (Rodríguez-Verástegui y col., 2009; Orta-López, 2010; Nicio-Cruz, 2012). Los últimos datos que se tienen del Anuario Estadístico de la Producción Agrícola del 2010 señalan que hasta ese año se contaba con una superficie sembrada de 4 mil ha con una producción de 22.5 mil ton y un valor aproximado de la producción de 328.6 millones de pesos.

Se ha observado que el color del pericarpio cambia durante la maduración de verde a rosado o rojo brillante debido a la disminución del contenido de clorofila y al incremento de antocianinas (Sivakumar y col., 2007; Orta-López, 2010), sin embargo la cáscara se oscurece rápidamente durante las primeras 48 h después de la cosecha si el fruto no se refrigera, lo que afecta la calidad comercial del litchi. En este proceso, las células del mesocarpio son las primeras que se tornan oscuras, seguidas por el epicarpio y endocarpio (Holcroft y Mitcham, 1996). Otros factores que afectan la calidad comercial del litchi durante su almacenamiento, transporte o vida de anaquel son el deterioro de la pulpa y las microfisuras del pericarpio, así como la entrada de patógenos a través de éstas.

El rápido oscurecimiento de los frutos se ha asociado con la pérdida de agua (Scott, y col., 1982; Underhill y Critchley, 1994), el estrés por calor (climas cálido-secos), la senescencia, el daño por frío y el ataque de patógenos e insectos (Kadam y Deshpande, 1995). El oscurecimiento se ve afectado por diversos factores de almacenamiento tales como el tiempo, la temperatura, la humedad relativa y la presencia de oxígeno (Kadam y Deshpande, 1995), y se debe en opinión de varios autores, a la rápida degradación de antocianinas, vitamina C y al aumento en la actividad de las enzimas polifenol oxidasa y

peroxidasa (Underhill y Critchley, 1994; Underhill y Critchley, 1995). Actualmente, este oscurecimiento del pericarpio se controla por medio de una fumigación con dióxido de azufre seguida de una inmersión en soluciones ácidas en muchos países exportadores (Sivakumar y col., 2007). La fumigación fue desarrollada comercialmente en Sudáfrica (Swarts, 1983; Swarts, 1985) y la aplicación de ácido clorhídrico (HCl) después del tratamiento por Underhill (1989) en Queensland, Australia y por Zauberman y colaboradores (1989) en el Instituto Volcani de Israel. Si el tratamiento se aplica adecuadamente, conserva el pericarpio de color rojo hasta por 25-30 días en refrigeración e inhibe la producción de compuestos que producen el oscurecimiento de la cáscara, destruyendo algunas plagas que infestan al litchi al momento de la cosecha (Muy Rangel, 2008; comunicación personal). Sin embargo, no se mantiene el color rojo brillante natural del litchi fresco sino un color rojo opaco artificial, el sabor se altera por reducción de la acidez de la pulpa, aumenta la pérdida de peso durante el almacenamiento y se intensifican las microfisuras de la cáscara (Sivakumar y col., 2007). Asimismo, es un tratamiento poco amigable desde el punto de vista medio ambiental pues el SO₂ que se genera durante el tratamiento se libera al ambiente y las aguas residuales ácidas contaminan el suelo y los mantos acuíferos, a menos que sean tratadas antes de su desecho. Adicionalmente, el uso poscosecha del SO₂ está limitado a uvas en los Estados Unidos y restringido en Japón y la Unión Europea (Sivakumar, y col., 2007) debido a los riesgos que presenta para los trabajadores y a las reacciones alérgicas y problemas respiratorios que puede producir en personas sensibles, motivo por el cual los residuos del fumigante se limitan en pulpa a 10 ppm en los Estados Unidos y Francia, a 20-50 ppm en otros países miembros de la Unión Europea (Sivakumar 2008, comunicación personal) y a 250 ppm en cáscara cuando éste se transporta por vía aérea (Ducamp-Collin MN,2004).

Todos estos efectos indeseables del SO₂ han llevado a la necesidad de proponer tratamientos alternativos tales como aplicaciones de vapor caliente (Kaiser y col., 1995), inmersión en soluciones calientes del fungicida benomil (Scott y col., 1982) e incluso la aplicación de recubrimientos antimicrobianos (Nicio-Cruz, 2012), pero ninguna ha resultado tan efectiva como el tratamiento con SO₂ y por lo mismo ninguna ha sido establecida comercialmente (Lichter y col., 2000). En julio del 2000 en EU, Israel Moran y Carmei Yosef, patentaron un novedoso método para la preservación de la calidad del litchi (Patente 6, 093, 433) el cual consiste en someter el fruto a un tratamiento combinado de hidrogenfriamiento, tratamiento térmico e inmersión en una disolución de ácido clorhídrico seguido de secado.

Definiendo los tiempos de inmersión, la temperatura de aplicación de cada tratamiento y la secuencia apropiada, obtuvieron un proceso simple, viable y alimentariamente aceptable que mantuvo la calidad del producto y extendió su vida de anaquel. Sin embargo, el nivel de respuesta a este proceso varía dependiendo del cultivar, la región de procedencia, las labores culturales aplicadas, el estado de madurez al momento de la cosecha y el tiempo transcurrido entre la cosecha y la aplicación del proceso, por lo que es necesario encontrar las condiciones adecuadas para cada caso.

El presente proyecto tiene como propósito encontrar la temperatura óptima de TT, la composición adecuada de la disolución ácida y la mejor secuencia de aplicación del hidrogenfriamiento y del TT para conservar el color rojo original del litchi mexicano cv Brewster cultivado en dos regiones productoras.

1. Marco teórico

1.1 Litchi: Origen, hábitat y distribución

El litchi se considera originario del sureste de China (Provincia de Kwantung), en donde se le ha cultivado por 3500 años (Castillo-Ánimas y col., 2004). La escasa viabilidad de sus semillas, limitada a muy pocos días, y la dificultad para obtener nuevas plantas a partir de ellas explican que el litchi haya permanecido durante muchos siglos en su área de origen. Los frutos llegaron al continente americano a través de Hawái, donde el chino Ching Check los introdujo en 1873. El productor más famoso de litchi es hasta la fecha el reverendo W.M. Brewster, quien entre 1903 y 1906 se dedicó a la selección de cultivares de litchi en la península de Florida. El cultivar Brewster es el más difundido en E.U.A. y México (Aserca-Ciestaam, 1996).

1.1.1 Aspectos taxonómicos

La familia Sapindaceae comprende 140 géneros y 1,500 especies. A esta familia pertenecen tres especies más que son de interés comercial: Longan (*Dimocarpus longan* ssp. *longan*), rambután (*Nephelium lappaceum* L.) y pulusán (*Nephelium matabile* Blume), todos ellos nativos del Sudeste de Asia. Existen tres subespecies de litchi:

Litchi chinensis Sonn., ssp. *chinensis*, de importancia internacional.

Litchi chinensis Sonn., ssp. *philippensis* (Radlk.) Leenh., se encuentra en Filipinas y tiene frutos no comestibles.

Litchi chinensis Sonn., ssp. *Javanensis* Leenh., es ocasionalmente cultivado en Indochina y en el Oeste de Java y tiene frutos similares a la ssp. *chinensis* (Aserca-Ciestaam, 1996; Nicio-Cruz, 2012).

1.2 Desarrollo y maduración de los frutos

El desarrollo de los frutos puede dividirse en tres etapas: El crecimiento, la maduración y la senescencia. El crecimiento implica la división y la elongación celulares, así como la creación de espacios intercelulares y está acompañado de la especialización de tejidos; la maduración suele iniciarse poco antes de que termine el crecimiento e incluye cambios bioquímicos y fisiológicos importantes; y la senescencia es un fenómeno genéticamente programado y altamente regulado durante el cual algunas rutas biosintéticas se inhiben y otras se activan e incluye cambios en la mayoría de los organelos y tejidos, particularmente en los plastidios y el tejido parenquimático de la pulpa de los frutos que conducen finalmente a la muerte del órgano (Willis y col., 1987).

La mayoría de los frutos carnosos presentan una elevación característica de la respiración, que coincide con los cambios de color, sabor y textura asociados a la maduración. A este aumento de la respiración se le llama climaterio y a los frutos que lo presentan se les llama climatéricos (Fennema, 1985; Martínez-Castellanos, 2009). El climaterio se caracteriza también por la síntesis aumentada y autocatalítica de etileno, la hormona de la maduración, la senescencia y el estrés. Sin embargo, existen frutos donde el alza en la actividad respiratoria y producción de etileno no se presenta, y por ello se denominan no climatéricos (Kays, 1991; Martínez-Castellanos 2009).

1.3 Morfología del fruto

El litchi es una fruta de hueso o drupa con un pericarpio o cáscara delgada, correosa e indehiscente (Castillo-Ánimas y col., 2004). Su tamaño es variable según el cultivar pero llega a alcanzar hasta 5 cm de largo y hasta 4 cm de diámetro, con un peso entre 12 y 25 g (Aserca-Ciestaam, 1996). Su piel es de color verde, rosa, rojo brillante, rojo opaco o rojo púrpura dependiendo del cultivar y del estado de madurez. La porción comestible, blanca y succulenta, se llama arilo y proviene del desarrollo del pedicelo o funículo de la semilla que se origina en la placenta; el arilo crece a medida que la fruta se desarrolla hasta que cubre completamente a la semilla; en pocos cultivares el arilo no cubre completamente a la semilla especialmente en períodos de estrés hídrico (Castillo-Ánimas y col., 2004).

El pericarpio o cáscara madura (1-3 mm de espesor) consta de tres capas: el epi o exocarpio (capa externa), formada por una cutícula (1-3 μm) y una epidermis; el mesocarpio (capa media) contiene la mayoría de los pigmentos (clorofilas y antocianinas) (fig. 1); y el endocarpio (capa interna) que generalmente se separa del arilo cuando la fruta madura. A diferencia de otras frutas, la cutícula del pericarpio se reduce durante el desarrollo de 8.75 μm a los 21 días después de la antesis a 1.88 μm en la fruta madura. La cáscara permanece verde y fotosintética hasta la madurez cuando las clorofilas (pigmentos verdes) disminuyen y la síntesis de antocianinas (pigmentos rojos) se inicia (Castillo-Ánimas y col., 2004).

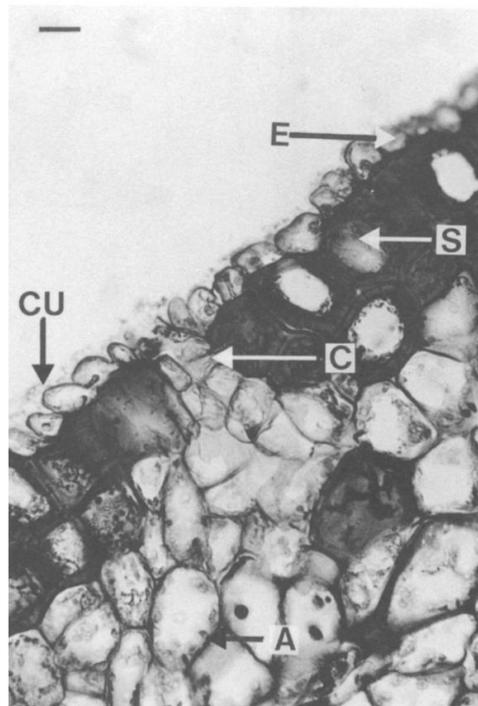


Figura 1. Sección transversal del epicarpio y zona superior del mesocarpio de litchi maduro. Se ilustra la separación del colénquima de la capa del esclerénquima, a partir de la cual se originan micro-agrietamientos. Cutícula (cu), epidermis (e), colénquima (c), esclerénquima (s), depósito de antocianina (A). Barra= 20/ μm . Fuente: Underhill y Simons, 1999.

Los litchis se producen en racimos de 2 a 30 frutos. Es importante que éstos maduren en el árbol, para alcanzar un mejor sabor, para lo cual son necesarios de 60 a 90 días después de la floración. La estación de producción en Florida y México, va de mediados de

mayo a principios de julio dependiendo de la variedad y de la zona productora (Aserca-Ciestaam, 1996).

1.3.1 Variedades comerciales (Cultivares)

En el mundo se siembran un gran número de cultivares, éstos varían en rendimiento, precocidad, comportamiento poscosecha y atributos de calidad de la fruta (color, tamaño, forma, sabor y tamaño de la semilla) (Castillo-Ánimas y col., 2004). Para su identificación, los parámetros tipo de protuberancia y textura son más confiables que aquellos que se basan en la forma del fruto, el tamaño o el sabor (Sivakumar y col., 2007). En el cuadro 1 se muestra la variabilidad en las características físicas de algunos cultivares de litchi.

Cuadro 1. Variabilidad en las características físicas de algunos cultivares de litchi.

Característica	Intervalo de variación
Peso de la fruta (g)	6.8-21.2
Porción comestible (%)	61.7-84.4
Semilla (%)	3.3-26.1
Cáscara (%)	12.2-19.5

Fuente: Castillo-Ánimas, 2004.

Las variaciones naturales en el color de las variedades se deben principalmente al tipo de antocianina presente (específicamente al grado de glicosilación de la molécula) y a las variaciones en las proporciones relativas de las diferentes moléculas. Se desconoce si todas las antocianinas presentes en el litchi tienen la misma estabilidad y si algunas imparten colores más intensos que otras (poder tintóreo) (Castillo-Ánimas y col., 2004).

1.3.2 Composición del fruto

El agua representa entre el 76 y 87% del peso de la pulpa. El contenido de proteína, como en la mayoría de los frutos, es bastante bajo (0.8-0.9%, pudiendo llegar a 1.5%). La pulpa contiene cantidades significativas de grasas, con valores situados entre 0.5 y 1.6%. Su contenido de azúcares reductores y sacarosa varía con el cultivar y oscila entre 11.8 y 20.6% (Aserca-Ciestaam, 1996). En un estudio con 4 cultivares de la India, los azúcares reductores (glucosa y fructosa) variaron entre 9.78 y 10.17 % y los no reductores (sacarosa) entre 5.6 y 6.44, ocupando los primeros aproximadamente el 60% y los segundos el 40% de los azúcares totales (Castillo-Ánimas y col., 2004). La acidez titulable (AT) es bastante variable según los cultivares, registrándose valores entre 0.20 y 1.1%. Como en la mayoría de los frutos el valor de AT decrece conforme avanza el proceso de maduración e incluso durante el almacenamiento.

El litchi tiene un valor calórico de 65 calorías/100g de pulpa y es una fuente apreciable de vitamina C (40.2-90 mg/100 g de pulpa), pero no de tiamina, riboflavina, calcio, fósforo o hierro, aunque contiene cantidades importantes de potasio. El fruto maduro carece totalmente de provitamina A y sólo algunos cultivares son buena fuente de niacina (Aserca-Ciestaam, 1996).

Con respecto a pigmentos, las antocianinas se localizan en la cáscara, específicamente en las vacuolas del mesocarpio y en menor grado en la epidermis. Las principales antocianinas identificadas en el litchi son: cianidina-3- rutinósido, 3-glucósido (Lee y Wicker, 1991; Zhang Quantick y Grigor, 2000) y 3-galactósido (Sarni-Manchado y col., 2000); malvidina-3 acetil-glucósido (Lee y Wicker, 1991); quercitina-3-rutinósido (Sarni-Manchado y col.,2000) y pelargonidina-3-glucósido (Lee y Wicker, 1991). Su síntesis ocurre durante la maduración y después de ésta, se presenta una gradual degradación asociada a la senescencia.

El contenido de fenólicos, compuestos antioxidantes que contribuyen al carácter funcional de una fruta, es más alto en la cáscara o pericarpio (1.4 mg/ g) que en la pulpa o arilo (0.5 mg/g) y varía con el cultivar, aunque existen controversias respecto a la concentración presente en la pulpa. Los fenólicos importantes en litchi son ácidos tánico,

cafeico, vanílico, salicílico, gentísico, β -hidroxi-benzoico y 2 metil-resorcinol (Castillo-Ánimas y col., 2004).

1.4 Variación de los componentes químicos durante la maduración

Durante la maduración del fruto, mientras éste todavía permanece unido a la planta, ocurren cambios de sabor, aroma, color y textura que hacen que el fruto adquiera atributos de calidad y se vuelva comestible. En los siguientes apartados se explica cómo varían algunos de los principales componentes del litchi.

1.4.1 Contenido de sólidos solubles totales

Durante la maduración los sólidos solubles totales (SST) y los azúcares incrementan (Castillo-Ánimas y col., 2004). Se ha observado que los SST son un buen indicador de calidad pues a ellos contribuyen mayoritariamente los azúcares, seguidos de los ácidos orgánicos. Los azúcares tienen diferente grado de dulzura (glucosa = 0.74, fructosa = 1.6 y sacarosa = 1.0) y la proporción de cada uno depende del grado de madurez del fruto y del cultivar (Castillo-Ánimas col., 2004).

1.4.2 Acidez titulable

La AT y los ácidos orgánicos disminuyen durante el desarrollo y la maduración y como el pH guarda una relación inversa con estos cambios, el pH aumenta, por lo cual, la AT, la concentración de ácidos orgánicos y el pH son buenos indicadores de la acidez del jugo (Castillo-Ánimas y col., 2004).

1.4.3 Compuestos aromáticos y metabolitos de fermentación

Con la maduración, aumenta el número y la producción de compuestos asociados al aroma, de los cuales se han detectado a la fecha en litchi aproximadamente 60. El fruto posee un aroma complejo determinado por la interacción de las notas aromáticas de al menos 20 compuestos relevantes: aquellos con aroma floral (óxido cis-rose y 2-feniletanol), los que imparten notas cítrico-afrutadas (geraniol, β -damascenona, linalool, acetato de isobutilo), los que poseen un aroma a nuez-maderoso (2-acetil-2-tiazolina, guayacol γ -nonalactona), los responsables de notas herbáceas (2-nonenal y óxido de linalool) y aquellos con aroma dulce

(furanol). Como acompañantes y para agregar más complejidad al aroma se encuentran los ácidos fenil acético, isovalérico e hidroxí-cinámico. El aroma natural del litchi fresco, descrito en su conjunto como cítrico/rosa-floral, comienza a cambiar tan pronto la fruta se cosecha. Por esta razón sólo aquellas personas que residen en las zonas productoras están familiarizados con el aroma original de la fruta fresca (Castillo-Ánimas y col., 2004).

La producción de metabolitos de anaerobiosis como el acetaldehído y el etanol ocurre en la fruta que madura en el árbol y en la cosechada y almacenada. El acetaldehído se forma a partir del piruvato por medio de la enzima piruvato descarboxilasa, e inmediatamente se forman dos productos intermediarios, el etanol y la acetil coenzima A (CoA) por acción de la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) (Cossins, 1978). La Acetil CoA es el precursor de los ésteres de acetato, mientras que la acil-CoA es el precursor de ésteres de cadena más larga (Gilliver y Nursten, 1976; Pesis, 2005).

En algunos frutos como el durazno, se ha reportado que la producción de acetaldehído y etanol puede ser un buen indicador del tiempo óptimo de cosecha, debido a que sus concentraciones aumentan conforme progresa la maduración (Pesis, 2005); se ha sugerido también usar el contenido de etanol en jugo junto con el cociente SST/AT como índice de corte (Davis, 1971). En litchi cv. Mauritius se reportó un incremento en la producción de acetaldehído y etanol durante la maduración en el árbol y que la fruta de última temporada almacenada en atmósfera modificada producía una mayor cantidad de estos metabolitos que la cosechada tempranamente (Pesis y col., 2002).

Después de la cosecha, el acetaldehído y el etanol pueden acumularse en fruta sobremadura mantenida en condiciones aeróbicas (Pesis, 2005). Una posible explicación a este hecho es que la actividad de la mitocondria se reduce debido a cambios en la estructura de las membranas internas y entonces las células no son capaces de producir suficiente energía, por lo que para compensar entra en acción la respiración anaeróbica, la cual ocurre en el citoplasma y no requiere un organelo (Pesis, 2005). Otra explicación es que en etapas avanzadas de senescencia se modifica la permeabilidad de las membranas celulares y hay una migración de líquidos del interior de las células a los espacios extracelulares, lo que dificulta la difusión y disminuye la concentración de O₂ disponible para las células.

El nivel de oxígeno al cual la fermentación comienza y el etanol inicia su acumulación se conoce como Efecto Pasteur (Fidler y North, 1971), nivel mínimo de oxígeno (LOL por sus siglas en inglés; Beaudry, 1993) o Punto de Inducción de la Fermentación (FIP por sus siglas en inglés; Petracek y col., 2002) y varía de acuerdo a la especie y cultivar, observándose en general una menor tolerancia para frutas de origen tropical y subtropical.

En el cuadro 2 se observa como la producción de metabolitos de fermentación aumenta cuando el acceso de aire al interior de los envases se limita.

Cuadro 2. Cambios en el contenido de acetaldehído y etanol en jugo de litchi cv. Mauritius.

Metabolito de fermentación	Recién cosechado	Después de 4 semanas en MAP, 1.5±0.5°C, HR>90% y 3 días a 20°C	
		Micro-MAP	Macro-MAP
Acetaldehído	2.35-3.35µL/L jugo	21-25nmol/g	3-3.9 nmol/g
Etanol	1.46-6.42µL/L jugo	140-170 nmol/g	52-55 nmol/g

MAP- Envasado en atmósfera modificada. Micro-MAP: Frutos envasados en bolsas de polietileno con micro-perforaciones; Macro-MAP: Frutos envasados en bolsas de polietileno con macro-perforaciones. Fuente: Pesis y col., 2002.

1.4.4 Antocianinas y fenoles

Al igual que los flavonoides y las betalainas, las antocianinas son pigmentos hidrosolubles que se encuentran como glucósidos; están constituidos por una molécula de antocianidina (aglucón) a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estos aglucones es el ion flavilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B) (fig. 2) (Badui, 1994):

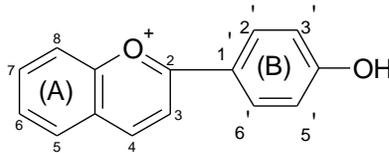


Figura 2. Grupo flavilio.

El color de las antocianinas depende de los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio; (Badui, 1994). Así mismo, debido a una deficiencia de electrones del núcleo de flavilio, el color de las antocianinas depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran; a pH ácidos adquieren una estructura oxonio estable de catión flavilio rojo como se muestra en la figura 3 (I); cuando se incrementa el pH, se promueve la desprotonación del catión flavilio y la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la formación quinoidea azul a pH 7 o superior (II); y la hidratación del flavilio produce la base carbinol incolora (III). Los cambios fisiológicos durante la maduración de los frutos llevan consigo alteraciones en el pH, y por tanto, modificaciones en el color del tejido vegetal (Badui, 1994).

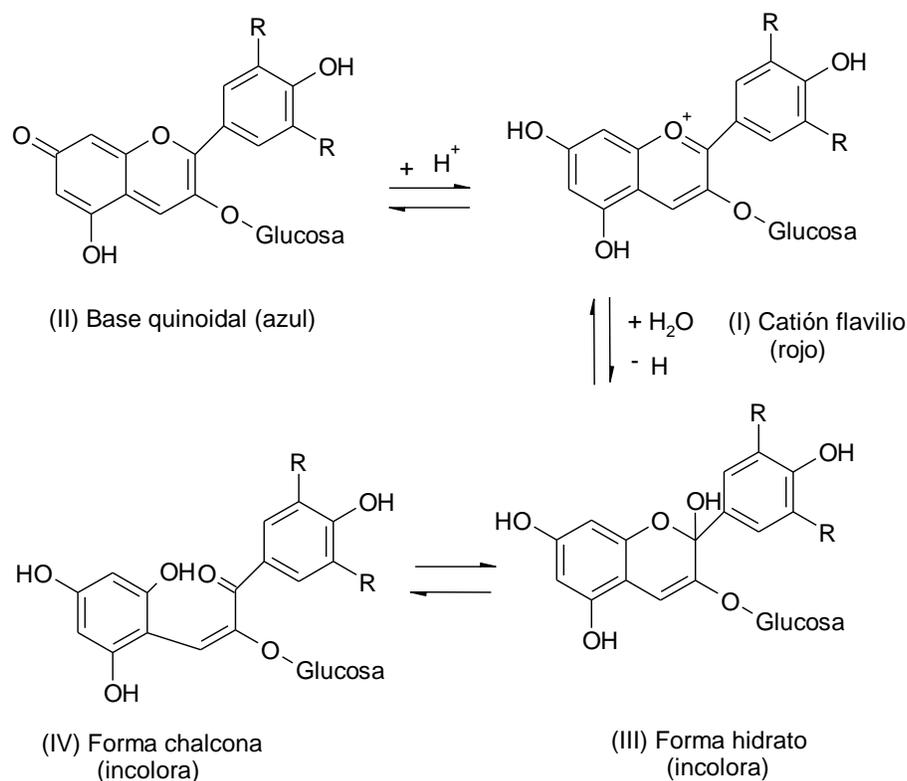


Figura 3. Transformaciones estructurales de las antocianinas con el pH. Fuente: Ocampo y col., 2008.

El oxígeno disuelto tiene un efecto negativo en la estabilidad de las antocianinas y el anhídrido sulfuroso y los sulfitos un efecto decolorante sobre estos pigmentos pues se producen formas sulfónicas en las posiciones 2 y 4 que son incoloras (fig. 4). La reacción es reversible por lo que la eliminación de estos agentes con ácidos o mediante calor regenera la coloración. Estas formas sulfónicas ejercen paralelamente un efecto estabilizador sobre el enlace glucosídico y evitan la hidrólisis de la antocianina (Badui, 1994).

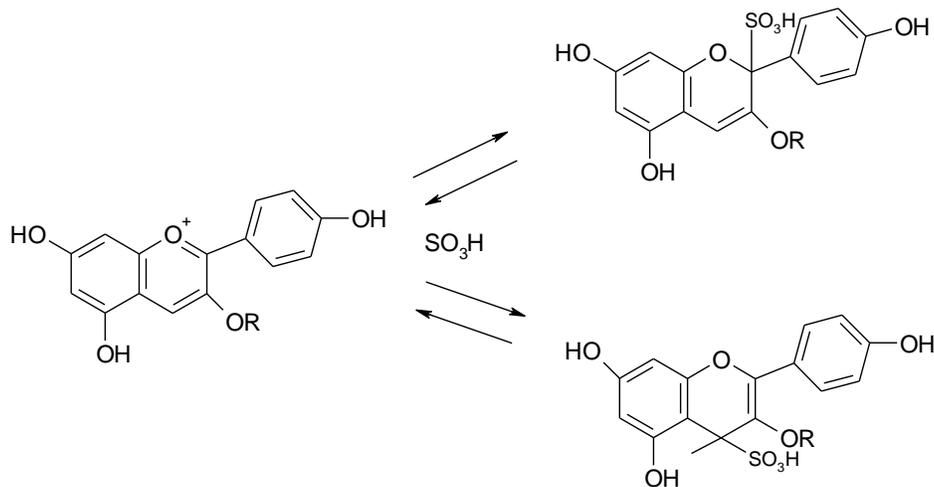


Figura 4. Reacción del bisulfito con las antocianinas (Badui, 1994).

Los compuestos fenólicos son pigmentos generalmente amarillos que no contribuyen de manera importante al color de los alimentos, pero son responsables de la astringencia de diversos productos. Tienen un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo, el cual confiere la capacidad de neutralizar especies reactivas de oxígeno, por lo que los compuestos fenólicos ayudan al cuerpo a protegerse del estrés oxidante. Adicionalmente, los fenoles han sido descritos como poseedores de actividad anticancerígena y antimutagénica. (Gayosso-García, 2011).

Recientemente, se ha publicado que el pericarpio del litchi contiene una gran cantidad de derivados de flavan-3-ol, incluyendo (-)-epicatequina y proantocianidinas A1, A2, B2 Y B4 (Liu y col., 2007; Zhao y col., 2006) así como ácido 2-(2-hidroxi-5-(metoxi carbonil) fenoxi) benzoico, kaempferol, isolariciresinol, butilato de hidroxitolueno (BHT, el cual se encontró como antioxidante natural y no sintético como usualmente es conocido) y 3,4-dihidroxibenzoato (Jiang y col., 2013). Wang y colaboradores en el 2011, evaluaron el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en cáscara seca de 10 diferentes cultivares de litchi de China en dos años de producción y encontraron que este contenido varió entre 51 a 102 g de fenoles totales (eq. a ácido gálico)/kg de cáscara.

1.4.5 Cambios en textura

La textura del litchi cambia con la maduración, la pulpa se vuelve más jugosa y blanda debido a cambios en protopectina y probablemente también, en otros componentes de pared celular. Como responsables de la hidrólisis de protopectina durante la maduración se han identificado a la pectin-metilesterasa y a la poligalacturonasa. Cuando la actividad de estas enzimas se reduce, la vida de anaquel del litchi puede incrementarse en 4 días (Castillo-Ánimas y col., 2004).

1.5 Problemáticas en el manejo poscosecha de la fruta fresca

La vida poscosecha natural del litchi sin empaque es de menos de 72 h a 17-21°C. Durante el transporte ocurre la desecación del fruto y la pérdida del color rojo, desarrollándose en su lugar un color café oscuro a negro debido a la oxidación de los polifenoles. En refrigeración si la humedad es baja (65-70%), el oscurecimiento también se inicia dentro de los primeros tres días de almacenamiento. Aunque este cambio de color no afecta la calidad comestible del arilo, deteriora su apariencia estética para el mercado doméstico y de exportación (Sivakumar y col., 2007).

1.5.1 Oscurecimiento del pericarpio

El oscurecimiento del pericarpio está relacionado no sólo con la pérdida de agua sino también con la incidencia de heridas y daño mecánico, el almacenamiento a bajas temperaturas (daño por frío), el ataque de patógenos o plagas y el proceso natural de senescencia (Sivakumar y col., 2007).

El proceso empieza en las protuberancias del pericarpio y posteriormente se extiende a la superficie entera del fruto, hasta que eventualmente la cáscara se vuelve seca y quebradiza (Underhill y Critchley, 1995).

Underhill y Critchley (1996) sugirieron que el pH juega un papel central en el mecanismo de oscurecimiento del pericarpio pues la desecación de éste tiende a incrementar su pH (de 4.15 a 4.52, después de 48h a 25°C y HR 60%), lo que afecta la

proporción entre las formas flavilio e incolora carbinol de las moléculas de antocianina (Sivakumar y col., 2007).

Otro mecanismo para explicar el oscurecimiento del pericarpio es la oxidación de los fenoles que da lugar a pigmentos poliméricos (o-quinonas) y la degradación de antocianinas por las enzimas polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD). La PPO se ha aislado de la cáscara de litchi, reportándose un pH y temperatura óptima de 6.5 y 70°C para su actividad (Jiang y col., 1997b; Jiang y col., 2004). También se ha reportado que hay una baja actividad de la PPO durante la maduración y un incremento en su actividad durante los primeros 2 días de almacenamiento, sin que haya un cambio significativo en el contenido de antocianinas (Lin y col., 1998a). De acuerdo a Zhang y col. (2001) el índice de oscurecimiento del pericarpio incrementa mientras el contenido de antocianinas disminuye, observándose una reducción en la concentración de cianidina-3-glucósido, la cual representa el 91.9% del total de antocianinas en frutos de litchi.

En tejidos intactos, la compartimentalización celular mantiene la PPO separada de las antocianinas. Con la deshidratación ocurre una pérdida rápida de la integridad de las membranas, entrando en contacto la PPO con los compuestos fenólicos e iniciándose las reacciones de oscurecimiento. El mecanismo del oscurecimiento mediado por la PPO y POD es complejo e indirecto. En el 2004, Jin y colaboradores sugirieron que las antocianinas son hidrolizadas por la antocianasa formando antocianidinas, las cuales son a su vez oxidadas por la PPO y/o POD, reacciones que tienen lugar en las células del pericarpio. Estos autores observaron una actividad alta de la antocianasa en el pericarpio del litchi almacenado, lo que sugirió que la enzima está involucrada en el proceso de oscurecimiento durante el almacenamiento del fruto. Asimismo, se sugirió que el oscurecimiento enzimático puede ser causado por POD y la degradación de antocianina puede tener lugar en presencia de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y fenoles simples como el guayacol, posiblemente mediante la reacción antocianasa-antocianidina-fenol-peróxido (Sivakumar y col., 2007).

En lechuga iceberg, Salveit (2000) investigó el efecto del daño físico y de la aplicación de TT en los tejidos de hoja y su relación con el metabolismo de fenoles y la inhibición del oscurecimiento. De acuerdo con este investigador, el daño físico produce una elevación en la actividad de la enzima fenil alanina amonio liasa (PAL, por sus siglas en inglés) seguida de la acumulación de compuestos fenólicos (ácido clorogénico, ácido

isoclorogénico, ácido cafeil tartárico y ácido dicafeil tartárico) y la aparición del oscurecimiento. Sin embargo, cuando se aplica un estrés térmico (TT), hay una atenuación del oscurecimiento que es atribuido a una producción preferencial de proteínas de choque térmico (HSP, por sus siglas en inglés) sobre la síntesis y actividad de la enzima PAL, enzima clave en la ruta de biosíntesis de los compuestos fenólicos (ver fig. 5).

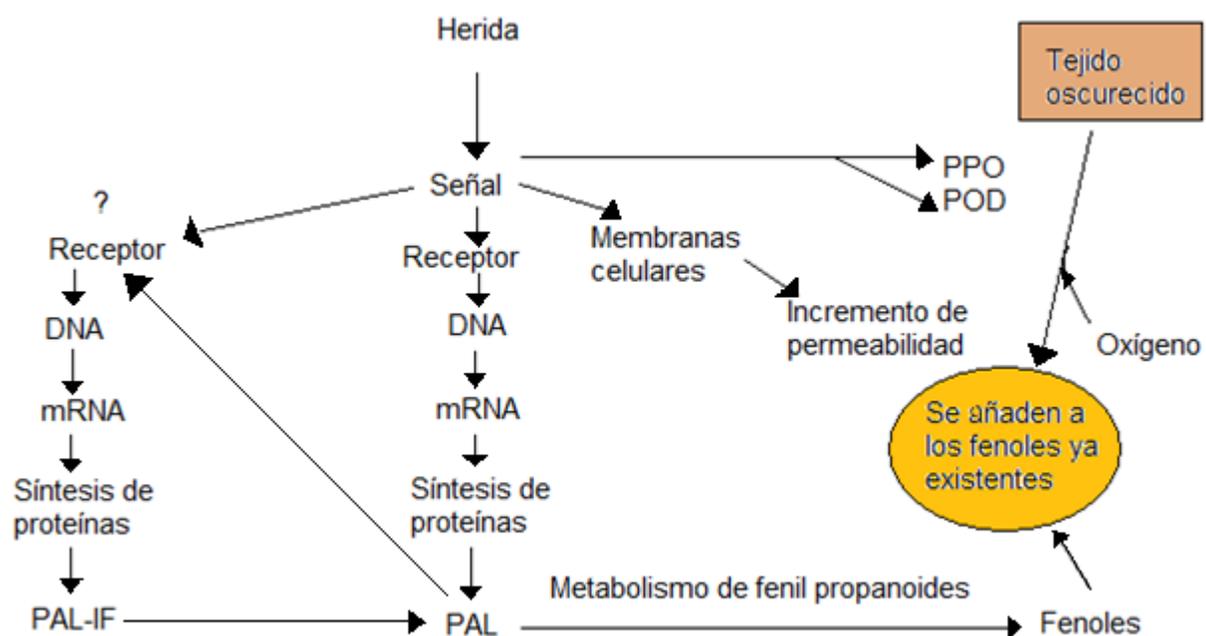


Figura 5. Inducción del oscurecimiento por un daño producido por herida y la subsecuente producción de fenoles.

1.6 Parámetros de calidad utilizados para la comercialización del fruto

Entre los parámetros de calidad más utilizados en litchi tenemos la medición de los parámetros cromáticos L*, C*, h* o bien L*, a*, b*; el índice de oscurecimiento o encafecimiento, la medición de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), el cociente SST/AT y la pérdida de peso.

Con respecto al color de la cáscara, los rojos fuerte y claro son aceptables pues son típicos de la fruta fresca, aunque el primero es preferido sobre el segundo (Pelayo-Zaldívar y col., 2006).

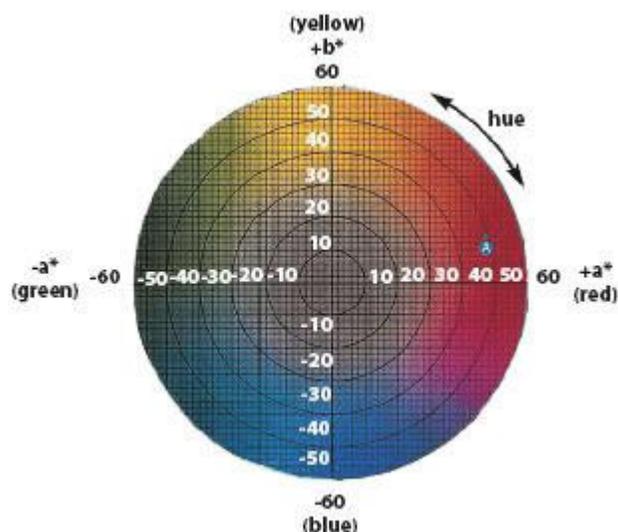


Figura 6. Carta de color que ilustra los parámetros cromáticos a^* y b^* .

Cuadro 3. Intervalos de calidad aceptados de los parámetros L^* , C^* y h^* .

Color	L^*	C^*	h^*
Rojo fuerte	Es difícil precisar un valor	> 21 Vívido	≤ 30
Rojo claro	Es difícil precisar un valor	11-21 Opaco	31-34
Frutos inaceptables	≤ 20 Oscuro	≤ 20 Opaco	≥ 35 El color típico se ha perdido

Fuente: Pelayo y col. (2006).

Con respecto al índice de daño, se propuso una escala de 4 grados, en donde 0, 1 y 2 son frutos aceptables y 3 inaceptables, y se rechazan lotes de frutos cuando un porcentaje igual o mayor al 10% se encuentra en categoría 3 en el caso de mancha café y en categoría 2 en el caso de mancha negra (Pelayo y col., 2006).

Con datos de la literatura y un trabajo experimental preliminar, estos mismos autores propusieron valores aceptables de porcentaje de SST y acidez titulable en fruta recién cosechada, fluctuando éstos entre 14 y 20 para el primer parámetro y de 0.2-1.0 para el segundo (expresado en porcentaje de ácido málico). Asimismo, propusieron un cociente SST/AT de 20 a 100 para fruta almacenada. Según otros autores y sólo para el caso de fruta recién cosechada, se proponen además otros valores aceptables del cociente SST/AT de 35-40 y de 30-40.

Respecto a la pérdida de peso, estos mismos autores señalan una calidad aceptable si ésta es del 3 al 5% con un límite de 10%. Sin embargo, estos datos pueden ser ajustados con base en los resultados de índice de encafecimiento, ya que cuando la cáscara pierde agua se oscurece o mancha.

1.7 Métodos poscosecha para mantener la calidad y el color rojo del fruto

1.7.1 Fumigación con dióxido de azufre y acidificación

Este proceso se encuentra establecido en países como Sudáfrica, China e Israel y consiste en quemar azufre en polvo para generar dióxido de azufre gaseoso, el cual se deja en contacto con el litchi por cierto tiempo; posteriormente, se realiza la inmersión de los frutos por 1-3 minutos en una solución de HCl grado alimentario al 1-4% para que los derivados sulfónicos de las antocianinas regresen a su forma flavilio y entonces el litchi se refrigera para conservar su calidad y limitar el crecimiento de microorganismos patógenos. En estas condiciones el color rojo del fruto se desarrolla aproximadamente en 2-7 días dependiendo de la temperatura de almacenamiento (Underhill y col., 1992). En el 2005, Hu y colaboradores trabajando con el cv Guiwei, encontraron que la inmersión en ácido clorhídrico afectaba además la actividad de la antocianasa.

Otras formulaciones ácidas recomendadas por diversos investigadores en sustitución del ácido clorhídrico son el ácido cítrico y fosfórico en mezcla o separados (Muy Rangel, 2008; Benitez, 2008 comunicación personal; Glusman, 2009, comunicación personal). En Israel se está aplicando una mezcla de ácido cítrico al 30% (p/v) y ácido fosfórico al 10% (v/v) con resultados satisfactorios (frutos de color rojo atractivo y sin daños por hundimiento

del pericarpio) (Glusman, 2009). En México, investigadores de la subsección Culiacán del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) recomiendan ácido cítrico al 12% v/v (Muy Rangel, 2008). En el año 2009, nuestro grupo de trabajo adaptó el proceso de fumigación con dióxido de azufre al litchi mexicano variedad Brewster, corroborándose que una inmersión en ácido clorhídrico fue efectiva para que los frutos recuperaran su color rojo; sin embargo, el grado alimentario de este ácido es bastante costoso y cuando se aplica a litchis de la tercera temporada de cosecha provoca el hundimiento de la cáscara hasta en un 30%. Lo anterior justifica la evaluación de otros ácidos grado alimentario, de bajo costo y menos agresivos.

En el año 2010, Orta-López trabajando con el cv Brewster mexicano reportó que aunque las disoluciones con diversas proporciones de ácidos cítrico y fosfórico con un $\text{pH} \leq 2$ promovieron un buen desarrollo del color, el mejor resultado se obtuvo con la mezcla ácido cítrico 30% p/v y ácido fosfórico 10% v/v, la cual sin embargo, es costosa y no amigable con el ambiente por las concentraciones tan elevadas de ácidos que emplea.

1.7.2 Enfriamiento y refrigeración

El litchi se cosecha a finales de primavera y principios de verano en climas tropicales y subtropicales en donde las temperaturas de campo pueden exceder los 35°C , por lo que el fruto acumula una cantidad considerable de calor de campo que acelera los procesos fisiológicos y su descomposición. El propósito del enfriamiento es remover rápidamente el calor de campo de los productos frescos. Entre los métodos de enfriamiento disponibles comercialmente se encuentra el hidrogenfriamiento, el cual es simple y de bajo costo, además el agua tiene una alta conductividad térmica y un contacto uniforme con la superficie del producto sumergido. Otro beneficio del hidrogenfriamiento es que no provoca deshidratación, al contrario incrementa el contenido interno de agua lo cual ayuda a mantener la integridad y la compartimentalización celulares (Liang y col., 2012).

Después del enfriamiento se aplica refrigeración a una temperatura que depende del cultivar. El transporte refrigerado de 0 a 2°C y una humedad relativa entre 85 y 90%, conserva la apariencia del litchi cv. Mauritius durante más tiempo (10 semanas) (Aserca-Ciastaam, 1996). El almacenamiento de los frutos cv. Brewster en refrigeración a 7°C , con una humedad relativa entre 85 y 90%, puede conservar el litchi de 4 a 6 semanas (Pelayo y

col., 2005). Similarmente, el litchi puede tener una vida de almacenamiento de 30 días si se refrigera a una temperatura de 3-5°C (Jiang y col., 2003).

1.7.3 Tratamientos térmicos y su efecto en la fisiología y calidad de los productos hortofrutícolas

Después de la primera guerra mundial los tratamientos térmicos se aplicaron comercialmente para el control de enfermedades e insectos en cultivos hortofrutícolas (Valero y Serrano, 2010). Sin embargo, con el desarrollo de los fungicidas sintéticos selectivos y sistémicos que resultaban más efectivos y menos costosos, el uso de los tratamientos térmicos fue abandonado. En la actualidad, existe una gran preocupación por el uso de fungicidas sintéticos debido a los daños que ocasionan a la salud y al ambiente, y debido a que su uso prolongado ha incrementado la proliferación de cepas resistentes (Valero y Serrano, 2010). En este sentido, los tratamientos térmicos son inocuos y amigables para el ambiente, además recientemente se ha encontrado que tiene otros efectos benéficos (Valero y Serrano, 2010).

Los efectos benéficos de los tratamientos térmicos se encuentran bien documentados: 1) retraso en el proceso de maduración (Saltveit, 2000, Ding y col., 2001, Vicente, 2004, Valero y Serrano, 2010), 2) reducción de ataque por patógenos (Wang y col., 2010), 3) disminución en la incidencia de daño por frío (DPF) por inducción de termotolerancia y protección de tejidos vegetales a la exposición a temperaturas nocivas a través de la participación de las proteínas de choque térmico (Jing y col., 2009), 4) reducción del oscurecimiento enzimático y 5) control de insectos y esporas en frutas y hortalizas (González-Aguilar y col., 2000; Vicente, 2004)

1.7.3.1 Maduración del fruto

En general, los tratamientos térmicos retardan algunos procesos relacionados con la fisiología del fruto (producción de etileno y tasa de respiración) y el proceso de deterioro (firmeza, evolución del color, incremento en el contenido de azúcares y reducción en la acidez). Algunos autores han reportado que las células sometidas a estrés térmico reprograman su maquinaria transcripcional, disminuyendo la síntesis de proteínas involucradas en la maduración e incrementando las de choque térmico (Saltveit, 2000, Vicente, 2004,

Ding y col., 2001). Sin embargo, en ocasiones los parámetros de maduración se alteran o evolucionan más rápido debido a que el calor induce daño al tejido con un efecto negativo en la calidad (Valero y Serrano, 2010).

1.7.3.2 Compuestos bioactivos con actividad antioxidante

Se ha postulado que el tratamiento térmico actúa como elicitador físico afectando la biosíntesis de fitoquímicos (fig. 7) y las propiedades antioxidantes de los cultivos hortofrutícolas (Schreiner y Huyskens-Keil, 2006). Por lo anterior, esta tecnología simple y no contaminante, puede aumentar en los frutos sus propiedades funcionales y nutritivas (Mirdehghan y col., 2006). Sin embargo, se han reportado amplias variaciones en este comportamiento debido al tipo de fruto, tratamientos térmicos y condiciones de almacenamiento.

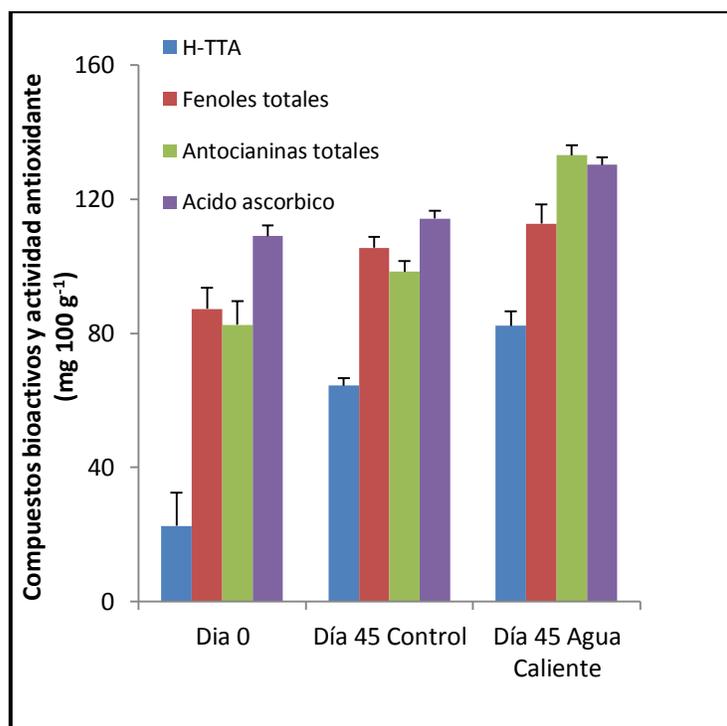


Figura 7. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante total (H-TAA) de granada sometida a hidrotérmica (45°C por 4 min) a los 0 y 45 días de almacenamiento a 2°C. Fuente: Valero y Serrano, 2010.

En litchi, el efecto de los tratamientos térmicos en el contenido de pigmentos es todavía incierto. De acuerdo con Sivakumar y Korsten (2006), este tratamiento incrementó la actividad de la antocianasa en el pericarpio lo que provocó un rápido cambio de color y subsecuentemente, una disminución en el contenido de antocianinas. Sin embargo, en tomate, (35°C, 12h), melón (55°C, 5 min) y mango (42°C, 48h) inhibió la actividad de la polifenol oxidasa y peroxidasa, lo que retardó la degradación de antocianinas y protegió a los frutos de los cambios de color, manteniendo a las antocianinas en su forma roja colorida con una alta actividad antioxidante durante el proceso de almacenamiento, proponiéndose que el efecto positivo se debió a la inducción de la actividad de la superóxido-dismutasa (SOD) (Schreiner and Huyskens-Keil, 2006).

1.7.3.3 Reducción del daño por frío (DPF)

Los síntomas de daño por frío ocurren cuando los frutos se almacenan a temperaturas subóptimas lo que afecta negativamente la calidad de los frutos. Un tratamiento térmico aplicado antes del almacenamiento se considera un método efectivo para contrarrestar los efectos indeseables de las temperaturas bajas en productos sensibles al daño por frío. Por ejemplo, Salveit (1998) encontró que la aplicación de tratamientos térmicos redujo la sensibilidad al DPF de pepino; asimismo, se ha reportado que la aplicación de tratamientos térmicos por 2-3 días a 30°C en tomates permite el almacenamiento de los mismos hasta por 2 meses a 2 °C sin sufrir DPF. En manzana la aplicación de tratamientos térmicos permitió inhibir la escaldadura superficial y a 35-40°C en jitomate se observó una reducción en la fuga de electrolitos y se mantuvo la fluidez de las membranas.

1.7.3.4 Reducción de la pudrición

Hay diferentes modos de acción de los tratamientos térmicos para el control de la pudrición de frutos:

- 1.- Retardo del crecimiento de patógenos y/o de la esporulación. La inhibición en el crecimiento de patógenos depende tanto de la temperatura como de la duración del tratamiento térmico. Además, el tipo de hongo influye en su tolerancia específica al calor.

2.- Incremento en la respuesta del hospedero, la cual involucra diferentes mecanismos como el incremento en la biosíntesis y acumulación de fitoalexinas (que son componentes antimicrobianos específicos), incremento en la lignificación de la pared celular (lo que provee una barrera mecánica contra la invasión de patógenos) e incremento de los niveles de enzimas específicas capaces de hidrolizar la pared celular de los hongos.

3.- Sellado de microfisuras. Durante la senescencia, se desarrollan fracturas en la superficie epicuticular, las cuales pueden servir como posibles sitios de invasión de patógenos. La aplicación de tratamientos térmicos puede eliminar estas fisuras probablemente por la fusión parcial de la cera natural de la cutícula y consecuentemente la oclusión de estas fisuras y microheridas; también es posible que el tratamiento térmico cambie la composición física de la cera haciéndola más plástica de tal manera que pueda ocluir las microfisuras.

1.7.3.5 Limitaciones del tratamiento térmico (daño por calor)

Hay situaciones en donde una inapropiada aplicación de tratamientos térmicos conduce a daño tisular. Algunas veces la diferencia entre controlar la calidad poscosecha y causar daño al producto es cuestión de pocos grados. Los síntomas de la fruta dañada pueden ser tanto externos (oscurecimiento de la piel, picado, amarillamiento y desarrollo de pudrición) como internos (pobre desarrollo del color, ablandamiento anormal, falta de hidrólisis del almidón, oscurecimiento de la pulpa y desarrollo de cavidades internas). Estas alteraciones acompañadas por pérdida de peso pueden confundirse con el daño por frío.

La tolerancia a la exposición del calor es influenciada por la especie, cultivar, estado de maduración, condiciones de crecimiento, manejo poscosecha y aplicación del tratamiento térmico.

2. Justificación

El principal problema poscosecha que enfrenta el litchi es la pérdida del color rojo y el oscurecimiento del pericarpio, y aunque estos cambios no afectan adversamente su calidad interna, sí limitan su comercialización tanto en mercados domésticos como externos. La fumigación con dióxido de azufre se aplica actualmente a escala comercial para evitar este problema; sin embargo, puede ocasionar problemas de salud entre los consumidores sensibles al fumigante y es un tratamiento que contamina el ambiente. Lo anterior genera la necesidad de desarrollar un tratamiento alternativo inocuo y menos contaminante que conserve el color rojo, limite el oscurecimiento del pericarpio y conserve la calidad del fruto. El tratamiento combinado hidrotermia-enfriamiento seguido de inmersión de los frutos en disoluciones ácidas reúne estas características. El presente proyecto plantea el establecimiento de condiciones específicas para la aplicación de este proceso.

3. Objetivo

- Establecer condiciones específicas para la aplicación del proceso hidrotermia-enfriamiento-inmersión de los frutos en disoluciones ácidas en frutos mexicanos de la variedad comercial Brewster y evaluar su efecto en los atributos de calidad de litchi, con énfasis en el color del pericarpio.

4. Objetivos particulares

- Determinar la temperatura del tratamiento térmico y el orden o secuencia de aplicación de la hidrotermia y del hidrogenfriamiento que permitan conservar el color rojo original del fruto.
- Evaluar disoluciones ácidas que conserven el color rojo del fruto sin provocar daño fisiológico a la cáscara.
- Determinar el efecto de los tratamientos aplicados en los atributos de calidad de los frutos: color, índice de encafecimiento y pH del pericarpio; pérdida de peso por transpiración de los frutos; sólidos solubles totales-SST, acidez titulable-AT, cociente SST/AT y producción de metabolitos de fermentación en el jugo, así como en el contenido de antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante del pericarpio.

5. Hipótesis

- La aplicación de la secuencia hidrogenfriamiento-tratamiento térmico o tratamiento térmico-hidrogenfriamiento seguida de la inmersión de los frutos en disoluciones ácidas y el almacenamiento refrigerado a 7°C, logrará un efecto benéfico sobre las características de calidad del litchi que permitirá la sustitución del actual tratamiento con dióxido de azufre.

6. Materiales y Métodos

6.1 Materiales

Se utilizó litchi cv. Brewster procedente de las fincas Santa Sofía y Mayapán, ubicadas en Tuxtepec, Oaxaca y Lázaro Cárdenas, Puebla cosechado el 27 de mayo y el 13 y 27 de Junio del 2013, respectivamente.

6.2 Diseño experimental

Se realizaron cinco experimentos con la fruta de ambas fincas. La metodología empleada en cada uno se resume en las figuras 8 y 9. Se realizó la recolección y selección del fruto por uniformidad de color y ausencia de daños, y se prosiguió con la formación de unidades experimentales (UE). Cada UE constó de 10 frutos de litchi colocados en envases fabricados con ácido poliláctico, capacidad de 250 g y de dimensiones 90x90x90 mm, contándose con tres repeticiones por tratamiento.

En los experimentos 1 y 2 se aplicaron dos secuencias del tratamiento hidrotermia-enfriamiento y dos soluciones ácidas. En la primera secuencia se aplicó un hidrogenfriamiento seguido de un tratamiento térmico; en la segunda se invirtió el orden, primero el tratamiento térmico y después el hidrogenfriamiento. La temperatura del hidrogenfriamiento se mantuvo constante (10°C) y se varió la temperatura del tratamiento térmico (74° a 42°C por 20 s). El tiempo de hidrogenfriamiento se definió como el requerido para alcanzar 7/8 de la diferencia entre la temperatura inicial del fruto y la temperatura del agua fría (10°) y tuvo una duración de 8-10 min. Posteriormente, se realizó la inmersión en las soluciones ácidas: Ácido 1, mezcla de ácido cítrico 6% (p/v) y fosfórico 2% (v/v) con 1% (p/v) del fungicida Prochloraz (n-propil-N-2-(2,4,6-tricloro fenoxi etil) imidazol-1-carboxamida); ácido 2, HCl al 1% con 1% de Prochloraz. En los experimentos 3, 4 y 5, sólo se aplicó la secuencia 1 y el ácido 1. Posteriormente, se secaron los frutos a temperatura ambiente por 10 min y almacenaron a 7°C y 86% HR.

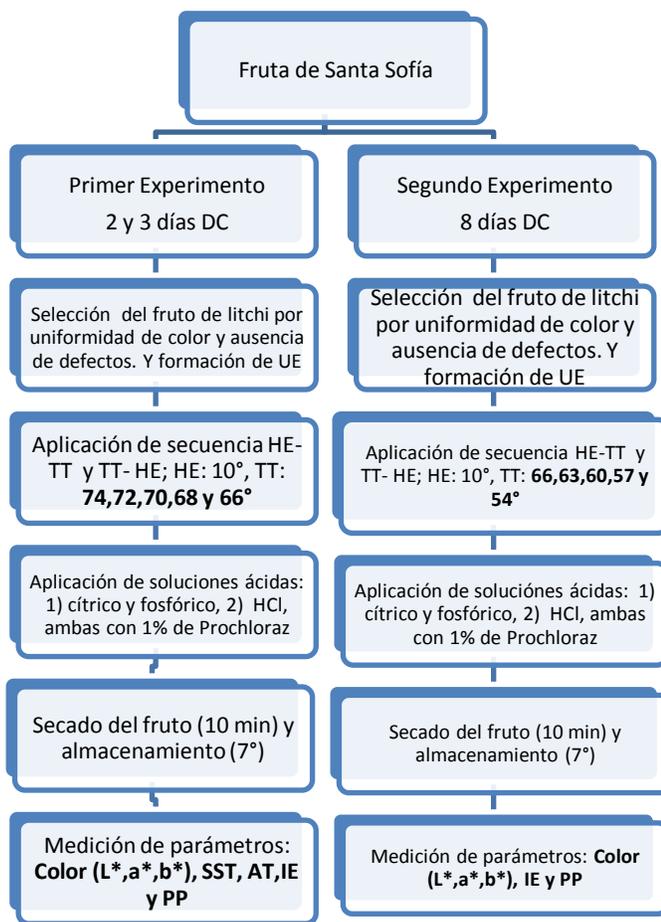


Figura 8. Procedimiento seguido en los experimentos 1 y 2 con litchi de la finca Santa Sofía, Tuxtepec, Oaxaca. DC: Después del corte, UE: Unidad experimental, HE: Hidroenfriamiento, TT: Tratamiento térmico (hidrotermia), IE: Índice de encafecimiento, PP: Pérdida de peso.

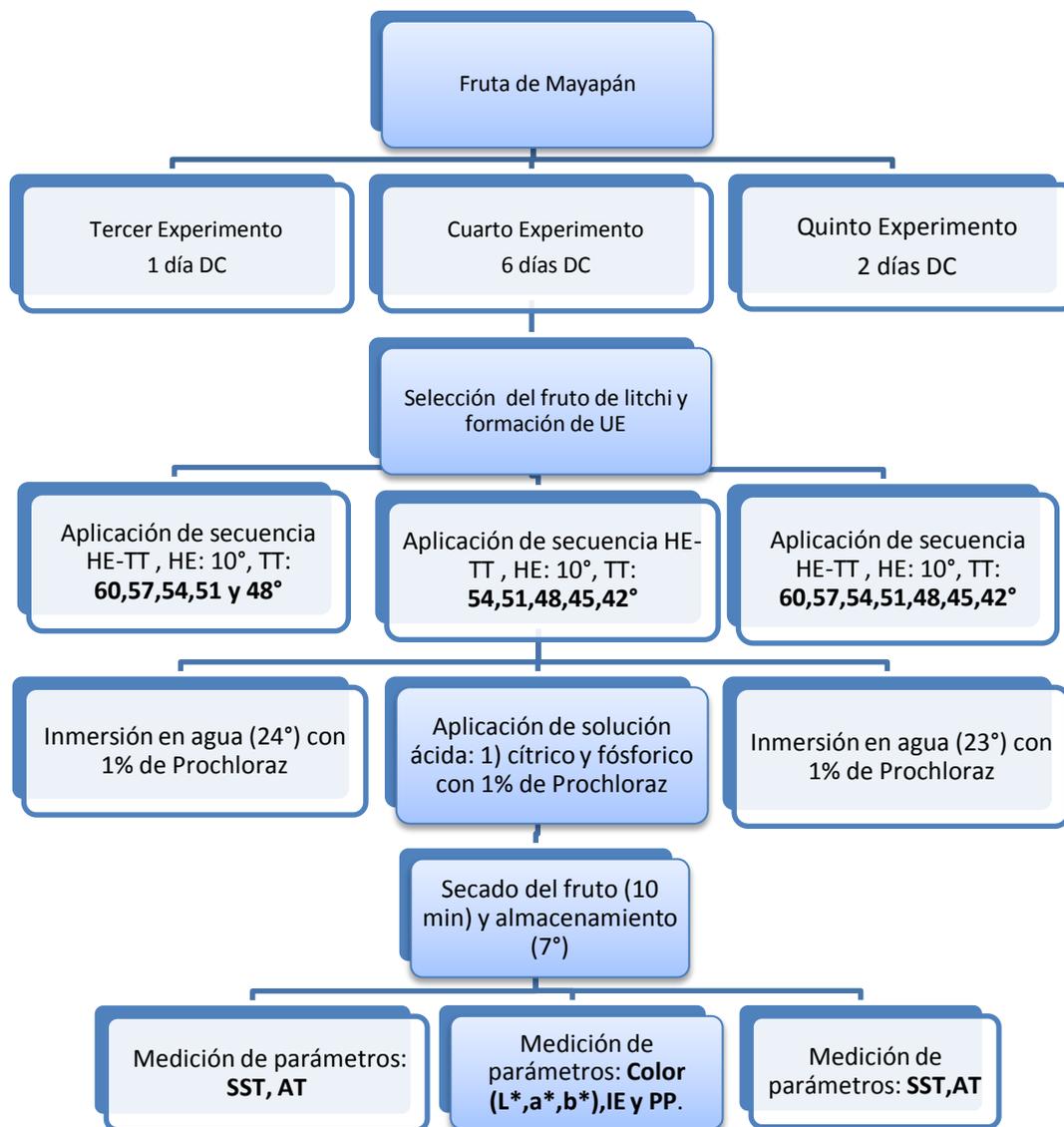


Figura 9. Procedimiento seguido en los experimento 3, 4 y 5 con litchi de la finca de Mayapán, Puebla. Los cuadros remarcados representan acciones en común para diferentes experimentos. DC: Después del corte, UE: Unidad experimental, HE: Hidroenfriamiento, TT: Tratamiento térmico (hidrotermia), IE: Índice de Encafecimiento, PP: Pérdida de peso.

6.3 Procedimientos analíticos utilizados

6.3.1 Pérdida de peso

La pérdida de peso se determinó en tres unidades experimentales por tratamiento durante todo el periodo de almacenamiento y se calculó en porcentaje de acuerdo con la siguiente ecuación (Martínez-Castellanos y col., 2011):

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde P_i = peso inicial y P_f = peso final

6.3.2 Medición del color del fruto

El color de la cáscara se midió en las zonas libres de oscurecimiento de la superficie del fruto utilizando un colorímetro Konica Minolta Sensing, Inc. con el que se determinaron los parámetros cromáticos CIE-LAB: L^* , a^* y b^* . L^* (0=negro y 100=blanco) y a^* (valores positivos rojos y negativos verdes) resultaron más informativos del color rojo brillante característico del litchi que el b^* (valores positivos amarillos y negativos azules), por lo que sólo los dos primeros se utilizaron en el análisis de resultados. Con fines comparativos (para contrastar los resultados de otros autores), se calcularon los parámetros C^* (cromaticidad) y h^* (ángulo de tono) empleando las ecuaciones:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

6.3.3 Índice de encafecimiento

El oscurecimiento de la cáscara se evaluó visualmente con una escala categórica de seis grados: 1 = 0-9%, 2 = 10-19%, 3 = 20-30%, 4= 31-40%,5= 41-50%, 6= \geq 50%.

Estos datos se transformaron en un valor único llamado índice de encafecimiento mediante la siguiente ecuación:

$$\sum_{i=1}^{i=n} = \frac{1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4 + 5n_5 + 6n_6}{n}$$

Donde n se refiere al número total de frutos evaluados y n_{1-6} se refiere al número de frutos en los grados 1 al 6 de daño (Martínez-Castellanos y col., 2011).

6.3.4 Determinación de sólidos solubles totales (SST)

Se extrajo el jugo de la pulpa con un extractor de jugos mecánico y se filtró a través de una gasa de algodón; se tomó una gota del jugo obtenido y se depositó en un refractómetro Erma (Tokyo®). Los resultados se expresaron en porcentaje de SST (Martínez-Castellanos y col., 2011).

6.3.5 Acidez titulable (AT)

El porcentaje de ácidos orgánicos presentes en el jugo de litchi se determinó mediante una titulación volumétrica ácido-base (AOAC, 2000). Se tomaron 5 mL de jugo de litchi de cada UE y se agregaron 20 mL de agua destilada junto con 3 gotas de fenolftaleína. La titulación se realizó con NaOH 0.1 N y los resultados se calcularon en porcentaje de ácido málico que es el predominante en este fruto, mediante la siguiente ecuación (Orta-López, 2010):

$$\% \text{ Acidez Titulable } \left(\frac{\text{g ácido málico}}{100 \text{ mL de jugo}} \right) = \frac{V_{\text{NaOH}} * N_{\text{NaOH}} * F}{V_{\text{muestra}}} * 100$$

donde:

V = Volumen (mL)

N= Normalidad (meq/mL)

F = 0.06705 g/meq de ácido málico

6.3.6 Determinación de metabolitos de fermentación

Se tomaron muestras de 15 mL del jugo extraído de la pulpa del litchi por unidad experimental, se congelaron con N₂ líquido y almacenaron a -80°C hasta su análisis. Entonces las muestras se descongelaron y se tomaron 5 mL del jugo en un vial de 10 mL, se adicionaron 2 g de NaCl (40% en peso de la muestra) y se mantuvieron por 15-30 min a -20°C. Posteriormente, los viales fueron agitados por 30 s en un vórtex y sumergidos en baño María a 30°C durante 10 min. Después de este tiempo, se tomó 1 mL del espacio de cabeza y se inyectó a un cromatógrafo de gases HP 5890 Serie II. La separación de los metabolitos de fermentación se llevó a cabo operando el equipo en las condiciones indicadas en el cuadro 4 y su cuantificación con base en curvas patrón obtenidas bajo las mismas condiciones (Pelayo y col., 2003).

Cuadro 4. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases HP 5890 Serie II.

Tipo de columna	Empacada. Fase estacionaria: Carbowax 20M al 5% sobre carbopack B60/80, longitud 2m, diámetro externo 6mm, diámetro interno 2mm.
Detector	Detector de ionización de flama
Temperatura del detector	200°C
Temperatura del inyector	115°C
Programa de temperatura	80°-130°C; 10°C por min
Tiempo total de corrida	6 min

6.3.7 Capacidad antioxidante *in vitro* de la cáscara

Se obtuvieron extractos metanólicos (80:20 v/v metanol-agua) de la cáscara previamente congelada y macerada con N₂ líquido, con ayuda de un politrón (OMNI International, Modelo GHL-01), equipado con un vástago de 5 mm de diámetro y operado a 25,000 rpm) en proporción de 10mL de metanol al 80% v/v por cada 0.5 g de cáscara. Los extractos se centrifugaron a 12, 000 g durante 15 min a 5°C. A partir de estos extractos se determinó la

capacidad antioxidante por el método de DPPH (radical libre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (Brand-Williams y col., 1995), la cual se basa en la reducción del radical DPPH por los compuestos antioxidantes presentes en los extractos metanólicos, midiéndose la disminución de absorbancia a 515 nm (figura 10).

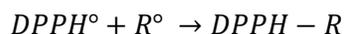
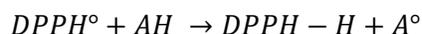


Figura 10. Esquema simplificado de la reacción del radical DPPH° con la especie antioxidante (AH) y el radical (R°).

Los resultados se reportaron como la capacidad antioxidante equivalente de trolox en µmol/g cáscara.

6.3.8 pH de la cáscara

De la cáscara congelada y macerada se tomó una muestra de 1g, se diluyó en 10 mL de agua destilada y se midió el pH con un potenciómetro (Portable series 220) a temperatura ambiente (Nicio-Cruz, 2012).

6.3.9 Extracción de fenoles y antocianinas

Se maceró el pericarpio de los frutos de litchi con nitrógeno líquido, se pesó 1 g y se colocó por 2 h en un agitador orbital con 10 mL de metanol al 80% para fenoles y con 10 mL de HCl 0.1M para antocianinas. Posteriormente, los extractos se centrifugaron a 12, 100 g durante 15 min a 5°C.

6.3.10 Determinación de antocianinas totales

Esta determinación se realizó por el método de pH diferencial reportado por Wrolstad (1993), el cual consistió en tomar dos alícuota de 1mL del extracto ácido; una de ellas se diluyó con 4 mL de buffer de KCl-HCl pH 1 y la otra con 4 mL de buffer de acetatos pH 4.5.

Posteriormente, cada una se leyó en un espectrofotómetro a dos longitudes de onda (541nm, y 700nm). La absorbancia del extracto se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$A = (A_{541 \text{ pH}1} - A_{700 \text{ pH}1}) - (A_{541 \text{ pH}4.5} - A_{700 \text{ pH}4.5})$$

Y el contenido total de antocianinas se calculó mediante la siguiente ecuación basada en la ley de Lambert y Beer:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = (A/\epsilon L)(10^3)(PM)(F)$$

donde:

A= absorbancia

ϵ = absorptividad molar de la antocianina cianidina-3-glucósido (28,800)

L=longitud de paso óptico de la celda (1 cm)

10^3 = factor de conversión de gramos a miligramos

PM= peso molecular de la antocianina cianidina-3-glucósido (595.2)

F= factor de dilución (5)

6.3.11 Determinación de fenoles

Una alícuota del extracto metanólico (0.1mL) se transfirió a un tubo de ensayo con 7.9 mL de agua destilada, se adicionó 0.1mL de reactivo Folin-Ciocalteu, después de 5 minutos se añadieron 1.5mL de solución de Na_2CO_3 (200g/L) y se dejó reaccionar durante 90 minutos a temperatura ambiente. Se determinó la absorbancia a 765nm y la concentración de compuestos fenólicos se calculó con una curva de calibración elaborada con ácido gálico (200-900 $\mu\text{g/mL}$) (Singleton y Rossi, 1965).

6.4 Procedimiento seguido para el análisis de las muestras y procesamiento de datos

En todos los experimentos se determinaron las variables de color L^* , a^* , b , IE y pérdida de peso; en los experimentos uno, tres y cinco, las variables SST, AT y se calculó el cociente SST/AT, mientras que en los experimentos tres y cinco, se midieron las variables pH, contenido de antocianinas, fenoles, capacidad antioxidante y metabolitos de fermentación, estas últimas cuantificadas en muestras congeladas con N_2 líquido y almacenadas a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ hasta su análisis. El muestreo fue realizado a intervalos diferentes entre experimentos.

La primera parte del análisis de resultados, se enfocó a las tendencias de aumento o disminución de cada variable durante el almacenamiento por efecto de los tratamientos aplicados con el propósito de encontrar la temperatura óptima de TT, la mejor secuencia de tratamiento y la solución ácida más adecuada para preservar el color rojo del fruto. La siguiente parte del análisis se enfocó a la discusión del efecto de los tratamientos en las variables medidas en los días de muestreo siete y diez de los experimentos tres y cinco, ya que sólo hubo ajuste cuadrático en el análisis de superficies para la variable a^* en esos experimentos y días de muestreo. El propósito de este último análisis fue dar respuesta a las siguientes preguntas para cada variable analizada:

1. Efecto del tratamiento térmico y de la formulación ácida. ¿Hay efecto significativo del tratamiento en la variable evaluada en los frutos al final del almacenamiento (día de ajuste cuadrático)? Los datos se analizaron utilizando una ANOVA de un factor.

2. Efecto de la temporada de producción en los frutos recién cosechados. ¿Hay efecto significativo entre los dos experimentos en la variable evaluada en los frutos en los días iniciales de cosecha (temporadas de producción)? Se estudió utilizando una t-student.

3.- Efecto de la temporada de producción al término del almacenamiento. ¿Hay efecto significativo entre experimentos (temporadas de producción) en la variable evaluada en los frutos al final del almacenamiento? Se estudió utilizando un diseño de bloques completos al azar.

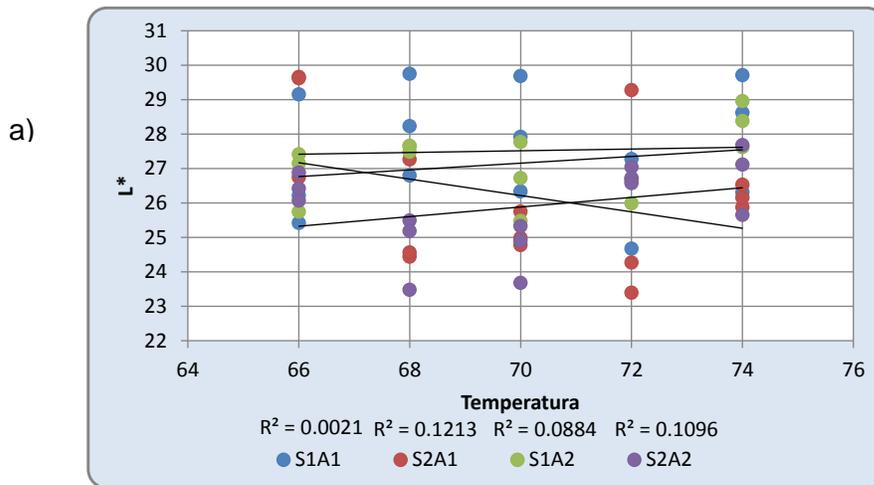
6.5 Procedimiento para seleccionar la secuencia de tratamiento térmico-hidroenfriamiento y la temperatura óptima de tratamiento térmico por el método de superficies de respuesta

En los experimentos 1 y 2, se realizaron análisis de superficies con las variables de respuesta de color a^* y b^* (ya que éstas resultaron las más informativas de los cambios de color de los frutos) y se observó que conforme se aumentaba la temperatura, los valores promedio de ambas variables disminuían. Con base en este análisis se eliminaron la secuencia 2 y el ácido 2, por lo que en experimentos posteriores, se trabajó únicamente con la secuencia 1 y el ácido 1. Posteriormente, en los experimentos 3 y 5, se lograron ajustar modelos cuadráticos con fruta almacenada a 7°C , midiendo la variable de respuesta a^* en los últimos días de muestreo, con lo cual se lograron estimar las temperaturas óptimas de tratamiento térmico.

7. Resultados y discusión

7.1 Cambio de color del pericarpio. Parámetros cromáticos L*, a* y b*. Metodología de superficies de respuesta.

En el experimento 1 los parámetros cromáticos (fig. 11a, 11b y 11c) medidos en el tercer día de muestreo mostraron una mejor respuesta lineal en los valores a* y b*, y en general un mejor coeficiente de respuesta para la secuencia 1 (HE-TT) (a*: 0.7753, b*: 0.7306). En la figura 11b, se observó que conforme se aumentó la temperatura, a* disminuyó, la secuencia 1 tuvo mayores valores de a* y mejores coeficientes de correlación lineal, y se alcanzó en promedio un valor máximo de a*(28) cuando se utilizó el ácido 1. En la figura 11c se observó que de igual manera b* disminuye conforme aumenta la temperatura de tratamiento térmico, el ácido 1 tuvo los máximos valores de b y mejores coeficientes de correlación lineal, y utilizando la secuencia 1 se alcanzó en promedio un valor máximo de b* (18.3).



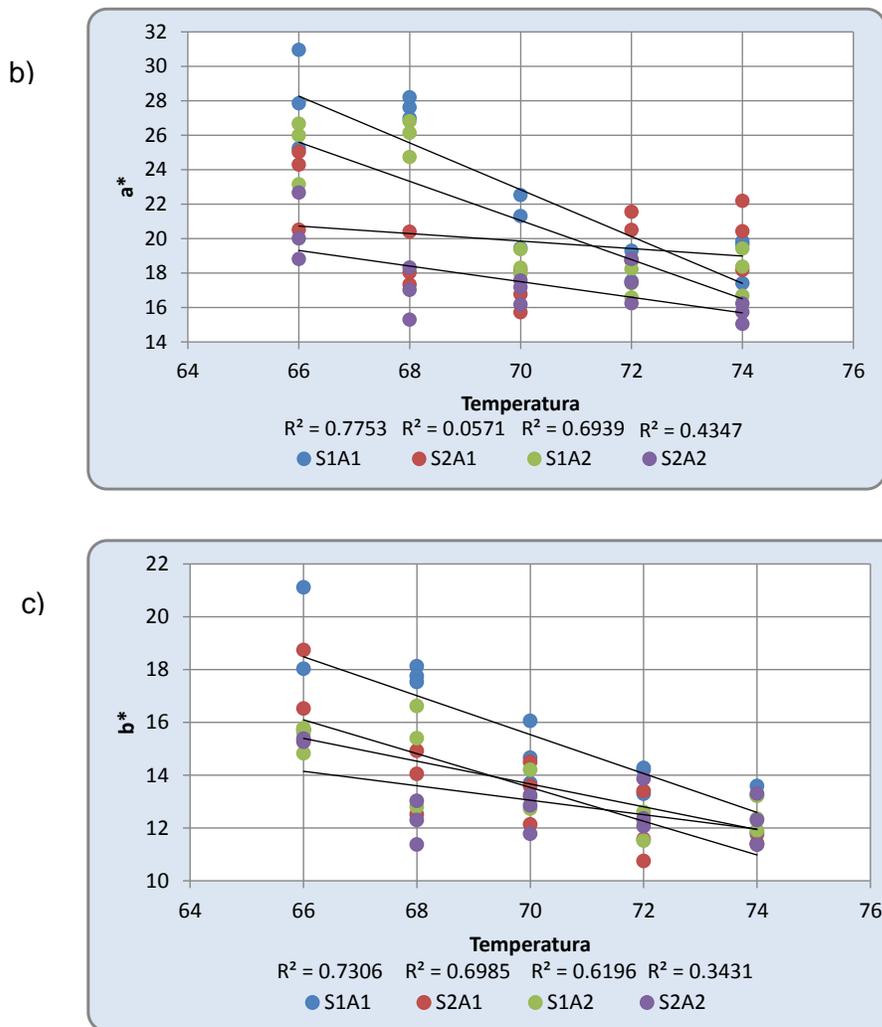


Figura 11. Análisis lineal de frutos sometidos a dos secuencias de choque térmico e inmersión en dos diferentes disoluciones ácidas en un intervalo de temperatura de 66-74°C. a) Parámetro L*, b) parámetro a* y c) parámetro b*. S1: hidrogenfriamiento-tratamiento térmico, S2: tratamiento térmico-hidrogenfriamiento, A1: cítrico 6% p/v y fosfórico 2% v/v, A2: HCl 1% v/v.

Con la información anterior se prosiguió a disminuir la temperatura de tratamiento térmico para lograr un incremento en b* y un valor máximo para el caso de a*; y seleccionar la secuencia de HE-TT y la inmersión en ácido cítrico y fosfórico. Para lo cual se trabajó con fruta recién cosechada de Puebla en el rango de temperatura de 48-60°C (experimento 3) y se hizo la distinción entre frutos tratados sólo con choque térmico y frutos tratados con choque térmico e inmersión ácida; se añadió un control con inmersión ácida y otro donde

sólo la inmersión se hace en agua a temperatura ambiente (24°C). En este experimento, al día 10 de muestreo se encontró un valor máximo para a^* , a una temperatura de tratamiento térmico, la cual se consideró como óptima, ya que a temperaturas mayores de ésta, a^* disminuye. Para comprobar esto, se hizo una comparación entre un ajuste lineal y cuadrático de los datos (fig. 12 y 13). Utilizando los coeficientes de correlación ajustados de los modelos lineales y cuadráticos y se observó un mejor ajuste cuadrático (con y sin inmersión ácida), lo que nos indicó que a partir de este ajuste se podía encontrar la temperatura óptima de tratamiento térmico. A partir de la ecuación cuadrática derivamos e igualamos a cero para encontrar puntos críticos. En este caso se obtuvo un punto máximo correspondiente a una temperatura de 54.5°C cuando se realizó una inmersión ácida y una temperatura de 51°C cuando se realizó una inmersión en agua.

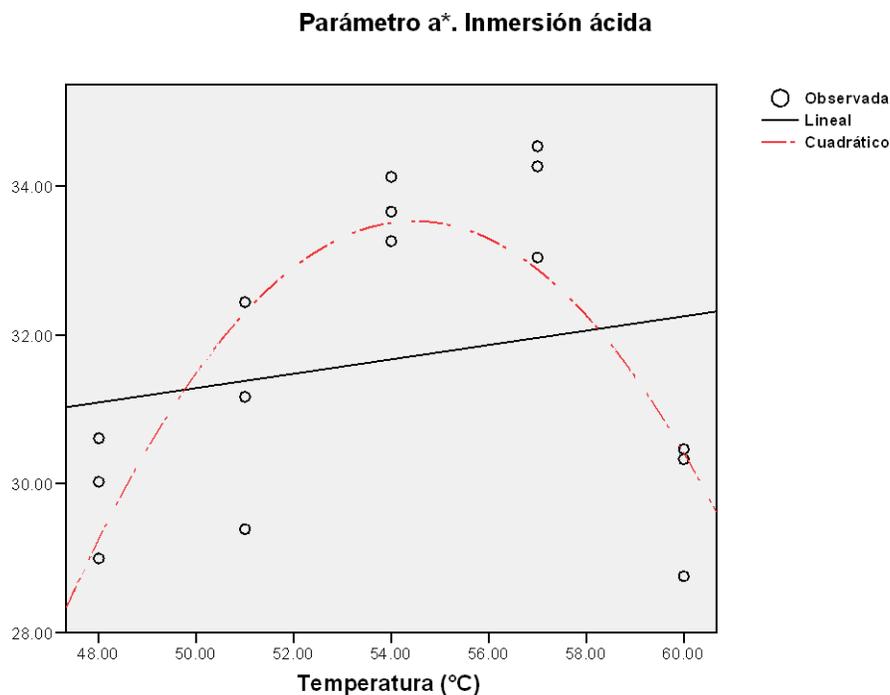


Figura 12. Ajuste lineal y cuadrático del parámetro a^* después de 10 días de almacenamiento cuando se realiza la inmersión ácida.

Resumen del modelo lineal

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
.208	.043	-.030	2.070

Donde la variable independiente es la temperatura.

Ecuación cuadrática

$$Y = -269.56 + 11.128t - 0.10214t^2$$

Derivando la expresión cuadrática

$$11.128 - 0.2043t = 0$$

Donde

$$T = -11.128 / -0.2043 = \mathbf{54.47^\circ}$$

Resumen del modelo cuadrático

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
.808	.653	.595	1.298

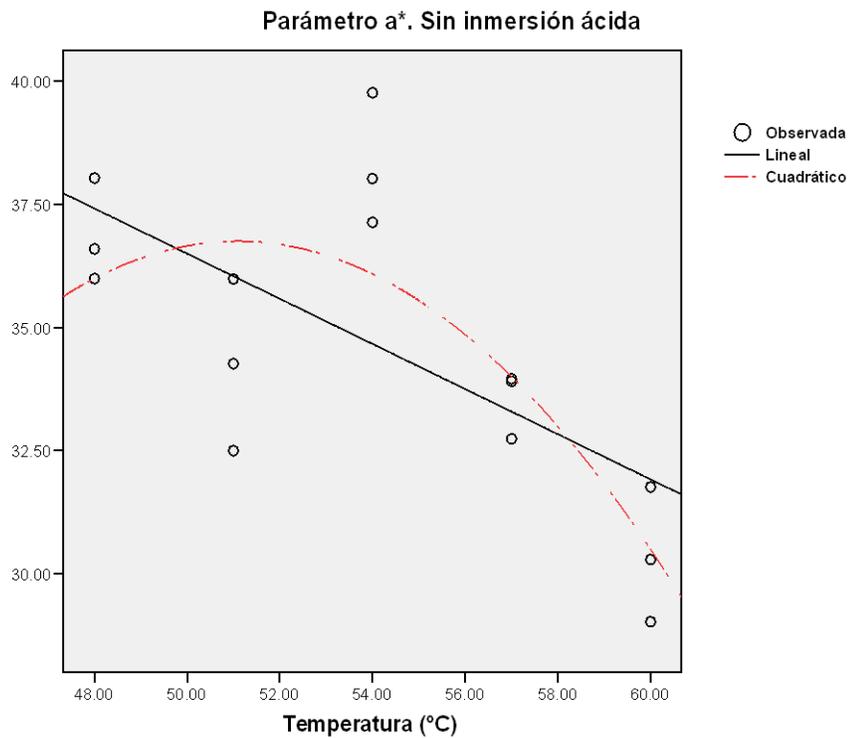


Figura 13. Ajuste lineal y cuadrático del parámetro a* después de 10 días de almacenamiento cuando se realiza la inmersión en agua.

Resumen del modelo lineal

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
.658	.433	.389	2.391

La variable independiente es temperatura.

Ecuación cuadrática

$$Y = -169.28 + 8.06t - 7.89 \times 10^{-2}t^2$$

Derivando la expresión cuadrática

$$8.06 - 0.1578t = 0$$

Donde

$$T = -8.06 / -0.1578 = 51^\circ$$

Resumen del modelo cuadrático

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
.771	.594	.527	2.105

El mismo análisis fue realizado para los siguientes dos experimentos (4 y 5) con fruta procedente del estado de Puebla de la segunda y tercera temporada de cosecha con 6 y 2 días después del corte, respectivamente. En el quinto experimento se encontró diferencia significativa al tercer día sólo para tratamientos térmicos con inmersión ácida y al séptimo día se encontró diferencia para tratamientos térmicos con y sin inmersión ácida, por lo que fue posible en este último día de muestreo ajustar un modelo cuadrático y encontrar temperaturas óptimas, las cuales fueron con inmersión ácida 56.19°C y sin inmersión ácida 50.93°C . Como se puede apreciar, aunque se trabajó con fruta de 2 y 6 días de cosecha, se estimaron temperaturas óptimas de tratamiento térmico muy similares.

7.2 Variables de apariencia física del fruto: L*, a* e índice de encafecimiento

7.2.1 Color L* y a*

De acuerdo a Pelayo-Zaldívar y col. (2006), se consideran frutos inaceptables aquellos con valores de $L^* \leq 20$ (ver cuadro 3), así mismo, son preferibles valores altos de a^* (que indican mayor tendencia al color rojo, fig. 6) similares al inicial. Además, se espera que los mejores tratamientos correspondan a las temperaturas cercanas a las óptimas calculadas (experimento 3, 54.5°C con ácido y de 51°C sin ácido; experimento 5, 59.2°C con ácido y 50.9°C sin ácido) y que los valores de C^* y h^* de estas temperaturas seleccionadas como las óptimas se encuentren dentro de los intervalos de calidad reportados para el color rojo fuerte, $C^* > 21$ y $h^* \leq 30$ (ver cuadro 3).

En el cuadro 5 se presenta el análisis inicial de los frutos con la finalidad de conocer la calidad de éstos en función del estado de producción: Oaxaca (experimentos 1 y 2) y Puebla (experimentos 3,4 y 5).

Cuadro 5. Valores iniciales de los parámetros L^* y a^* en los cinco experimentos en los que se aplicaron diferentes rangos de temperatura de tratamiento térmico.

No experimento	L^*	a^*
1	37.6±2.2 ^{ab}	35.3±3.5 ^{ab}
2	31.8±2.3 ^c	29±3.1 ^c
3	40.3±2.5 ^a	37.5±3.5 ^a
4	37.9±3.4 ^{ab}	36.8±4.2 ^{ab}
5	35.4±3.2 ^b	33.4±3 ^b

Nota: Los valores corresponden al color de la fruta sin ningún tratamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas en el análisis de comparación múltiple de medias de Tukey (NCSS 2007).

Los resultados indican que los litchis de los experimentos 1 y 3, donde se trabajó con fruta recién cosechada de Oaxaca y Puebla, respectivamente, tuvieron mejor calidad visual (valores altos de L^* y a^*). Observándose que, aunque en el experimento 5 también se trabajó con fruta recién cosechada, ésta no tuvo la misma luminosidad y color rojo al ser de una

temporada de cosecha tardía. Por lo que, no hay diferencia significativa en fruta de diferentes estados recién cosechada pero sí entre temporadas de cosecha de un mismo estado. Este comportamiento probablemente se debe a que a medida que avanza la temporada de producción los frutos se cosechan con mayor madurez comercial.

En los cuadros 6 y 7 se presentan los resultados obtenidos durante todo el tiempo de muestreo para las variables L^* y a^* en los cinco experimentos realizados con sus respectivas gráficas (fig. 14). Las tendencias de comportamiento de las variables muestran que tanto en el experimento 3 como en el 5, la luminosidad y el color rojo se mantuvieron, con respecto a los experimentos 1 y 2, más estables durante el tiempo de almacenamiento. Además, en el experimento 3 y 5 los frutos que lograron conservar mejor estos atributos de calidad correspondieron a las temperaturas de TT cercanas a las óptimas calculadas en el análisis de superficies de respuesta.

Se observó que con la aplicación de las temperaturas más altas de TT (donde los valores de L^* y a^* fueron menores, experimento uno, 66-74°) ocurrió quemado del pericarpio del fruto. Asimismo, se observaron efectos inmediatos de los tratamientos en el color de los frutos (ver fig. 14e-n) por lo que se recomienda la medición de los parámetros cromáticos inmediatamente después de la aplicación de los tratamientos.

El análisis de los datos con respecto a las tres preguntas de investigación planteadas (apartado 6.3), se resumen en el cuadro 8.

La primera pregunta de investigación contempló si existen diferencias entre tratamientos al final del almacenamiento en los experimentos 3 y 5. En este análisis, la comparación de medias se hizo por un lado analizando los tratamientos sin inmersión ácida y por el otro, analizando los tratamientos con inmersión ácida, ambos comparados con los controles. En el cuadro 8 observamos que, se encontraron diferencias significativas en el color de los frutos al término del almacenamiento y que los mejores tratamientos fueron los cercanos a las temperaturas óptimas de tratamiento térmico con (exp. 3, a-54°C; exp. 5 a-60°C) y sin (exp. 3, 48°C y 54°C; exp. 5, 51°C) inmersión ácida. En el cuadro 9, se muestran los valores de croma (C^*) y el ángulo h^* de los tratamientos térmicos que tuvieron mejores resultados. En este cuadro se observan valores de C^* dentro de los intervalos reportados de

calidad, mientras que los valores de h^* se encuentran ligeramente fuera de lo establecido comercialmente.

La segunda pregunta de investigación nos permite observar la calidad visual de los frutos con los que se trabajó, ya que en los experimentos 3 y 5 se emplearon frutos del mismo estado (Puebla) pero de diferentes temporadas de cosecha (media y tardía). La comparación de medias t-student nos indica que los frutos del experimento 3 tuvieron una mejor calidad visual que los del 5 (mayores valores de L^* y a^*).

La tercera pregunta de investigación nos ayudó a conocer si había o no diferencias entre temporadas de producción al final del almacenamiento. Se esperaba que al final del almacenamiento, de igual manera que al principio, existiera esta diferencia aunque no fuera deseable, ya que la aplicación de cualquier tratamiento idealmente debe tener el mismo nivel de respuesta en los frutos de diferente temporada de cosecha). Sin embargo, contrario a lo esperado, al analizar los datos del cuadro 8, se encontró que en general no hubo diferencias entre temporadas de cosecha al final del periodo de almacenamiento.

Cuadro 6. Resultados de la variable de respuesta L* en los cinco experimentos independientes.

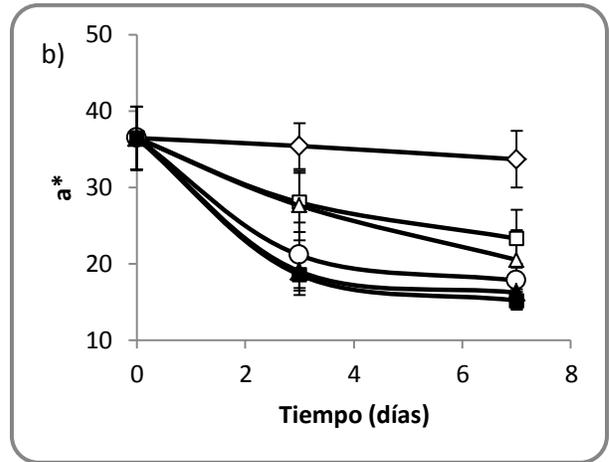
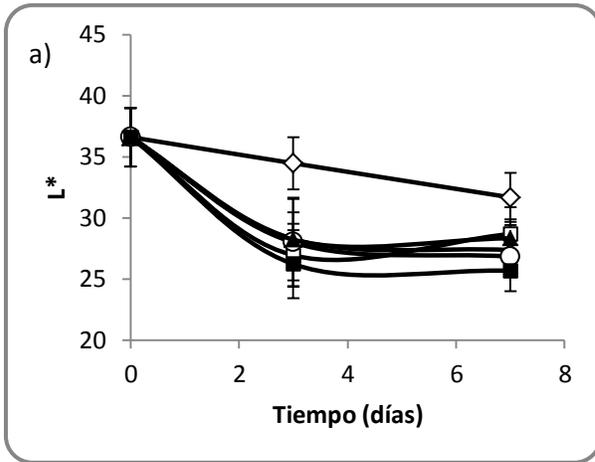
Estado de cosecha	Experimento	Días después del corte	Muestreo	TERCER DÍA			SÉPTIMO DÍA			DÉCIMO DÍA		
			Tratamiento	Valor promedio de L*			Valor promedio de L*			Valor promedio de L*		
Oaxaca	1	2	Control	34.46 ^A ±2.13			31.7 ^A ±2			-		
			a-74°	28.21 ^B ±2.24			28.3 ^B ±1.5			-		
			a-72°	26.91 ^B ±2.78			25.7 ^C ±1.7			-		
			a-70°	27.98 ^B ±3.59			26.8 ^{BC} ±1.3			-		
			a-68°	28.26 ^B ±3.38			27.4 ^B ±2.1			-		
			a-66°	26.93 ^B ±2.58			28.7 ^B ±2.21			-		
	2	8	Control	31.92 ^A ±2.01			35.6 ^B ±3.3			35.6 ^A ±3.3		
			a-66°	25.29 ^B ±1.5			24.6 ^{BC} ±1.5			21.5 ^B ±1.6		
			a-63°	27.73 ^B ±3.1			25.8 ^{BC} ±2.6			22.5 ^B ±2.5		
			a-60°	29.51 ^{AB} ±2.74			24.8 ^{BC} ±2.3			22.3 ^B ±1.8		
			a-57°	30.37 ^{AB} ±2.79			24.1 ^C ±3.2			22.9 ^B ±3.0		
			a-54°	31.76 ^A ±2.61			27.3 ^B ±1.8			23.2 ^B ±2.0		
			Control	33.9 ^{AB} ±1.82			36.7 ^{CA} ±3.82			35.6 ^{CA} ±3.31		
			Control ácido	32.1 ^{BA} ±2.8			30.6 ^{BB} ±2.9			28.8 ^{BB} ±2.48		
Puebla	3	1	a-60°	35.9 ^A ±3.5			31.4 ^B ±3.0			31.4 ^B ±2.2		
			60°		32.9 ^A ±3.6			31.7 ^A ±2.7			29.7 ^A ±2.9	
			a-57°	35.3 ^A ±2.7			30.7 ^A ±2.97			30.2 ^B ±2.5		
			57°		34.2 ^A ±2.8			37.3 ^A ±3.6			34.1 ^B ±2.3	
			a-54°	34.2 ^{AB} ±2.5			32.3 ^B ±3.0			30.8 ^B ±2.4		
			54°		34.5 ^A ±2.0			35.1 ^A ±2.5			33.3 ^A ±2.7	
			a-51°	35.5 ^A ±3.1			33.7 ^{AB} ±3.73			35.3 ^A ±2.6		
			51°		34.1 ^A ±2.1			36.5 ^A ±2.7			34.1 ^A ±3.3	
			a-48°	33.6 ^{AB} ±2.5			33.2 ^B ±2.27			31 ^B ±1.8		
			48°		34.2 ^A ±2.8			35.4 ^A ±2.9			33.7 ^A ±3.1	
	4	6	Control	34.5 ^A ±3.9			32.9 ^A ±3.5			32.5 ^A ±3.3		
			a-54°	34.1 ^A ±3.7			29.7 ^B ±3.6			28.1 ^B ±2.6		
			a-51°	31.4 ^A ±2.2			30.1 ^{AB} ±2.8			28.3 ^B ±2.0		
			a-48°	33.3 ^A ±3.5			28.9 ^B ±2.2			29.3 ^B ±1.9		
5	2	a-45°	33.2 ^A ±3.0			29.8 ^B ±2.8			29.5 ^B ±2.4			
		a-42°	34.8 ^A ±2.4			30 ^{AB} ±2.3			29.9 ^B ±1.6			
		Control	31.7 ^B ±2.2			32.7 ^{CA} ±2.3			-			
		a-60°	32.2 ^{AB} ±2.1			30.5 ^{ABC} ±2.5			-			
		60°		31.5 ^B ±2.8			27.9 ^C ±2.5			-		
		a-57°	30.8 ^B ±2.4			30.4 ^{ABC} ±2.8			-			
		57°		33.2 ^{AB} ±3.0			32.0 ^{AB} ±2.1			-		
		a-54°	31.7 ^B ±1.9			29.8 ^{BC} ±3.0			-			
		54°		32.9 ^{AB} ±2.6			33.7 ^A ±2.6			-		
		a-51°	30.3 ^B ±2.5			29.3 ^{BC} ±1.8			-			
51°		32.2 ^{AB} ±1.8			31.6 ^{AB} ±1.5			-				
a-48°	31.9 ^{AB} ±2.6			31.6 ^{AB} ±2.6			-					
48°		32.6 ^{AB} ±3.1			31.6 ^{AB} ±2.7			-				
a-45°	30.3 ^B ±1.5			28.4 ^C ±2.3			-					
45°		32.6 ^{AB} ±2.1			32.4 ^{AB} ±4.0			-				
a-42°	34.3 ^A ±2.5			30.0 ^{ABC} ±2.4			-					
42°		34.9 ^A ±2.9			30.0 ^{BC} ±2.8			-				

Nota: "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa (p<0.05) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

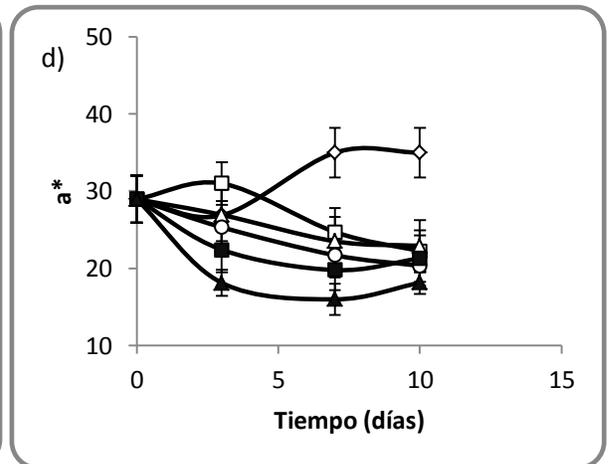
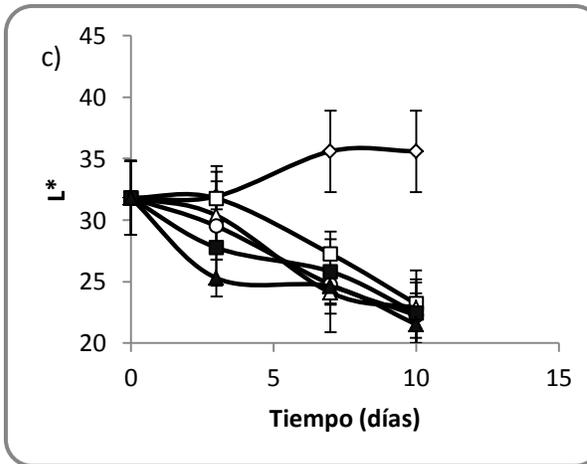
Cuadro 7. Resultados de la variable de respuesta a* en cinco experimentos independientes.

Estado de cosecha	Experimento	Días después del corte	Muestreo				
			Tratamiento	Valor promedio de a*	Valor promedio de a*	Valor promedio de a*	
Oaxaca	1	2 Y 3	Control	35.4 ^A ±3.0	33.7 ^A ±3.7	-	
			74°	19.0 ^C ±3.1	16.2 ^D ±2.0	-	
			72°	18.5 ^C ±2.1	15.2 ^D ±1.2	-	
			70°	21.1 ^C ±4.3	17.8 ^{CD} ±2.2	-	
			68°	27.6 ^B ±4.5	20.5 ^{BC} ±3.9	-	
			66°	28.0 ^B ±3.8	23.3 ^B ±3.8	-	
	2	8	Control	26.9 ^B ±3.3	35.0 ^A ±3.2	35.0 ^A ±3.2	
			66	18.1 ^D ±1.7	16.0 ^D ±2.0	18.1 ^C ±1.4	
			63	22.4 ^C ±2.9	19.8 ^C ±2.6	21.3 ^B ±3.0	
			60	25.3 ^{BC} ±3.4	21.7 ^{BC} ±2.9	20.3 ^{BC} ±2.5	
			57	26.9 ^B ±3.7	23.5 ^B ±3.2	22.9 ^B ±3.3	
		54	30.1 ^A ±2.8	24.7 ^B ±3.1	22.2 ^B ±2.7		
Puebla	3	1	Control	39.4 ^{A,AB} ±2.9	39.9 ^A ±3.1	35.0 ^{A,AB} ±3.2	
			Control ácido	37.5 ^{A,BC} ±4.4	33.4 ^{BC} ±3.4	30.4 ^{BC} ±3.2	
			a-60°	40.7 ^A ±3.3	35.8 ^B ±2.8	29.9 ^C ±2.4	
			60°		34.5 ^C ±3.1	36.4 ^{ABC} ±3.5	30.4 ^C ±3.6
			a-57°	40.1 ^A ±3.6	36.3 ^B ±3.4	34.0 ^{AB} ±3.3	
			57°		36.6 ^{BC} ±4.2	35.4 ^{BC} ±3.1	33.5 ^{BC} ±3.6
			a-54°	40.1 ^A ±2.9	36.0 ^B ±3.0	33.7 ^{AB} ±3.7	
			54°		39.5 ^{AB} ±2.4	39.0 ^A ±2.4	38.3 ^A ±2.7
			a-51°	39.5 ^A ±3.5	34.1 ^B ±3.1	31.0 ^{BC} ±3.9	
			51°		40.3 ^A ±3.3	34.8 ^{BC} ±3.1	34.3 ^{BC} ±4.6
	a-48°	39.5 ^A ±2.2	33.2 ^B ±2.6	29.9 ^C ±2.6			
	48°		38.8 ^{AB} ±2.9	37.9 ^{AB} ±3.6	36.9 ^{AB} ±3.7		
	4	6	Control	36.4 ^A ±2.8	31.2 ^A ±2.6	29.1 ^A ±2.4	
			a-54°	33.0 ^{BC} ±4.4	29.7 ^{AB} ±3.4	24.9 ^{BC} ±3.1	
			a-51°	35.6 ^{AB} ±2.8	31.5 ^A ±3.1	27.6 ^{AB} ±3.5	
			a-48°	33.2 ^{ABC} ±3.4	29.4 ^{AB} ±4.5	23.2 ^{CD} ±3.5	
			a-45°	32.1 ^C ±2.0	27.0 ^B ±3.5	21.3 ^D ±2.9	
			a-42°	31.8 ^C ±3.2	27.8 ^{AB} ±3.3	24.7 ^{BC} ±2.8	
	5	2	Control	33.1 ^A ±2.9	33.3 ^{A,AB} ±3.3	-	
			a-60°	33.0 ^A ±3.8	32.1 ^{AB} ±3.7	-	
			60°		32.3±3.3	28.5 ^C ±3.9	
			a-57°	35.3 ^A ±2.8	33.1 ^A ±3.0	-	
			57°		32.9±3.5	33.3 ^{AB} ±2.5	
			a-54°	32.6 ^A ±2.2	31.1 ^{ABC} ±3.8	-	
54°				33.5±3.2	34.4 ^{AB} ±2.6		
a-51°			32.8 ^A ±3.2	31.3 ^{ABC} ±2.8	-		
51°				35.8±3.9	32.9 ^{AB} ±4.0		
a-48°			32.2 ^A ±4.2	29.7 ^{BC} ±4.0	-		
48°		35.6±1.7	31.0 ^{BC} ±4.5				
a-45°	32.6 ^A ±2.8	28.5 ^{CD} ±2.4	-				
45°		34.8±4.1	35.2 ^A ±3.8				
a-42°	28.7 ^B ±1.7	28.0 ^D ±3.7	-				
42°		32.5±3.1	28.7 ^C ±3.2				

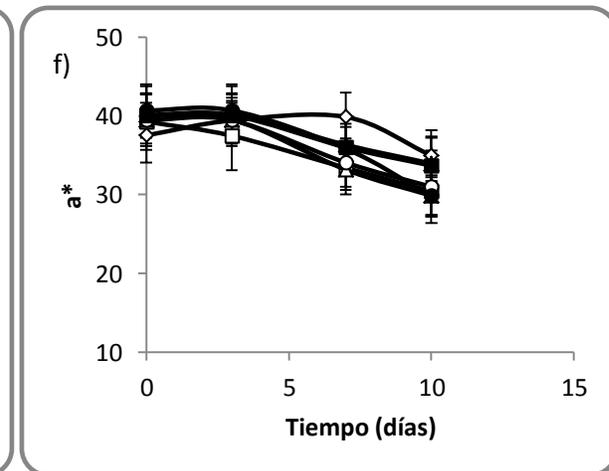
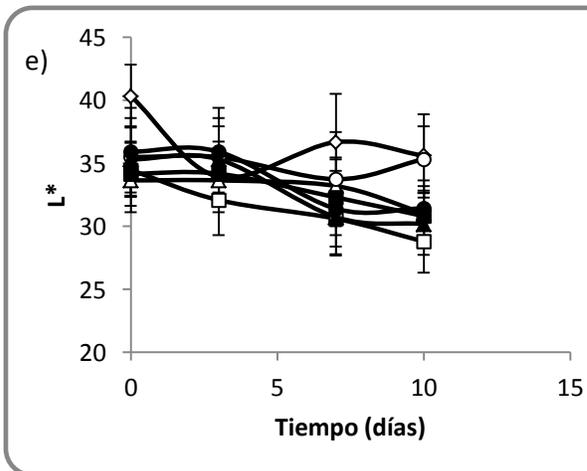
Nota: "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa (p<0.05) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).



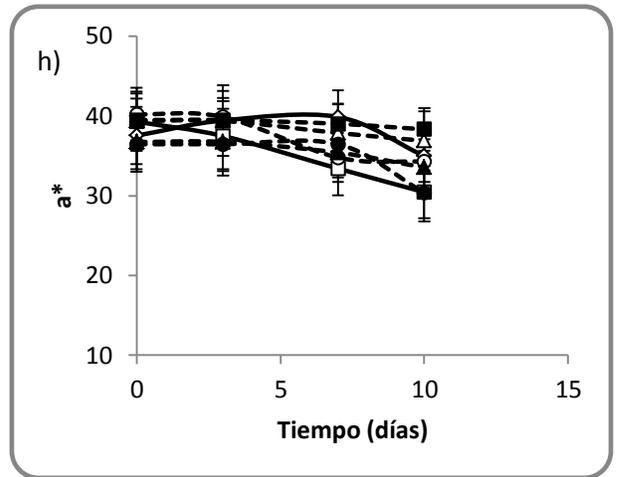
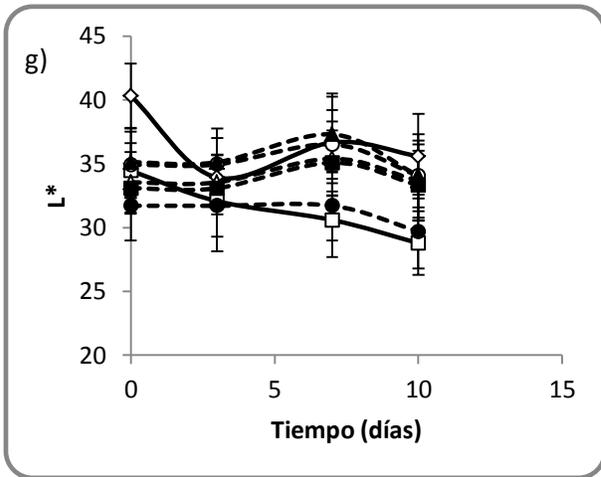
—◇— Control —□— a-66° —△— a-68° —○— a-70° —■— a-72° —▲— a-74°



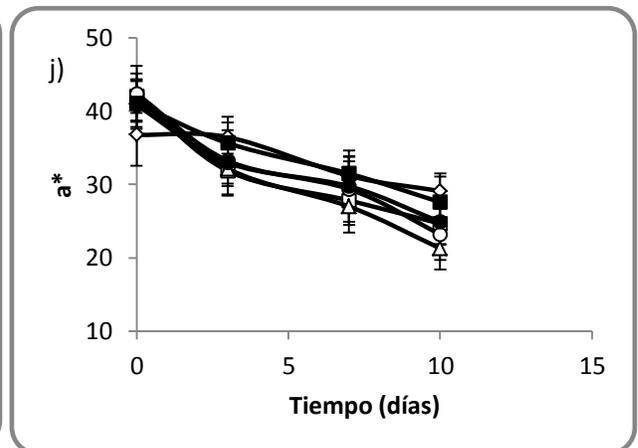
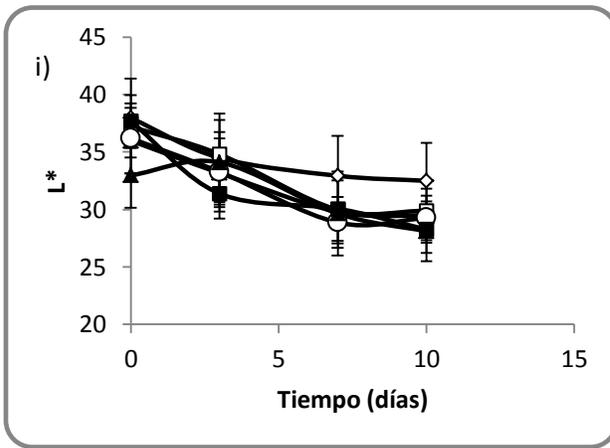
—◇— Control —□— a-54° —△— a-57° —○— a-60° —■— a-63° —▲— a-66°



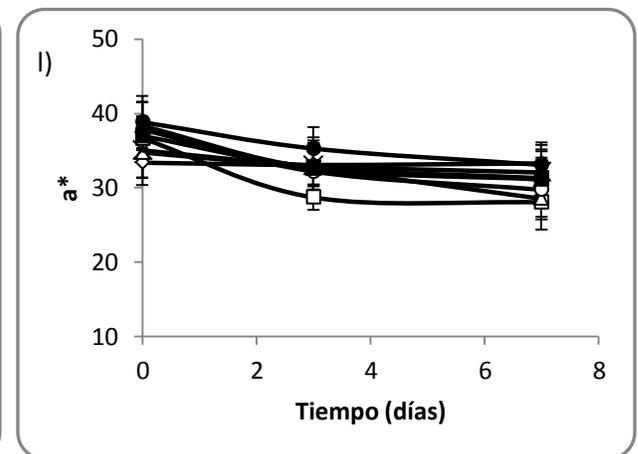
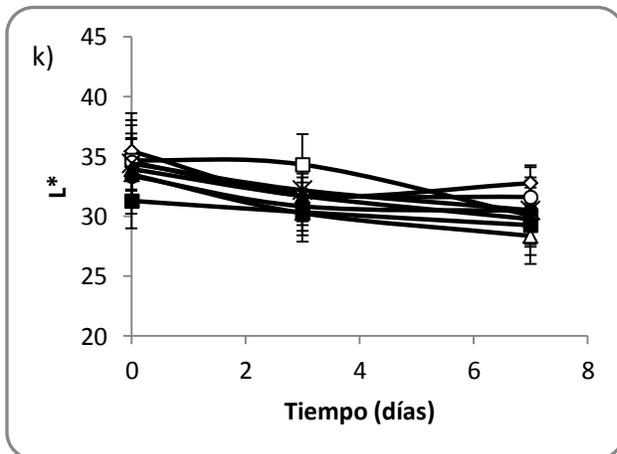
—◇— Control —□— Control ácido —△— a-48° —○— a-51° —■— a-54° —▲— a-57° —●— a-60°



—◇— Control —□— Control ácido - -△- 48° - -○- 51° - -■- 54° - -▲- 57° - -●- 60°



—◇— Control —□— a-42° —△— a-45° —○— a-48° —■— a-51° —▲— a-54°



—◇— Control —□— a-42 —△— a-45° —○— a-48° —■— a-51° —▲— a-54° —●— a-57° —×— a-60°

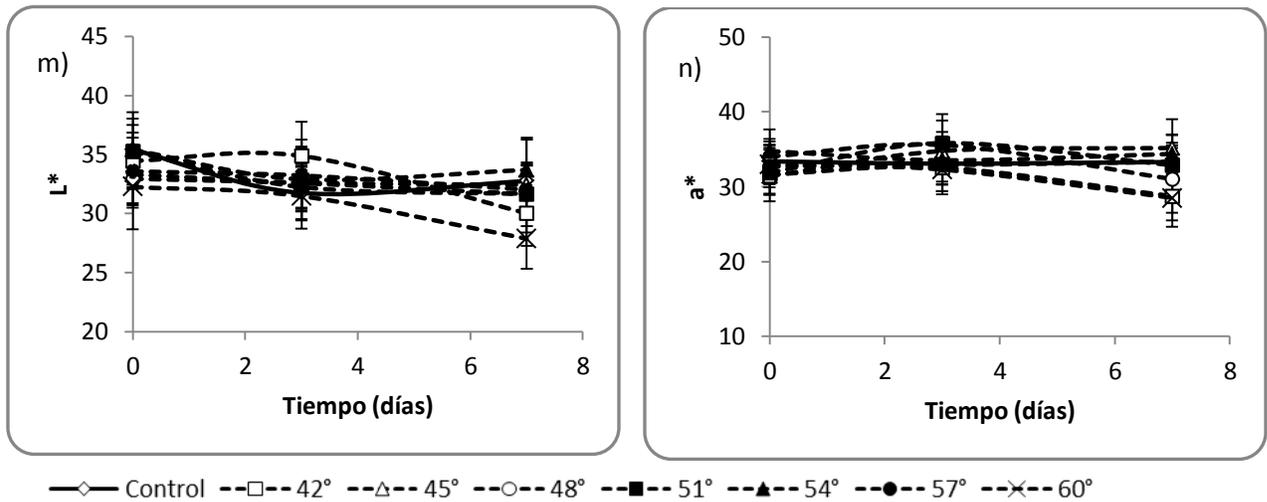


Figura 14. Variables L^* y a^* medidas en los frutos tratados en los cinco experimentos realizados. Primer experimento L^* (a) y a^* (b), segundo experimento L^* (c) y a^* (d), tercer experimento, con inmersión ácida L^* (e) y a^* (f) y sin inmersión ácida L^* (g) y a^* (h), cuarto experimento L^* (i) y a^* (j) y quinto experimento con inmersión ácida L^* (k) y a^* (l) y sin inmersión ácida L^* (m) y a^* (n).

Cuadro 8. Preguntas de investigación planteadas. Variables de color L*y a*. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?		2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?		3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?	
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	Exp 3		Exp 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta	Sí	Sí	Sí	No	Sí Tp 2 > Tp 3	No
Respuesta a PI						
L*	Orden de las medias*		Orden de las medias*			
	FG: a control 48° b 54° b 60° ácido c ácido	FG: a control b a60° bc a48° a54° c	FG: a Control ab 51° bc 42° c	FG: a control b a60° a42° a51° 60°		
a*	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí Tp 2 > Tp 3	No
	FG: a 54° 48° Control b ácido 60°	FG: a control a54° b ácido a48° a60°	FG: a Control 51° b 42° 60°	FG: a control a60° ab a51° b a42°		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, **sombreado**: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

Cuadro 9. Cálculo de C* y h* para los mejores tratamientos aplicados en los experimentos 3 y 5.

Tratamientos térmicos aplicados	C*	h*
Experimento 3		
48°C	43.1	31.0
54°C	44.7	31.1
a-54°C	40.5	33.6
Experimento 5		
51°C	38.1	31.0
a-60°C	38.5	33.6

7.2.2 Índice de encafecimiento

En general se observó que con las temperaturas más altas de tratamiento térmico (66-74°, EXP 1), los valores del índice de encafecimiento fueron mayores (cuadro 11). En el resto de los experimentos, no se encontraron diferencias significativas en la mayoría de los tratamientos aplicados durante el almacenamiento. Este comportamiento no fue congruente con lo observado en la medición de los parámetros L^* y a^* durante el almacenamiento, posiblemente debido a la deficiente escala aplicada, la cual no contemplaba un cero por ciento de encafecimiento ni medía la intensidad de éste. Este problema también lo presentó la escala de índice de daño propuesta por Pelayo-Zaldívar y colaboradores (2006), la cual maneja 4 niveles de índice de daño (0, 1,2 y 3,) y no considera la intensidad del encafecimiento.

Para saber el IE inicial de los frutos de los diferentes estados de producción Oaxaca (exp 1 y 2) y Puebla (exp 3,4 y 5), se realizó una ANOVA de los 5 experimentos (cuadro 10).

Cuadro 10. Valores iniciales de IE en los litchis utilizados en los 5 experimentos independientes.

No experimento	IE
1	2.9±0.1 ^a
2	2.1±0.5 ^c
3	2.5±0.1 ^a
4	2.7±0.1 ^{ab}
5	2.7±0.2 ^{ab}

Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas en el análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

Los resultados indican que los litchis utilizados en los experimentos prácticamente partieron con el mismo IE, a excepción de aquellos del experimento dos, donde se trabajó con fruta de Oaxaca con 8 días después del corte. Sin embargo, durante la experimentación se observaron diferentes tonalidades de café en los litchis de todos los experimentos, lo cual no se pudo apreciar en los resultados y que es importante tomar en cuenta para observar claramente el efecto de los tratamientos sobre los frutos durante el almacenamiento.

Para contestar la primera pregunta de investigación con los datos de los experimentos 3 y 5 (apartado 6.3), se efectuó el análisis estadístico (cuadro 12). Los resultados indicaron que no se observó diferencia significativa al final del almacenamiento entre los diferentes tratamientos térmicos aplicados.

Respecto a la segunda pregunta de investigación, la comparación de medias t-student nos indicó que el IE en los frutos del experimento 3 no fue significativamente diferente del 5.

La tercera pregunta de investigación indicó que en general no existen diferencias entre temporadas de cosecha al final del periodo de almacenamiento.

Debido a las deficiencias mencionadas en la escala de medición, se propone evaluar la intensidad del grado de encafecimiento en forma individual, mediante un panel de jueces para disminuir la incertidumbre generada por la evaluación visual de un solo individuo, o bien con un cromámetro o colorímetro. Asimismo, se propone efectuar una correlación entre la medida visual y la instrumental para determinar si ambos son adecuados para el análisis de color. También se propone utilizar la ecuación reportada por Buera y colaboradores (1986) que incluye los parámetros de color L^* , a^* y b^* , y que ha sido empleada por varios autores en diversos frutos (Guerrero y col., 1996; Palou y col., 1999; Real-Sandoval, 2013).

Otra metodología que se sugiere es la reportada por Mishra y colaboradores (2009), donde el encafecimiento es determinado espectrofotométricamente a una longitud de onda de 420 nm; sin embargo, es indispensable optimizar el método de extracción de los pigmentos oscuros.

Cuadro 11. Resultados de la variable de respuesta IE en los cinco experimentos independientes.

Estado de cosecha	Experimento	Días después del corte	Muestreo	TERCER DÍA		SÉPTIMO DÍA		DÉCIMO DÍA				
			Tratamiento	Valor promedio de IE	Desviación Estándar	Valor promedio de IE	Desviación Estándar	Valor promedio de IE	Desviación Estándar			
Oaxaca	1	2 Y 3	Control	3.9 ^A	0.2	3.8 ^B	0.2	-	-			
			A-74°	3.4 ^A	0.3	5.6 ^A	0.2	-	-			
			A-72°	3.5 ^A	0.5	5.7 ^A	0.2	-	-			
			A-70°	3.5 ^A	0.9	5.8 ^A	0.2	-	-			
			A-68°	3.7 ^A	0.3	5.6 ^A	0.1	-	-			
			A-66°	3.6 ^A	0.5	5.6 ^A	0.3	-	-			
	2	8	Control	3.7 ^A	0.1	4.1 ^A	0.8	5.8 ^A	0.1			
			A-66°	3.8 ^A	0.6	3.7 ^A	0.3	5.8 ^{AB}	0.1			
			A-63°	3.7 ^A	0.1	3.7 ^A	0.1	5.6 ^{AB}	0.1			
			A-60°	3.6 ^A	0.4	3.5 ^A	0.2	5.5 ^{AB}	0.2			
			A-57°	3.6 ^A	0.1	3.7 ^A	0.3	5.6 ^{AB}	0.1			
			A-54°	3.4 ^A	0.2	3.8 ^A	0.2	5.5 ^B	0.2			
			Puebla	3	1	Control	3.5 ^{A;B;AB}	0.2	2.5 ^B	0.4	2.9 ^{ABA}	0.1
						Control ácido	3.4 ^{A;AB}	0.5	3.9 ^{A;A}	0.3	3.0 ^{ABA}	0.8
a-60°	3.2 ^A	0.2				3.5 ^{AB}	0.2	3.8 ^A	0.2			
a-60°	60°	4.0 ^A				0.2	3.8 ^A	0.3	2.8 ^A	0.1		
a-57°	57°	3.2 ^A				0.3	3.2 ^{BC}	0.3	3.3 ^{AB}	0.3		
a-54°	54°	3.2 ^A				0.2	3.1 ^{BC}	0.2	3.1 ^{AB}	0.1		
a-51°	51°	3.4 ^A				0.3	2.8 ^{BC}	0.1	2.5 ^B	0.3		
a-48°	48°	3.1 ^A				0.2	3.3 ^{AB}	0.2	3.3 ^{AB}	0.2		
4	6	Control		2.6 ^A	0.1	2.9 ^A	0.1	3.7 ^B	0.4			
		a-54°		2.8 ^A	0.1	3.0 ^A	0.1	4.5 ^A	0.1			
		a-51°		2.7 ^A	0.1	3.0 ^A	0.1	4.4 ^{RB}	0.1			
		a-48°		2.7 ^A	0.2	3.0 ^A	0.2	4.3 ^{AB}	0.4			
		a-45°		2.6 ^A	0.1	3.0 ^A	0.2	4.5 ^A	0.1			
		a-42°		2.6 ^A	0.2	2.8 ^A	0.2	4.3 ^{RB}	0.3			
5	2	Control	2.8 ^{A;A}	0.15	3.4 ^{A;AB}	0.2	-	-				
		A-60°	2.7 ^A	0.3	3.7 ^A	0.3	-	-				
		A-57°	2.7 ^A	0.3	3.6 ^A	0.3	-	-				
		A-54°	3.0 ^A	0.0	3.6 ^A	0.1	-	-				
		A-51°	2.9 ^A	0.0	3.8 ^A	0.1	-	-				
		A-48°	2.7 ^A	0.4	3.3 ^A	0.5	-	-				
		A-45°	2.8 ^A	0.1	3.7 ^A	0.1	-	-				
		A-42°	3.2 ^A	0.2	3.9 ^A	0.2	-	-				
			3.2 ^A	0.1	3.2 ^{AB}	0.1	-	-				

Nota: Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

Cuadro 12. Preguntas de investigación planteadas. Índice de encafecimiento (IE). Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación (PI)	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	Exp 3		Exp 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta	No	No	No	No	No	No
Respuesta a PI						
Índice de encafecimiento	Orden de las medias*		Orden de las medias*			
	FG:	FG:	FG:	FG:		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, sombreado: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

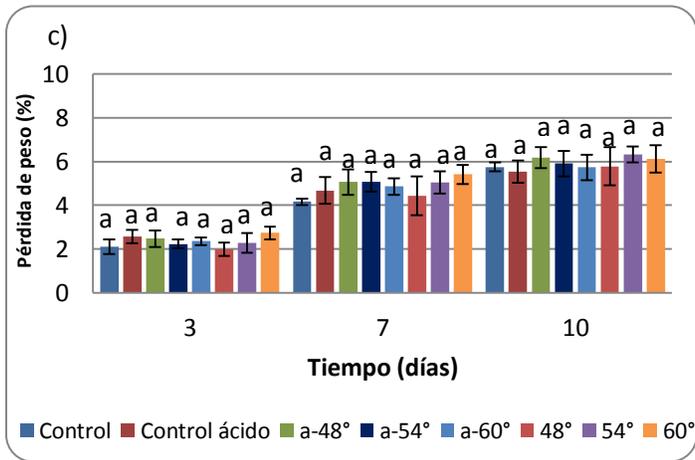
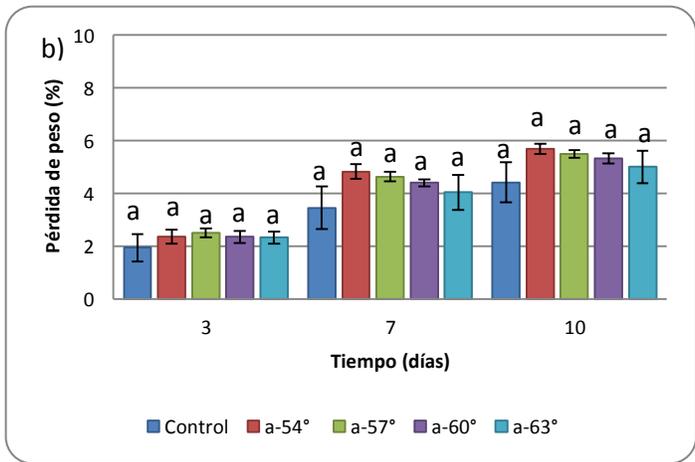
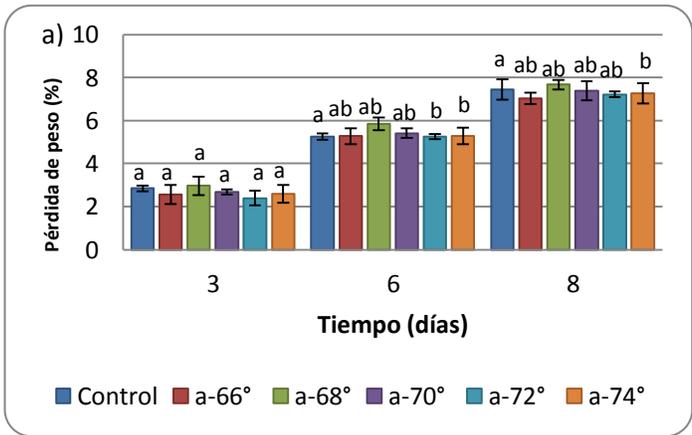
7.3 Variables que afectan indirectamente al color: Pérdida de peso y pH

7.3.1 Pérdida de peso

La pérdida de peso puede tener un efecto negativo en el color del fruto. En micrografías de cáscara de litchi (fig. 1) se observa una cutícula muy delgada susceptible a fisuras conforme avanza el desarrollo, así mismo se ha observado que el litchi en condiciones ambientales llega a perder hasta el 50% de su peso en aproximadamente 2 semanas. Pelayo-Zaldívar y colaboradores (2006) propusieron un intervalo de pérdida de peso de 3 a 5% y hasta un máximo del 10% como pérdida aceptable desde el punto de vista comercial.

En general la pérdida de peso registrada para los tratamientos aplicados en todos los experimentos se encontró dentro de los intervalos aceptables desde el punto de vista comercial (ver figura 15). Sin embargo, se observó que entre experimentos, la máxima pérdida de peso varió, aunque en general el control no difirió de los tratamientos aplicados.

Con respecto a las preguntas de investigación (ver cuadro 13) no se encontraron diferencias entre tratamientos (primera pregunta) ni entre las temporadas de producción de ambos experimentos (tercera pregunta). Se ha reportado que la pérdida de peso está directamente relacionada con el rápido oscurecimiento del pericarpio (Underhill y Simons, 1993); desafortunadamente, nuestros resultados no indicaron esto, probablemente debido a las deficiencias mencionadas en la escala de medición del IE.



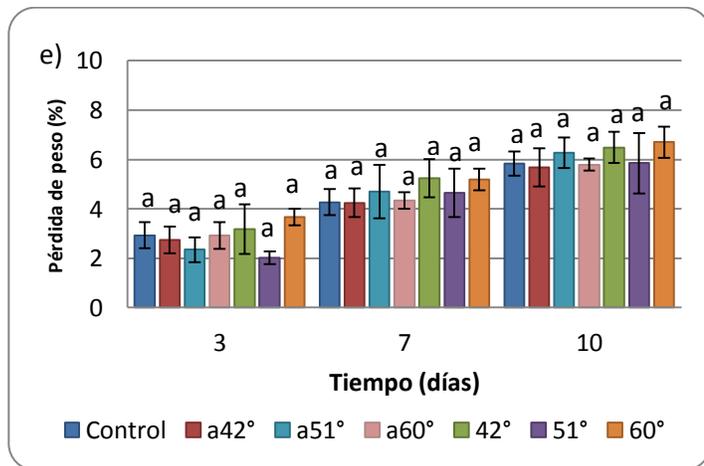
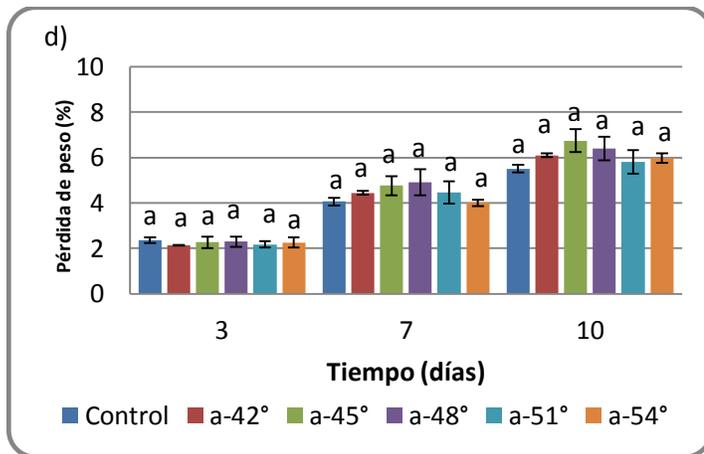


Figura 15. Pérdida de peso de frutos de litchi en a) primer experimento (66-74°C) con inmersión ácida, b) segundo experimento (54-63 °C) con inmersión ácida, c) tercer experimento (48-60°C) con y sin inmersión ácida, d) cuarto experimento (42-54°C) con inmersión ácida, e) quinto experimento (42-60°C) con y sin inmersión ácida. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos de acuerdo al análisis múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

Cuadro 13. Preguntas de investigación planteadas. Pérdida de peso. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	Exp 3		Exp 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta Respuesta a PI	No	No	No	No	No aplica	No
Pérdida de peso	Orden de las medias*		Orden de las medias*			

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, sombreado: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

7.3.2 pH

Los pHs más bajos del pericarpio favorecen la estructura de catión flavilio (rojo) de las antocianinas. Jiang y Fu (1999) reportaron valores para el pericarpio de litchi entre 4.2 y 4.4 cuando el fruto se almacenó a humedades relativas de 80 a 90 %, similares a las registradas en nuestros experimentos (86%).

En las figuras 16 y 17 se muestran los datos de pH de la cáscara de litchi obtenidos en los experimentos 3 y 5, y en el cuadro 14 los resultados de las preguntas de investigación para los mismos experimentos. En ambos experimentos los pH más bajos se obtuvieron a temperaturas cercanas a las óptimas calculadas y en los frutos que recibieron inmersión ácida y sólo en el experimento 5 se observó, en algunos tratamientos, un incremento significativo del pH del pericarpio (de 4.2 a 4.4) durante el almacenamiento, mostrando los frutos control el pH más alto con respecto al pH inicial.

Respecto a las preguntas de investigación, la primera indicó que los cambios de pH en el pericarpio de los frutos almacenados no guardaron relación con los TT aplicados, aunque en el experimento 5 se observó que cuando los frutos tratados térmicamente no llevaron inmersión ácida, el menor pH se obtuvo con la máxima temperatura de tratamiento térmico aplicada. Con relación a la segunda y tercera preguntas de investigación, observamos que no hubo diferencias significativas del pH al inicio pero sí al final del almacenamiento entre las temporadas de cosecha medía y tardía (experimentos 3 y 5). Este comportamiento podría estar relacionado con modificaciones en la concentración y/o tipo de ácidos orgánicos o sustancias con carácter ácido presentes en la cáscara del litchi durante su almacenamiento.

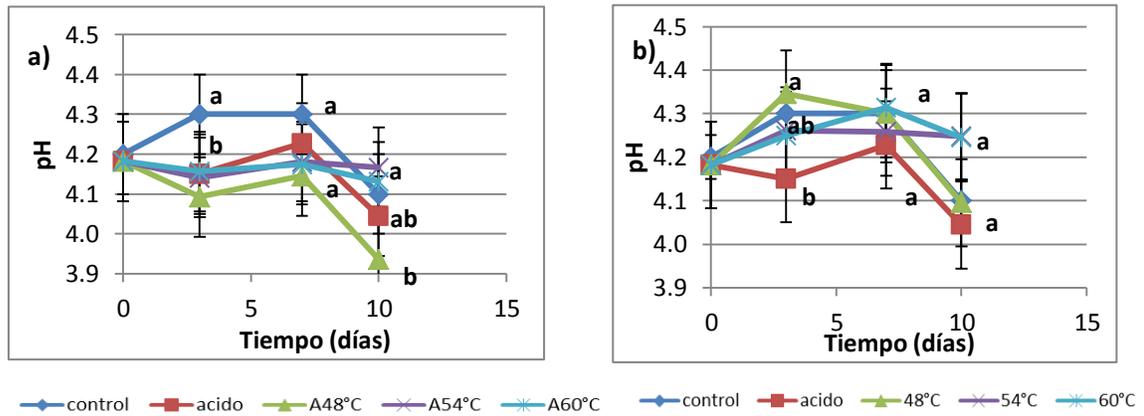


Figura 16. pH del pericarpio de litchi cv. Brewster tratado a 60°,54 y 48°C con a) inmersión ácida y b) sin inmersión ácida, del experimento 3. Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos por día de muestreo de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

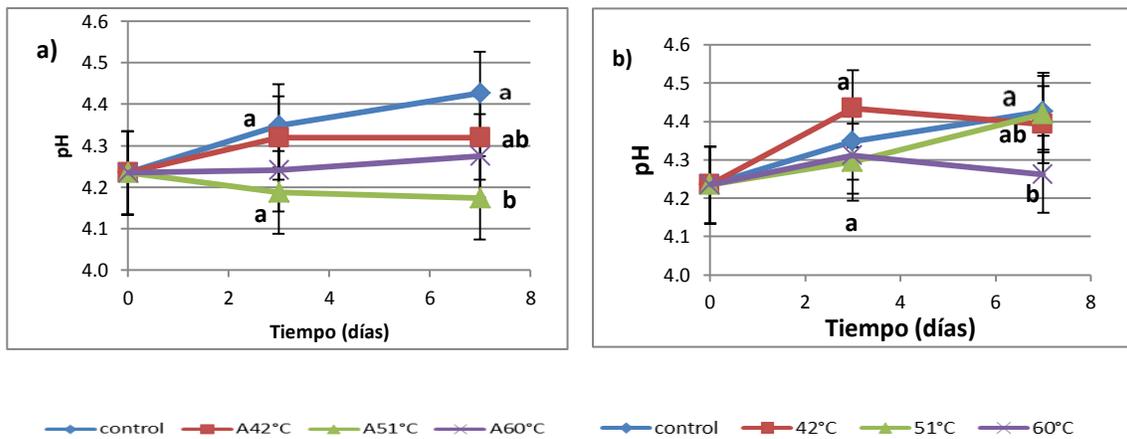


Figura 17. pH del pericarpio de litchi cv. Brewster tratado a 60°,51° y 42°C con a) inmersión ácida y b) sin inmersión ácida, del experimento 5. Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos por día de muestreo de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

Cuadro 14. Preguntas de investigación planteadas. pH de la cáscara. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación (PI)	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	Exp 3		Exp 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de Respuesta	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí
Respuesta a PI						
pH de la cáscara	Orden de las medias*		Orden de las medias*			
	FG: a a54° control a60° ab ácido b a48°	FG: a control 51° ab 42° b 60°	FG: a control a60° a42° b a51°	FG: a control a60° a42° b a51°		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, sombreado: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

7.4 Variables asociadas al sabor: sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) cociente SST/AT y metabolitos de fermentación.

7.4.1 Sólidos solubles totales (SST)

Existe en general, una relación directa entre el grado de dulzura y el porcentaje de sólidos solubles totales, debido a que los azúcares son los sólidos solubles predominantes en el jugo de las frutas. En litchi se recomienda una concentración de SST de 14-20 en fruta recién cosechada (Pelayo-Zaldívar y col., 2006).

En el cuadro 15 se muestran los resultados de SST de los experimentos 1,3 y 5, y en el 17 los resultados de las preguntas de investigación. En el experimento 1, el contenido de SST aumentó con el tiempo y al final del almacenamiento se observaron diferencias significativas entre tratamientos, aunque no hubo un comportamiento consistente con la temperatura de los TT aplicados. En el experimento 3, los SST disminuyeron significativamente con el tiempo de almacenamiento (de 19.3 a 17.9-18.4) y en el experimento 5 aumentaron (de 16.9 a 17.4-17.9), pero no significativamente.

En cuanto a las preguntas de investigación (ver cuadro 16), se observó que en los experimentos 3 y 5 no hubo diferencia significativa en los SST entre tratamientos al final del almacenamiento ni entre temporadas de producción (primera y tercera pregunta de investigación), sólo existió diferencia significativa entre los frutos iniciales de los experimento 3 y 5, observándose un mayor contenido de SST en los frutos del experimento 3 correspondientes a la segunda temporada de cosecha (temporada media). Asimismo, se observó que la concentración de SST en los frutos sometidos a tratamiento se encontraron dentro de los parámetros de calidad propuestos comercialmente para fruta recién cosechada (experimento 3: 19.3 y 5: 16.9, valor recomendado: 14-20) (Pelayo-Zaldívar y col. 2006).

Cuadro 15. Porcentaje de sólidos solubles totales

Estado de cosecha	Experimento	Días después del corte	Muestreo	Tercer día		Séptimo Día		Décimo día	
			Tratamiento	Valor promedio de °Brix	Desviación Estándar	Valor promedio de °Brix	Desviación Estándar	Valor promedio de °Brix	Desviación Estándar
Oaxaca	1	2 Y 3	Control	19 ^A	0.9	19.1 ^B	0.1	-	-
			a-74°	18.8 ^A	0.4	19.1 ^B	0.3	-	-
			a-72°	18.7 ^A	0.2	19.2 ^{AB}	0.2	-	-
			a-70°	18.7 ^A	0.2	19.1 ^B	0.1	-	-
			a-68°	18.5 ^A	0.6	19.8 ^A	0.3	-	-
			a-66°	17.8 ^A	0.4	19.1 ^B	0.1	-	-
Puebla	3	1	Control	18.9 ^{A;A}	0.1	18.0 ^{A;A}	0.2	18.1 ^{A;A}	0.4
			Control ácido	19.1 ^A	0.2	17.7 ^A	0.6	18.3 ^A	0.2
			a-60°	17.3 ^B	0.6	17.3 ^A	1.4	18.3 ^A	0.3
			*60°	19.1 ^A	0.5	18.3 ^A	0.1	17.9 ^A	0.4
			a-57°	16.3 ^B	0.6	18.1 ^A	0.3	18 ^A	0.5
			57°	16.3 ^B	0.6	18.1 ^A	0.3	18 ^A	0.5
			a-54°	17.5 ^B	0.6	17.7 ^A	0.5	18.4 ^A	0.2
			*54°	18.7 ^A	0.3	19.0 ^A	0.9	17.9 ^A	0.3
	a-51°	16.5 ^B	0.6	18.3 ^A	0.3	18.1 ^A	0.4		
	51°	16.5 ^B	0.6	18.3 ^A	0.3	18.1 ^A	0.4		
	a-48°	17.0 ^B	0.2	16.6 ^A	0.7	18.5 ^A	0.1		
	*48°	19.3 ^A	0.2	18.1 ^A	0.4	17.9 ^A	0.3		
	5	2	Control	17.3 ^{AB;A}	0.41	17.7 ^{A;A}	0.12	-	-
			a-60°	17.8 ^{AB}	0.2	17.8 ^A	0.60	-	-
60°			17.5 ^A	0.3	17.4 ^A	0.20	-	-	
a-57°			17.6 ^{AB}	0.35	17.4 ^A	0.72	-	-	
57°			17.8 ^A	0.72	17.87 ^A	0.12	-	-	
a-54°			18.1 ^A	0.11	17.7 ^A	0.23	-	-	
54°			17.6 ^A	0.0	17.87 ^A	0.23	-	-	
a-51°			17.1 ^B	0.23	17.3 ^A	0.30	-	-	
51°			17.1 ^B	0.61	17.6 ^A	0.34	-	-	
a-48°			17.9 ^{AB}	0.23	18.3 ^A	0.41	-	-	
48°	18 ^A	0.0	17.7 ^A	0.23	-	-			
a-45°	17.7 ^{AB}	0.23	17.6 ^A	0.53	-	-			
45°	18.1 ^A	0.12	17.8 ^A	0.6	-	-			
a-42°	17.1 ^B	0.7	17.3 ^A	0.57	-	-			
42°	17.4 ^A	0.2	17.6 ^A	0.35	-	-			

Nota: Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007). En el experimento 3 se denota con un asterisco las temperaturas de tratamiento térmico sin inmersión ácida que fueron muestreadas.

Cuadro 16. Preguntas de investigación planteadas. Sólidos solubles totales (SST). Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	EXP 3		EXP 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta	No	No	No	No	Sí	No
Respuesta a PI						
SST (°Brix)	Orden de medias*		Orden de medias*		Tp2>Tp3	
	FG:	FG:	FG:	FG:		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, sombreado: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

7.4.2 Acidez titulable (AT)

La acidez titulable es un componente importante para balancear el sabor. Un litchi con poca acidez no es bien aceptado sensorialmente y se recomienda una AT entre 0.2-1.0% (Pelayo-Zaldívar y col., 2006).

En el cuadro 17 se muestran los resultados de AT de los experimentos 1,3 y 5, y en el cuadro 18 los resultados de las preguntas de investigación de los experimentos 3 y 5. En los tres experimentos la AT de los frutos disminuyó significativamente con el tiempo de almacenamiento, de 0.626 a 0.389-0.443% en el experimento 3 y de 0.473 a 0.21-0.290 en el 5. Respecto a las preguntas de investigación, no hubo diferencias significativas en los SST de los frutos tratados en los experimento 3 y 5 al final del almacenamiento, ni entre frutos de diferente temporada de producción al inicio y al final del almacenamiento. Asimismo, la AT de los frutos tratados de ambos experimentos se mantuvo dentro de los parámetros de calidad recomendados para fruta recién cosechada (0.2-1.0%).

Cuadro 17. Porcentaje de acidez titulable expresada como ácido málico.

Estado de cosecha		Días después del corte	Muestreo	Tercer día		Séptimo día		Décimo día		
			Tratamiento	Valor promedio de AT	Desviación Estándar	Valor promedio de AT	Desviación Estándar	Valor promedio de AT	Desviación Estándar	
Oaxaca	1	2 Y 3	Control	0.411 ^A	0.041	0.331 ^B	0.043	-	-	
			74°	0.416 ^A	0.075	0.447 ^{AB}	0.066	-	-	
			72°	0.518 ^A	0.067	0.380 ^{AB}	0.034	-	-	
			70°	0.545 ^A	0.060	0.491 ^A	0.020	-	-	
			68°	0.451 ^A	0.043	0.411 ^{AB}	0.069	-	-	
			66°	0.456 ^A	0.054	0.380 ^{AB}	0.056	-	-	
Puebla	3	1	Control	0.514 ^A	0.16	0.518 ^A	0.108	0.438 ^A	0.034	
			Control ácido	0.559 ^A	0.102	0.438 ^A	0.051	0.438 ^A	0.063	
			a-60°	0.514 ^A	0.434 ^A	0.077	0.510 ^A	0.071	0.402 ^A	0.027
			* 60°			0.063	0.442 ^A	0.053	0.389 ^A	0.013
			a-57°	0.514 ^A		0.051	0.438 ^A	0.041	0.438 ^A	0.076
			* 57°							
			a-54°	0.474 ^A	0.460 ^A	0.047	0.487 ^A	0.031	0.411 ^A	0.041
	* 54°			0.116	0.483 ^A	0.107	0.402 ^A	0.027		
	a-51°	0.612 ^A		0.081	0.478 ^A	0.028	0.554 ^A	0.047		
	* 51°									
	a-48°	0.447 ^A	0.451 ^A	0.028	0.514 ^A	0.086	0.443 ^A	0.094		
	* 48°			0.054	0.384 ^A	0.044	0.380 ^A	0.039		
	5	2	Control	0.223 ^{B,B}	0.008	0.228 ^{A;A}	0.013	-	-	
			a-60°	0.340 ^A	0.277 ^{AB}	0.007	0.281 ^{A;A}	0.013	-	
* 60°					0.039	0.210 ^A	0.028	-		
a-57°			0.299 ^{AB}	0.228 ^B	0.004	0.219 ^A	0.040	-		
* 57°					0.023	0.197 ^A	0.020	-		
a-54°			0.295 ^{AB}	0.317 ^A	0.070	0.308 ^A	0.084	-		
* 54°					0.043	0.290 ^A	0.030	-		
a-51°			0.192 ^B	0.237 ^{AB}	0.031	0.237 ^A	0.008	-		
* 51°			0.015	0.223 ^A	0.015	-				
a-48°	0.295 ^{AB}	0.232 ^B	0.040	0.264 ^A	0.008	-				
* 48°			0.020	0.237 ^A	0.038	-				
a-45°	0.255 ^{AB}	0.255 ^{AB}	0.023	0.250 ^A	0.008	-				
* 45°			0.035	0.290 ^A	0.077	-				
a-42°	0.299 ^{AB}	0.317 ^A	0.060	0.277 ^A	0.060	-				
* 42°			0.031	0.295 ^A	0.087	-				

Nota: Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007). En el experimento 3 se denota con un asterisco las temperaturas de tratamiento térmico sin inmersión ácida que fueron muestreadas.

Cuadro 18. Preguntas de investigación planteadas. Acidez titulable (AT). Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	¿Hay efecto significativo del tiempo de almacenamiento (entre el día 0 vs día 10 exp 3 y 0 vs 7 exp 5)?		¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3?	¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor		Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	EXP 3	EXP 5	EXP 3		EXP 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
			Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta Respuesta a PI	Sí	Sí	No	No	No	No	No	No
% Acidez titulable	Orden de medias*	Orden de medias*	Orden de medias*		Orden de medias*			
	FG: a inicial b a48° ácido control a54° a60° 54° 60°	FG: a inicial ab 42° b a60° a42° a51° control 51° 60°	FG:	FG:	FG:	FG:		

Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, **sombreado**: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

7.4.3 Cociente SST/AT

La calidad sensorial de los frutos se ve mejor reflejada con el cociente SST/AT. Así, para fruta recién cosechada, se recomienda un cociente SST/AT de 35-40, mientras que para fruta almacenada, este cociente crece (por reducción de la acidez), pudiendo fluctuar entre 20 a 100 (Pelayo-Zaldívar y col., 2006).

En el cuadro 19 se muestran los resultados del cociente SST/AT de los experimentos 1,3 y 5 y en el cuadro 20 los resultados de las preguntas de investigación para los experimentos 3 y 5. En el experimento 1, los frutos sometidos a temperaturas elevadas de tratamiento térmico (66-74 °C) no rebasaron, al final del almacenamiento, el límite de balance azúcar/ácido recomendado (20-100), aunque su calidad visual no fue aceptable. En los otros dos experimentos el cociente SST/AT aumentó significativamente al transcurrir el tiempo de almacenamiento (de 31.2 a 42.2-47.4 en el experimento 3 y de 38.2 a 63.3-83.8 en el 5).

Respecto a las preguntas de investigación, no se observó diferencia entre tratamientos al final del almacenamiento, ni entre temporadas de producción al inicio y al final de éste en ambos experimentos. Es importante señalar que el cociente SST/AT para los experimentos 3 (31.2) y 5 (38.2) se encontró dentro de los parámetros de calidad propuestos comercialmente para fruta recién cosechada (SST/AT: 35-40) (Pelayo-Zaldívar y col. 2006), lo cual es favorable desde el punto de vista sensorial.

Cuadro 19. Cociente SST/AT. Experimentos 1, 3 y 5.

Estado de cosecha	Días después del corte	Muestreo	Tercer día		Séptimo día		Décimo día	
		Tratamiento	Valor promedio de SST/AT	Desviación Estándar	Valor promedio de SST/AT	Desviación Estándar	Valor promedio de SST/AT	Desviación Estándar
Oaxaca	2 Y 3	Control	46.4 ^A	3.8	58.4 ^A	8.5	-	-
		74°	46.1 ^A	7.1	43.3 ^A	6.5	-	-
		72°	36.4 ^A	4.7	50.8 ^A	3.9	-	-
		70°	34.6 ^A	3.6	39.0 ^A	1.4	-	-
		68°	41.4 ^A	5.3	49.2 ^A	9.7	-	-
		66°	39.3 ^A	3.8	51.0 ^A	6.9	-	-
Puebla	1	Control	39.0 ^A	10.3	35.8 ^A	8.0	41.6 ^A	4.1
		Control ácido	35.0 ^A	6.2	40.8 ^A	5.7	42.2 ^A	5.4
		a-60° *60°	34.2 ^A 44.9 ^A	5.1 8.0	34.7 ^A 41.7 ^A	7.9 4.8	45.6 ^A 46.0 ^A	3.6 0.6
		a-57° 57°	31.9 ^A	2.8	41.6 ^A	4.0	41.8 ^A	6.1
		a-54° *54°	37.2 ^A 42.6 ^A	5 12.5	36.4 ^A 40.5 ^A	3.1 7.7	45.0 ^A 44.7 ^A	4.6 3.5
		a-51° 51°	27.3 ^A	4	38.3 ^A	2.2	32.7 ^A	2.7
		a-48° *48°	38.1 ^A 43.0 ^A	2.6 4.6	33.1 ^A 47.4 ^A	7.6 5.9	42.9 ^A 47.4 ^A	8.0 5.9
		Control	77.3 ^{AB;AB}	4.3	77.7 ^A	5.0	-	-
	2	a-60° 60°	52.4 ^B 63.8 ^{ABC}	1.7 8.5	63.3 ^A 83.8 ^A	2.8 11.5	-	-
		a-57° 57°	58.8 ^B 78.6 ^A	2.7 8.2	81.0 ^A 91.6 ^A	12.7 10.5	-	-
		a-54° 54°	64.2 ^{AB} 56.2 ^{BC}	17.1 8.2	60.2 ^A 62.0 ^A	14.9 7.5	-	-
		a-51° 51°	90.2 ^A 72.3 ^{ABC}	12.8 7.0	72.9 ^A 79.0 ^A	2.5 4.7	-	-
		a-48° 48°	61.5 ^B 77.8 ^{AB}	7.9 6.7	69.5 ^A 75.5 ^A	1.5 10.2	-	-
		a-45° 45°	70.0 ^{AB} 72.2 ^{ABC}	6.3 11.1	70.3 ^A 64.5 ^A	2.5 18.2	-	-
		a-42° 42°	58.9 ^B 55.2 ^C	14.3 6.3	65.0 ^A 63.5 ^A	17.1 19.6	-	-

Nota: Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007). En el experimento 3 se denota con un asterisco las temperaturas de tratamiento térmico sin inmersión ácida que fueron muestreadas.

Cuadro 20. Preguntas de investigación planteadas. Cociente SST/AT. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	EXP 3		EXP 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta Respuesta a PI	No	No	No	No	No	No
SST/AT	Orden de medias*		Orden de medias*			
	FG:	FG:	FG:	FG:		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, **sombreado**: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

7.4.4 Metabolitos de fermentación

La producción de metabolitos de anaerobiosis como el acetaldehído (AA), el etanol (EtOH) y el acetato de etilo, cuyas concentraciones aumentan conforme progresa la maduración podrían afectar la calidad del sabor, por lo que sería deseable que al final del almacenamiento se les encontrara en concentraciones bajas. Los valores umbral (cantidad mínima de un compuesto químico que puede ser percibido sensorialmente por al menos el 50% de los jueces de un panel entrenado) reportados para AA y EtOH son de 0.12 $\mu\text{L AA/L}$ (Fors, 1988; Mulders y col., 1973) y 100 $\mu\text{L EtOH/L}$ (Flath y col., 1967; Fazzalari, 1978), respectivamente. Aunque, en litchi recién cosechado cv. Mauritius, se han cuantificado concentraciones de 2.35 a 3.35 $\mu\text{L AA/L}$ y de 1.5 a 6.4 $\mu\text{L EtOH/L}$ en jugo (Pesis y col., 2002).

Dado que algunos metabolitos de fermentación se sintetizan activamente durante la senescencia en algunos frutos, su producción puede ser un indicador de este proceso fisiológico y por lo tanto, del momento en que la vida útil de estos frutos se agota.

En los cromatogramas obtenidos, sólo fue posible cuantificar acetaldehído (AA) y etanol (EtOH), pues el acetato de etilo se encontró sólo en trazas (< 3 ppm). Lo anterior puede deberse a una baja actividad de la enzima alcohol acetiltransferasa, responsable de la transformación de etanol a acetato de etilo (Ke y col., 1994).

Para saber si los metabolitos de fermentación están relacionados con el desarrollo de la senescencia, se planteó un análisis de regresión lineal en todos los días de muestreo (día inicial, 3, 7 y 10 para el experimento 3 y día inicial, 3 y 7 para el experimento 5). Los resultados del experimento 3 (cuadro 21) indicaron que, aunque los niveles de estos metabolitos en los frutos control y los sometidos a tratamiento térmico (48 y 54°C) sin ácido cambiaron con respecto al tiempo y tuvieron ajuste lineal, no mostraron un buen coeficiente de correlación lineal corregido. En cuanto a los resultados del experimento 5 (cuadro 22), los niveles de metabolitos de todos los frutos tratados tuvieron un ajuste lineal, pero no se observó diferencia significativa entre tratamientos, lo que indica que no hay un comportamiento creciente con respecto al tiempo y por lo tanto, en este experimento tampoco los metabolitos de fermentación resultaron buenos indicadores de senescencia. Estos resultados también indicaron que la aplicación de tratamientos térmicos con inmersión ácida no tuvieron efecto en los niveles de AA y EtOH.

Cuadro 21. Análisis de regresión lineal de metabolitos de fermentación efectuado para frutos tratados del tercer experimento.

Tratamiento	DS* (>0.05)	Ajuste lineal	R ²	R ² corregida
Control	*	A	0.5985	0.558
Control-a	o	A	0.2624	0.189
48°	*	A	0.3614	0.298
54°	*	A	0.3717	0.309
60°	*	X	0.6850	0.654
a-48°	o	X	0.0611	-0.033
a-54°	o	X	0.0500	-0.045
a-60°	o	X	0.2828	0.210

Nota: DS: Diferencia significativa, R²: Coeficiente de correlación lineal, A: con ajuste, X: sin ajuste Paquete estadístico NCSS (2007).

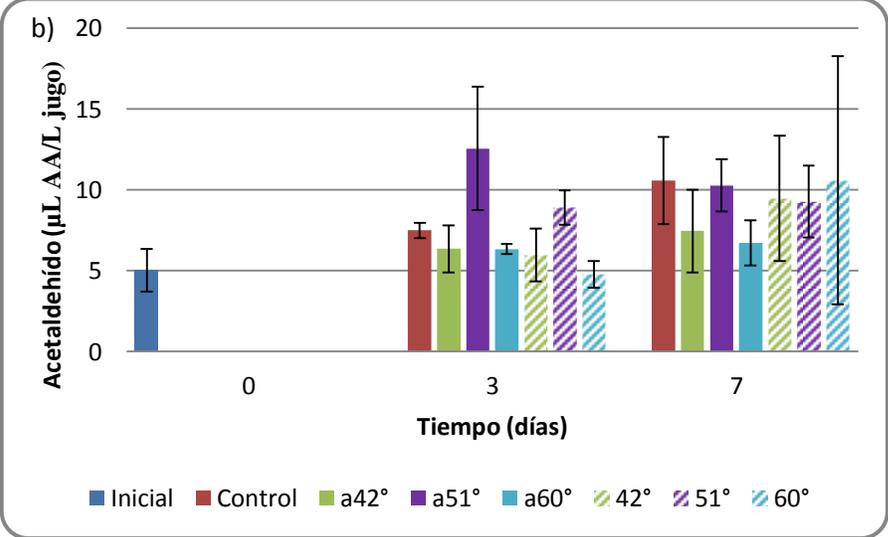
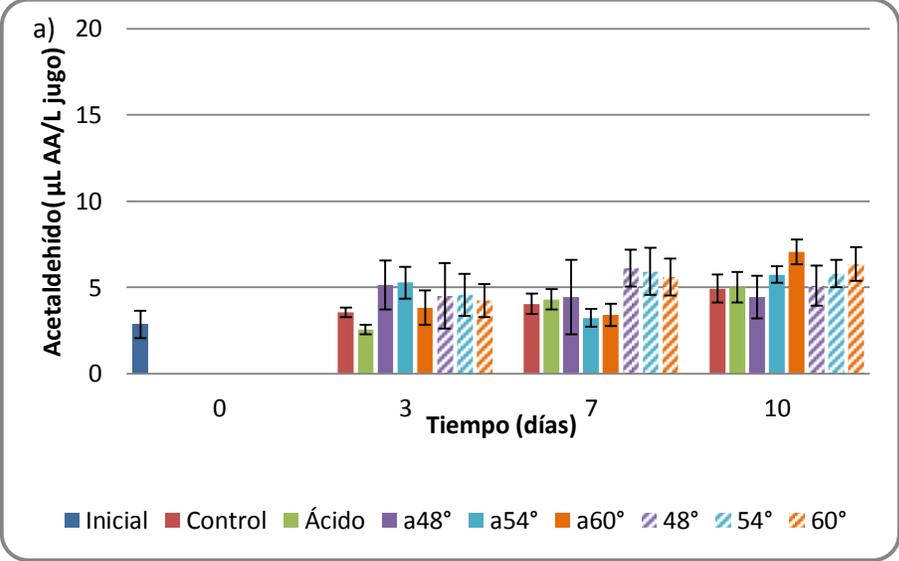
Cuadro 22. Análisis de regresión lineal de metabolitos de fermentación efectuado para frutos tratados del quinto experimento.

Tratamiento	DS* (>0.05)	Ajuste lineal	R ²	R ² corregida
Control	o	A	0.1967	0.082
42°	o	A	0.1943	0.079
51°	o	A	0.0288	-0.11
60°	o	A	0.0	-0.143
a-42	o	A	0.0163	-0.124
a-51°	o	A	0.1802	0.063
a-60°	o	A	0.0658	-0.068

Nota: DS: Diferencia significativa, R²: Coeficiente de correlación lineal, A: con ajuste, X: sin ajuste Paquete estadístico NCSS (2007).

En la figura 18 se muestran los resultados de metabolitos de fermentación de los experimentos 3 y 5, y en el cuadro 23 los resultados de las preguntas de investigación planteadas. Con respecto a la primera pregunta, en el experimento 3 las menores concentraciones de metabolitos de fermentación se encontraron en los frutos control con inmersión ácida y en los sometidos al tratamiento térmico de 48°C sin inmersión ácida. Por otro lado en el experimento 5, el menor contenido de metabolitos fue cuantificado cuando se aplicó el tratamiento en conjunto con la inmersión ácida a 51° y 60°C. Respecto a la segunda pregunta de investigación, se encontró diferencia significativa en el contenido de metabolitos en los frutos iniciales de los experimentos 3 y 5, observándose un menor contenido en los frutos del experimento 3 correspondientes a la segunda temporada de cosecha (temporada media). En los frutos iniciales, ambos metabolitos se encontraron por arriba de sus concentraciones umbral (0.12µL/L AA y 100 µL EtOH) en ambos experimentos (experimento 3 AA: 3µL/L, ETOH: 300 µL/L; experimento 5 AA: 5 µL/L, EtOH: 400 µL/L; ver figura 18). Para el caso del AA, esta concentración se encontró dentro del intervalo reportado (de 2.35 a 3.35µL AA/L) por Pesis y colaboradores (2002), lo cual no ocurrió con el etanol (1.5 a 6.4µL EtOH/L).

Respecto a la última pregunta de investigación, se encontró que no hubo efecto de la temporada de producción en la concentración de ambos metabolito al final del almacenamiento.



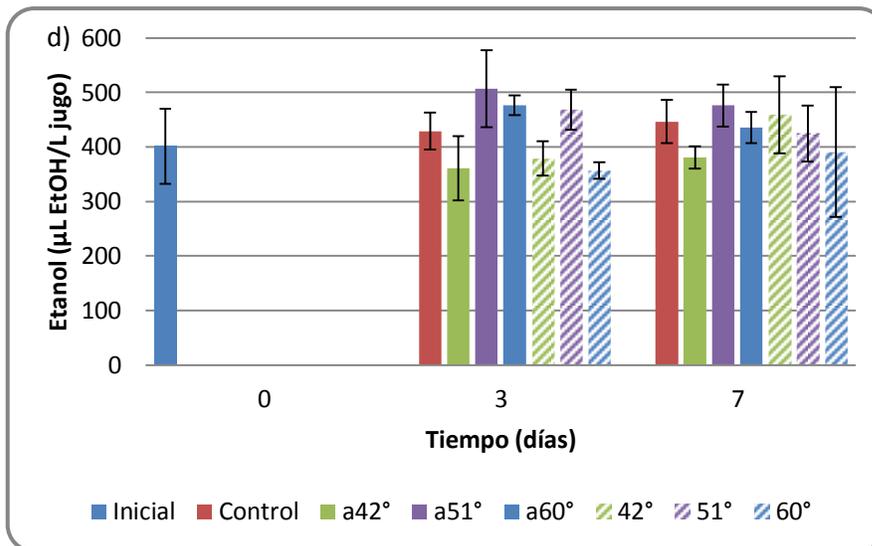
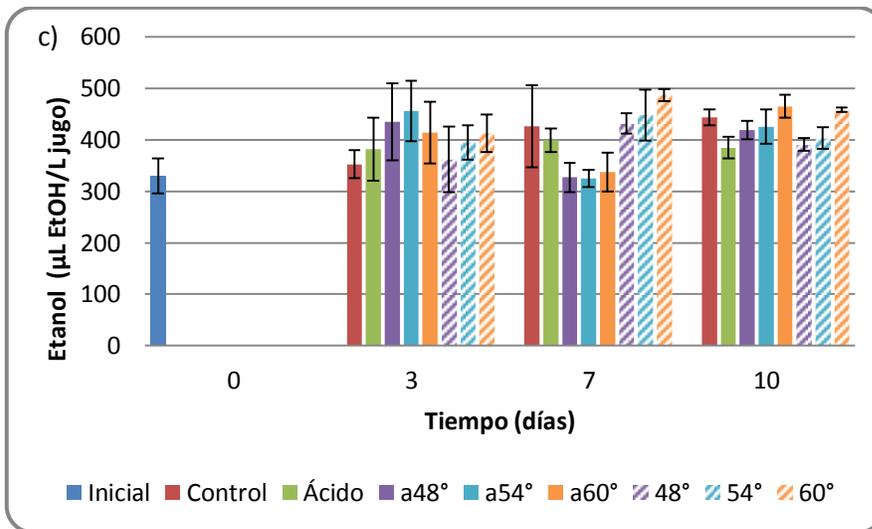


Figura 18. Contenido de acetaldehído en a) tercer y b) quinto experimento y etanol en c) tercer y d) quinto experimento, respectivamente.

Cuadro 23. Preguntas de investigación planteadas. Metabolitos de fermentación. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	EXP 3		EXP 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta	Sí	Sí	No	Sí	Sí	No
Respuesta a PI						
Metabolitos de fermentación	Orden de medias*		Orden de medias*		Tp2<Tp3	
	FG: a 60° ab control bc 54° c 48° ácido	a a60° ab control a54° a48° b ácido	FG: a a42° ab Control b a51° a60°	FG: a a42° ab Control b a51° a60°		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, **sombreado**: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

7.5 Variables asociadas a la capacidad antioxidante: compuestos fenólicos y antocianinas

7.5.1 Compuestos fenólicos

Los reportes en cuanto el efecto de los tratamientos térmicos en los compuestos fenólicos son contradictorios: por un lado, se ha observado un incremento de compuestos fenólicos, conforme aumenta la temperatura de tratamiento térmico, el cual se atribuye a la capacidad del calor para debilitar los enlaces covalentes de los precursores de compuestos fenólicos (Jeong, y col., 2004); pero por otro lado, se ha observado una disminución en la producción de los compuestos fenólicos debido a una producción preferencial de proteínas de choque térmico (HSP) sobre la síntesis y actividad de la enzima fenil alanina amonio liasa (PAL, por sus siglas en inglés, enzima clave en la vía de síntesis de los compuestos fenólicos) que entonces disminuye su actividad (ver fig. 5).

Entre las referencias que se han reportado con respecto al comportamiento de los fenoles, se encuentra la de Martínez-Castellanos y colaboradores (2011), quienes observaron una disminución en el contenido de fenoles (de 3200 a 2500 (mg eq. a catequina /kg de cáscara) y la de Wang y colaboradores (2011), quienes analizaron la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de cáscaras de diferentes cultivares de litchi cultivadas en China y cuantificaron un contenido de fenoles totales en el intervalo de 51000-102,000 (mg eq. a ácido gálico/kg cáscara).

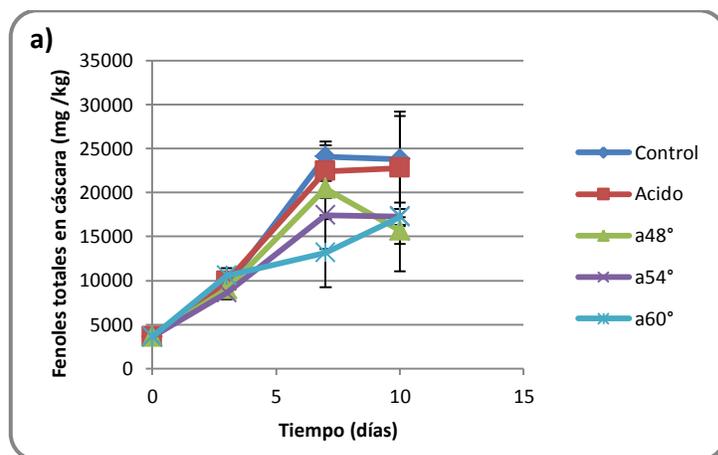
En la figura 19 se muestra el contenido de fenoles totales de los experimentos 3 y 5, y en el cuadro 24 los resultados de las preguntas de investigación planteadas. En la figura observamos que el contenido de fenoles en el experimento 3 incrementó de 3633 hasta 22761 mg/kg y en el experimento 5 disminuyó de 27584 hasta 19909 mg/kg, con respecto al tiempo, ambos significativamente. Debido a la participación de las enzimas PPO, POD en la degradación de compuestos fenólicos, un incremento en la concentración de fenoles en el experimento 3, probablemente esté relacionado con una baja actividad de las enzimas mencionadas.

El contenido de fenoles obtenido (5000 a 22761 mg/kg, experimento 3) fue mayor en 1.5 a 7 órdenes de magnitud al reportado por Martínez-Castellanos y colaboradores (2011)

(3200 a 2500 mg eq. a catequina /kg de cáscara). Aunque, habría que considerar que estos autores trabajaron con frutos cv Brewster provenientes de Sinaloa, y la cuantificación que realizaron se basó en una curva patrón de catequina (se espera una menor cuantificación de fenoles, ya que la catequina es un fenol polimérico y el ácido gálico que se usó en el presente estudio es monomérico); además hay que considerar las variaciones debidas a la temporada de cosecha. Mientras que los datos obtenidos al final del almacenamiento comparados con los reportados por Wang y colaboradores (2011) se encuentran dentro de los mismos órdenes de magnitud (51,000-102,000 mg eq. a ácido gálico/kg cáscara).

Analizando los datos con respecto a las preguntas de investigación (ver cuadro 24), se observa que no hay diferencia en el contenido de fenoles entre tratamientos, al final del almacenamiento. Las tendencias de incremento o disminución observadas a lo largo del almacenamiento, sugiere que estas variaciones son propias del fruto (fig. 19). Por otro lado, Saltveit (2000) reportó que la prevención del oscurecimiento por una respuesta al estrés térmico es aplicable sólo a tejidos donde se tienen bajos niveles de compuestos fenólicos y de actividad de PAL, ya que las temperaturas altas no anulan la actividad de las enzimas relacionadas al oscurecimiento (PAL, PPO, POD).

Analizando la segunda pregunta se observa que sólo existe diferencia al inicio del almacenamiento en los frutos de ambas temporadas en el contenido de fenoles totales, mostrando los frutos de la temporada dos (producción media) el menor contenido de compuestos bioactivos, y que no hay un efecto de temporada al final del almacenamiento (pregunta tres).



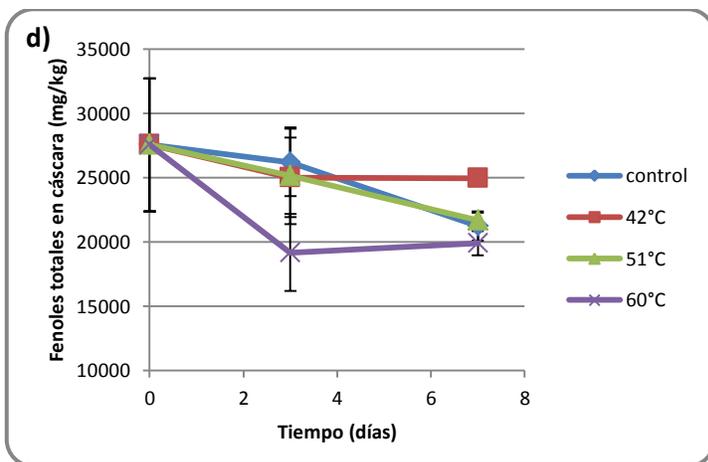
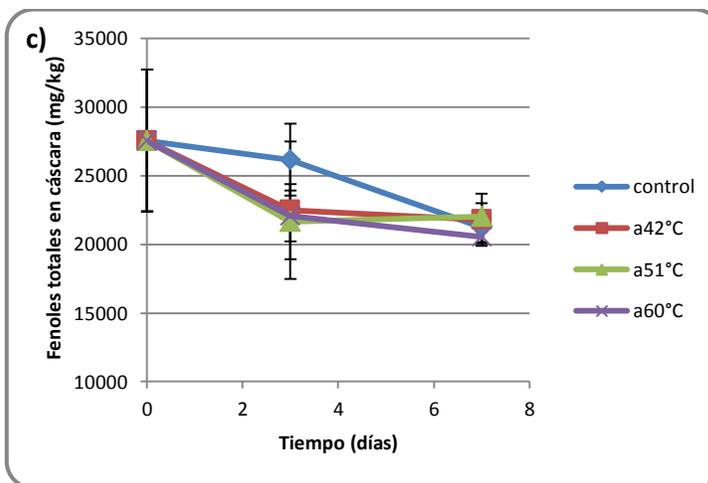
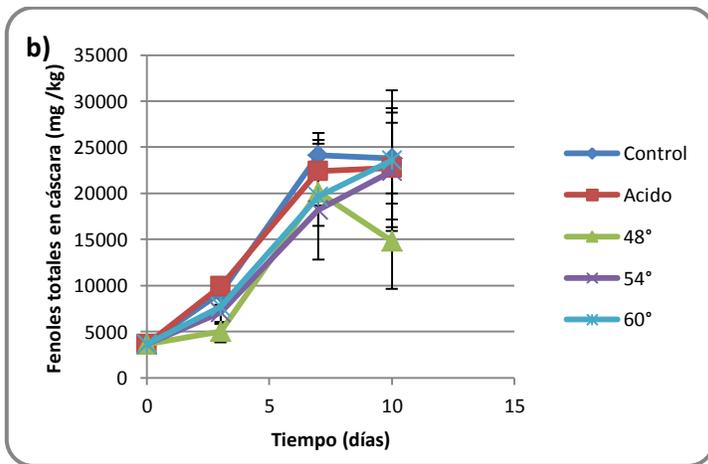


Figura 19. Contenido de fenoles totales en cáscara de litchi en el tercer experimento con (a) y sin (b) inmersión ácida, y en el quinto experimento con (c) y sin (d) inmersión ácida.

Cuadro 24. Preguntas de investigación planteadas. Cuantificación de fenoles totales. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	Exp 3		Exp 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta	No	No	Sí	No	Sí	No
Respuesta a PI						
Contenido de fenoles totales (mg eq ácido gálico/kg de muestra)	Orden de las medias*		Orden de las medias*		Tp2<Tp3	
			FG: a 42° b control 51° 60°			

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, **sombreado**: mejores tratamientos, “a” al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

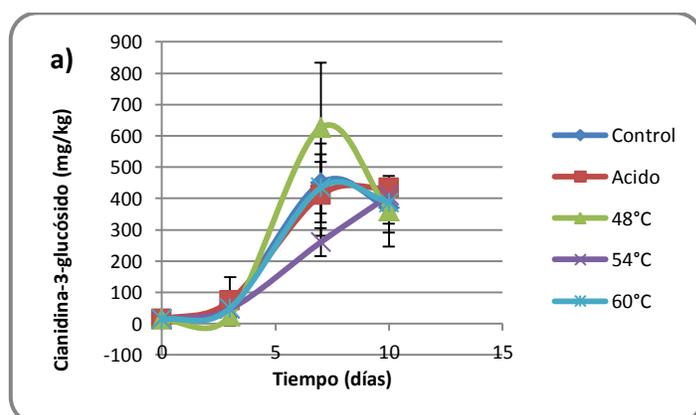
7.5.2 Contenido de antocianinas

En cuanto al efecto de los tratamientos térmicos en las antocianinas, se ha reportado que en granada incrementaron durante el almacenamiento en frutos hidrocalentados a 45°C por 4 minutos (Mirdehghan y col., 2006); en litchi, se observó una reducción del color y del contenido de estos pigmentos durante el almacenamiento debido al incremento en la actividad de la enzima antocianasa en el pericarpio (Sivakumar y Korsten, 2006); y Martínez-Castellanos y colaboradores (2011), reportaron una disminución en el contenido de antocianinas totales (de 7 a 5.6 unidades $\times 10^6$ /kg) en frutos almacenados a 10°C y 75% HR.

En la figura 20 se muestra el contenido de antocianinas totales de los experimentos 3 y 5, y en el cuadro 25 los resultados de las preguntas de investigación planteadas.

Las antocianinas totales incrementaron con respecto al tiempo (de 14 hasta 409 mg/kg) en el experimento 3, pero no en el 5. En este último experimento tampoco se observó una buena correlación entre el nivel de estos pigmentos y el parámetro cromático a^* , posiblemente debido a que el color rojo del pericarpio no se debe a la predominancia de la antocianina-3-glucósido, que fue la que se usó como base para la cuantificación, si no a la presencia de otra u otras mayoritarias o con diferente poder tintóreo. Por otro lado, este comportamiento puede atribuirse al fenómeno de copigmentación, el cual podría ocurrir en el pericarpio del fruto entre las antocianinas y un copigmento, el cual podría ser un compuesto fenólico, y estabilizar o reforzar el color rojo de las antocianinas (Brouillard y col., 1991; Wilska-Jezka y Korzuchowska, 1996; Bakowska y col., 2003).

Con respecto a las preguntas de investigación, sólo se observó diferencia significativa en el contenido de antocianinas en los frutos al inicio de la segunda y tercera temporada de cosecha (pregunta dos), mostrando los frutos de la segunda temporada (producción media) un menor contenido de pigmentos. Aunque este efecto de temporada no se observó al final del almacenamiento (pregunta tres).



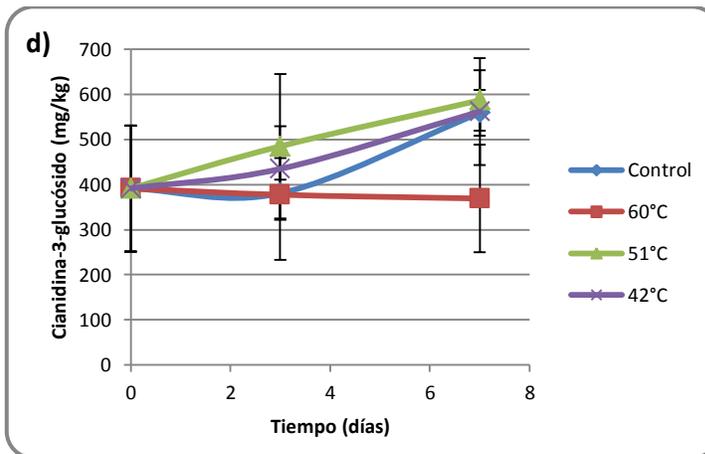
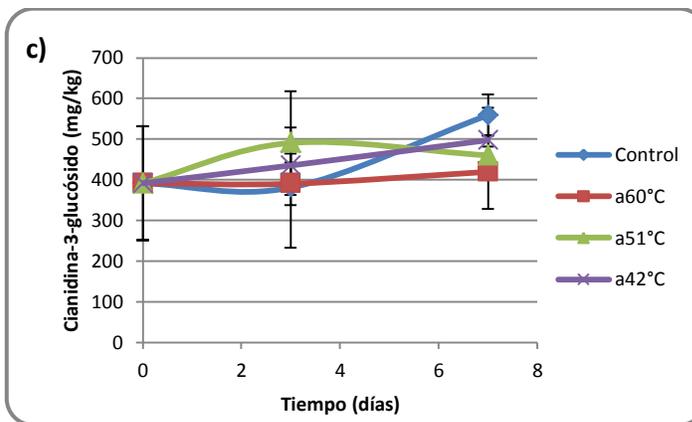
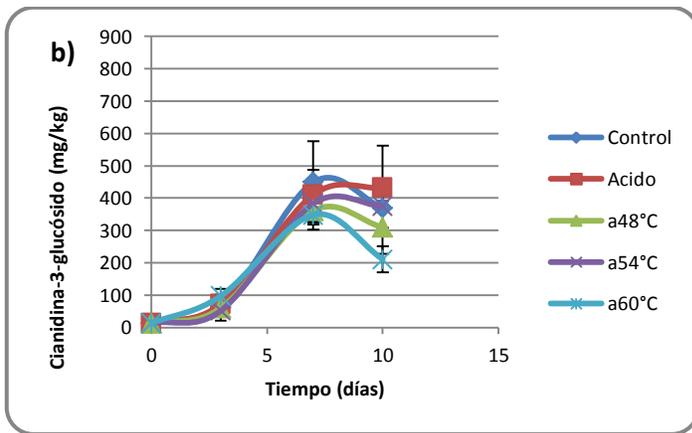


Figura 20. Contenido de antocianinas totales en cáscara de litchi en el tercer experimento con (a) y sin (b) inmersión ácida, y en el quinto experimento con (c) y sin (d) inmersión ácida.

Cuadro 25. Preguntas de investigación planteadas. Cuantificación de antocianinas totales. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra o población a analizar	Exp 3		Exp 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta	No	No	No	No	Sí	No
Respuesta a PI						
Antocianinas Cianidina-3- glucósido (mg/kg)	Orden de las medias*		Orden de las medias*		Tp2<Tp3	
	FG: FG:	FG: FG:	FG: FG:	FG: FG:		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, **sombreado**: mejores tratamientos, "a" al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

7.5.3 Capacidad antioxidante

El efecto de los tratamientos térmicos sobre en compuestos bioactivos con capacidad antioxidante varía ampliamente de acuerdo al tipo de fruto, tratamiento térmico y condiciones de almacenamiento. Schreiner y Huyskens-Keil (2006) postularon que el tratamiento térmico actúa como elicitador físico que afecta la biosíntesis de los compuestos fitoquímicos y las propiedades antioxidantes de los cultivos hortícolas. Se ha reportado que en cáscara de litchi las antocianinas (Duan y col., 2007) y los compuestos fenólicos (Sun y col., 2010) están fuertemente relacionados con el potencial antioxidante.

En la figura 21 se muestran los resultados de la capacidad antioxidante al inicio y al final de los experimentos 3 y 5, y en el cuadro 26 los resultados de las preguntas de investigación planteadas.

En la figura 21 se observa que tanto el contenido de fenoles como la capacidad antioxidante tuvieron el mismo comportamiento, incrementándose en el experimento 3 la capacidad antioxidante de 72 hasta 261 $\mu\text{mol E trolox/ g}$ cáscara. En el experimento 5 disminuyó el contenido de fenoles de 221 hasta 124 $\mu\text{mol E trolox/ g}$ cáscara y también la capacidad antioxidante con respecto al tiempo, ambos significativamente. Los resultados anteriores sugieren, que la capacidad antioxidante del pericarpio se debe mayoritariamente al contenido de compuestos fenólicos.

Analizando la primera pregunta de investigación (ver cuadro 26) se observa que sólo existió diferencia entre tratamientos al final del almacenamiento en la capacidad antioxidante del experimento 3 (máxima capacidad a 48° sin ácido), en el que los mejores tratamientos fueron aquellos sometidos a temperaturas cercanas a las óptimas calculadas (experimento 5, 50.9°C sin ácido; experimento 3, 51°C sin ácido). Respecto a la segunda pregunta se observó que sólo existió diferencia significativa en la capacidad antioxidante de los frutos al inicio de ambas temporadas de cosecha y no hubo, al igual que en el contenido de compuestos bioactivos, un efecto de temporada al final del almacenamiento (pregunta tres).

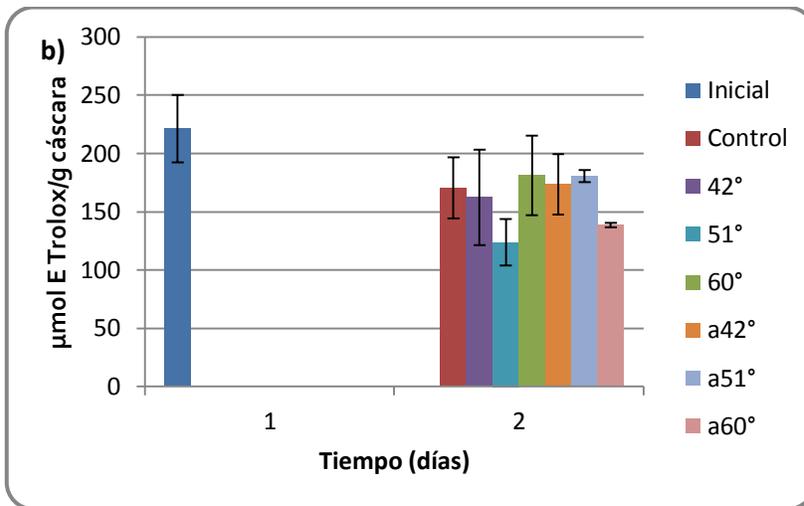
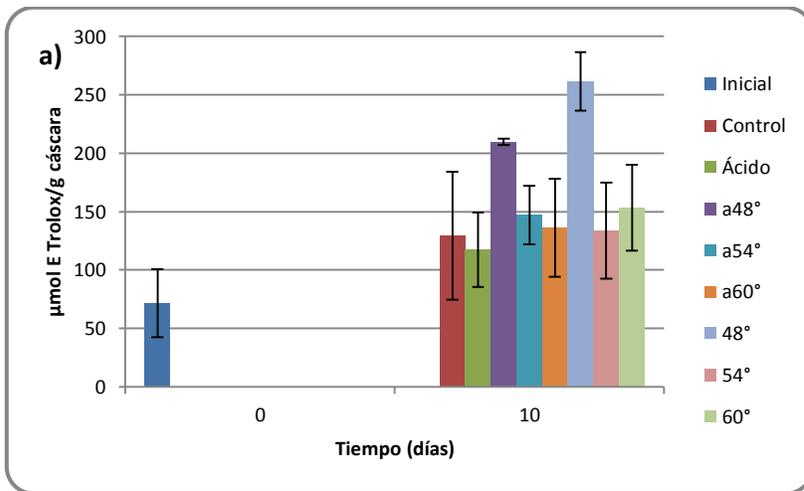


Figura 21. Capacidad antioxidante en cáscara de litchi en el tercer experimento con y sin inmersión ácida (a), y en el quinto experimento con y sin inmersión ácida (b).

Cuadro 26. Preguntas de investigación planteadas. Capacidad antioxidante. Experimentos 3 y 5.

Pregunta de investigación	1. ¿Hay efecto significativo del tratamiento aplicado al final del almacenamiento (día 10 exp 3 y 7 exp 5)?				2. ¿Hay diferencias significativas en los frutos iniciales de las temporadas 2 y 3?	3. ¿Hay diferencias significativas en los frutos de las temporadas 2 y 3 al final del almacenamiento?
Tipo de análisis	Anova de un factor				t-student	Anova de un factor y un bloque
Muestra a analizar	Exp 3		Exp 5		Tp 2 y 3	Tp 2 y 3 al día 10 y 7
	Sa	Ca	Sa	Ca		
Variable de respuesta	Sí	No	No	No	Sí	No
Respuesta a PI						
Capacidad antioxidante (DPPH) ($\mu\text{mol E Trolox/g cáscara}$)	Orden de las medias*		Orden de las medias*		Tp2<Tp3	
	FG: a 48°	FG: b 60° 54° control ácido	FG: a	FG: b		

Nota: Exp: Experimento, Sa: Sin inmersión ácida, Ca: Con inmersión ácida, Tp: Temporada, FG: Formación de grupos, **sombreado**: mejores tratamientos, “a” al inicio de cada temperatura: con inmersión ácida. *Letras diferentes indican grupos con diferencia significativa ($p < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias Tukey (NCSS 2007).

8. Conclusiones

- Se encontró que la mejor secuencia de aplicación de tratamientos fue hidrogenfriamiento seguido de tratamiento térmico.
- La mejor formulación ácida fue una mezcla de ácido cítrico al 6% y fosfórico al 2%.
- Utilizando el parámetro cromático a^* se determinó que las temperaturas óptimas de tratamiento térmico fueron de 55 y 59 °C (experimentos 3 y 5, respectivamente) con inmersión ácida y de 51°C (en ambos experimentos) para la fruta que no es tratada con ácido.
- La escala utilizada en la medición del índice de encafecimiento no fue muy informativa, por lo cual se propusieron diversas metodologías para mejorar esta medición.
- La pérdida de peso, se encontró dentro de los límites de los estándares de calidad propuestos.
- Los pH's más bajos se obtuvieron utilizando temperaturas de tratamiento térmico cercanas a las óptimas calculadas.
- La calidad gustativa representada por el cociente SST/AT no se vio afectada negativamente por ningún tratamiento aplicado.
- La cuantificación de metabolitos de fermentación indicó que ningún tratamiento aumentó significativamente su contenido y por ello, los tratamientos probablemente no afecten negativamente la calidad olfativa de los frutos.
- Se demostró que existe una relación directa entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de la cáscara del litchi.

9. Recomendaciones

- Se sugiere corroborar los resultados obtenidos con fruta recién cosechada de diferentes temporadas de producción y trabajar más sobre la optimización de las temperaturas de tratamiento térmico para tener resultados de mayor impacto comercial, si se desea efectuar la sustitución del tratamiento con dióxido de azufre por un tratamiento térmico inocuo y amigable con el medio ambiente.
- El estudio demostró la necesidad de elaborar una nueva escala o escalas para calificar el encafecimiento del pericarpio, además se sugiere hacer un análisis de correlación entre estas escalas y las medidas obtenidas mediante el uso de un colorímetro.
- Sería interesante combinar esta tecnología poscosecha con otra que haya demostrado conservar la calidad del litchi, como el envasado en atmósfera modificada utilizando una bolsa Xtend o bien el uso de trehalosa, el azúcar que sintetizan en grandes cantidades los organismos anhidrobiontes para protegerse de la deshidratación o resequead extrema.
- El conocimiento de las bases químicas de la pérdida del color en litchi, requiere de un estudio para conocer el tipo y proporción de antocianinas y compuestos fenólicos presentes en el pericarpio de fruto, así como la actividad y expresión de las enzimas asociadas a la degradación de antocianinas, síntesis de compuestos fenólicos y al proceso de oscurecimiento (antocianasa, fenil alanino amonio liasa, polifenoloxidasa y peroxidasa).

10. Trabajos presentados

- Metodología de superficies de respuestas: una aplicación en litchi. XVIII Simposio del departamento de ciencias de la salud. México, D.F., 28 al 30 de agosto, 2013.
- Postharvest application of heat treatments and hydro-cooling to preserve the red color of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruits. 1st Biotechnology world symposium and 9° encuentro nacional de biotecnología del IPN. México, Tlaxcala, 13 al 16 de octubre, 2014.

11. Bibliografía

Artés F., Sánchez E., Tijssens L.M.M. 1998. Quality and shelf life of tomatoes improved by intermittent warming. *Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie*. 31: 427-431.

Artés F., Tudela J.A., Villaescusa R. 2000. Thermal postharvest treatment for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biology and Technology*. 18: 245-251.

ASERCA CIESTAAM. 1996. Mercado mundial de litchi Mexicano. Consultado en línea: www.aserca.gob.mx/secsa/estudios/litchi.pdf

Badui D.S. 1994. *Química de los alimentos*. 3a Edición. México: Alhambra Mexicana.

Bakowska A., Kucharska A.Z., Oszmianski J. 2003. The effects of heating, UV irradiation and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*. 81: 349-355.

Beirão-da-Costa S., Steiner A., Correia L., Empis J., Moldão-Martins M. 2006. Effects of maturity stage and mild heat treatments on quality of minimally processed kiwifruit. *Journal of Food Engineering*. 76: 616-625.

Beaudry R.M. 1993. Effect of carbon dioxide partial pressure on blueberry fruit respiration and respiratory quotient. *Postharvest Biology and Technology*. 3: 249-258.

Beyer W., Fridovich I. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*. 161: 559-566.

Bosquez M., Colina I. 1999. *Fundamentos y aplicaciones del procesamiento térmico de frutas y hortalizas*. México. Universidad Autónoma Metropolitana, México D.F.

Brand-William W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate activity antioxidant. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie. Food Science and Technologie Alimentaire*. 28: 25-30.

Brouillard R., Wigand M.C., Dangles O., Cheminant A. 1991. The pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *Journal Chemical Society*. 2: 1235-1241.

Buera M.P., Lozano R.D., Petriella C. 1986. Definition of color in the non enzymatic browning process. *Die Farbe*. 32/33: 318-322.

Burger L., Swardt G.H., Engelbrecht A.H.P. 1986. Relationship between changes in membrane permeability, respiration rate, activities of lipase and phospholipase C and ultrastructure in senescing petals of *Dianthus caryophyllus* (cv White Sim) *South African Journal of Botany*. 52: 195–200.

Castillo-Ánimas D., Cerón-García A., Pelayo-Zaldívar C. 2004. Convenio covia-0919-2004-07-31. Colecta de información sobre manejo poscosecha de litchi.

Castillo-Ánimas D., Pelayo-Zaldívar, C. 2006. Índice de cosecha para litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) CV Brewster. Documento técnico elaborado para el Consejo Nacional de Productores y Exportadores de Litchi A. C. (CONPELAC).

Conway W.S., Leverentz B., Janisiewicz W.J., Blodgett A.B., Saftner R.A., Camp M.J. 2004. Integrating heat treatment, biocontrol and sodium bicarbonate to reduce postharvest decay of apple caused by *Colletotrichum acutatum* and *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology*. 34:1-20.

Cossins E.A., 1978. Ethanol metabolism in plants. In: Hook D.D, Crawford R.M.M.(Eds.), *Plant Life in Anaerobic Environments*. Science Publishers, Ann Arbor, MI. 169-202.

Dang K.T.H., Singh Z., Swinny E.E. 2008. Impact of postharvest disease control methods and cold storage on volatiles, color development and fruit quality in ripe “Kensington Pride” mangoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 10667-10674.

Davis P.I. 1971. Further studies of ethanol and acetaldehyde in juice of citrus during the growing season and during storage. *Proceedings Florida State Horticultural Science*. 83: 294-298.

Ding C.K., Wang C.Y., Gross K.C., Smith D.L. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Plant Science* 161: 1153–1159.

Drake S.R., Hansen J.D., Tang J., Wang S. 2005. Hot water to control codling moth in sweet cherries: Efficacy and quality. *Journal of Food Quality*. 28: 361-376.

Duan X.W., Jiang Y.M., Su X.G., Liu H., Li Y.B., Zhang Z.Q., Zheng Y.H., Jiang, W.B. 2004. Role of pure oxygen treatment in browning of litchi fruit after harvest. *Plant Science*. 167: 665–668.

Duan X., Jiang Y., Su X., Zhang Z., Shi J. 2007. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. *Food Chemistry*. 101: 1365-1371.

Ducamp-Collin M.N. 2004. Fruit conservation and processing: new issues, new techniques. http://www.technofruits2001.ciradfr/en/mndlit_en.htm

Fallik E., Archbold D.D., Hamilton-Kemp T.R., Loughrin J.H., Collins R.W. 1997. Heat treatment temporarily inhibits aroma volatile compound emission from Golden Delicious apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 4038-4041.

Fazzalari F.A. 1978. Compilation of Odor and Taste Threshold Data. ASTM Data Series DS 48A.

Fennema O.R. 1985. Introducción a la ciencia de los alimentos. 1a Edición. Ed. Everté, España.

Fidler J.C., North C.J. 1971. The effect of periods of anaerobiosis on the storage of apples. *Journal of Horticultural Science*. 46: 221-231.

Flath R.A., Black D.R., Guadagni D.G., McFadden W.H., Schultz T.H. 1967. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 15: 2935.

Fors S. 1988. Sensory properties of volatile Maillard reaction products and related compounds in the Maillard reaction in foods and nutrition, ACS Symposium Series 215, G. R. Waller and M.S. Feather. Ed. ACS, Washington. 185-286.

Gayosso-García L., Yahia E., González-Aguilar G. 2011. Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*. 44: 1284-1291.

Gillivert P.J. Nursten H.E. 1976. The source of the acyl moiety in the biosynthesis of volatile banana esters. *Journal of Science and Food Agricultural*. 27: 152-158.

González-Aguilar G.A., Gayosso L., Cruz R., Fortiz J., Baéz R., Wang C.Y. 2000. Polyamines induced by hot water treatments reduce chilling injury and decay in pepper fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 18: 19–26.

Guerrero S., Alzamora S.M., Gerschenson L.N. 1996. Optimization of a combined factors technology for preserving banana purée to minimize colour changes using the response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 28: 307-322.

Hoa T.T., Clark C.J., Waddell B.C., Woolf A.B. 2006. Postharvest quality of Dragon fruit (*Hylocereus undattatus*) following disinfesting hot air treatment. *Postharvest Biology and Technology*. 41: 62-69.

Holcroft D.M., Mitcham, E.J. 1996. Postharvest physiology of litchi: a review. *Postharvest Biology and Technology*. 9: 265-281.

Holland N., Menezes H.C., Lafuente M.T. 2002. Carbohydrates as related to the heat-induced chilling tolerance and respiratory rate of "Fortune" mandarin fruit harvested at different maturity stages. *Postharvest Biology and Technology*. 25: 181-191.

Hu X.Q., Huang Y.Y., Dong W.F., Song L.Y., Yuan F., Yu R.M. 2011. Structure characterization and antioxidant activity of a novel polysaccharide isolated from pulp tissues of litchi *chinensis*. 59: 11548-11552.

Jeong S.K., Kim D.R., Jo D.R., Nam K.C., Ahn D.U., Lee S.C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from Citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 3389-3393.

Jiang G., Lin S., Wen L., Jiang Y., Zhao M., Chen F., Prasad N. K., Duan X., Yang B. 2013. Identification of a novel phenolic compound in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp and bioactivity evaluation. 2013. *Food Chemistry*. 136: 563-568.

Jiang Y., Duan X., Joyce D., Zhang Z., Li J. 2004. Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. *Food Chemistry*. 88: 443-446.

Jiang Y.M. & Fu, J.R.1999. Postharvest browning of litchi fruit by water loss and its prevention by controlled atmosphere storage at high relative humidity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. 32: 278-283.

Jiang Y.M., Li Y.B., Li J.R. 2003. Effects of low temperature acclimation on browning of litchi fruit in relation to shelf life. *Journal Horticulture Science Biotechnology*. 78: 437-440.

Jiang Y.M., Zauberman G., Fuchs Y. 1997b. Partial purification and some properties of polyphenol oxidase extracted from litchi pericarp. *Postharvest Biology and Technology*. 10: 221-226.

Jing Y., Mao-run. M., Yu-ying Z., Lin-chun M. 2009. Reduction of chilling injury and ultrastructural damage in cherry tomato fruits after hot water treatment. *Agricultural Sciences in China*. 8: 304-310.

Jiang Y.M., Song L.L., Liu H., Lichter O., Kerdchoechuen D., Joyce D. 2006. Postharvest characteristics and handling of litchi fruit – an overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 46: 1541-1556.

Jiang Y., Yao L., Lichter A., Li J. 2003. Postharvest biology and technology of litchi fruit. *Food Agriculture and Environment*. 1: 76-81.

Jiang Y., Duan X., Joyce D., Zhang Z., Li J. 2004. Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. *Food Chemistry*. 88: 443-446.

Kadam S., Deshpande S.S. 1995. Lychee. In: Salunkhe D. K., Kadam S. S. (Eds) Handbook of fruit science and technology, production, composition, storage and processing, Dekker, New York. 435-443.

Kaiser C., Levine J., Wolstenholme B.N. 1995. Vapor heat and low pH dips improve litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp color retention. Journal of South African Society for Horticultural Science. 5: 7-10.

Kampkötter A., Pielarski T., Rohrig R., Timpel C., Chovolou Y., Wätjen K., Kähl R. 2007. Pharmacological Research. 55: 139-147.

Kays J. S. 1991. Postharvest physiology of perishable plant products. New York. USA. Editor Kays J.S. Ed. Van Nostrand Reinhold. West port CT. 532.

Lee H.A., Wicker L. 1991. Anthocyanin pigments in the skin of lychee fruit. Journal of Food Science. 56: 466-468, 483.

Liang Y.S., Wongmetha O., Ke L.S. 2012. Influence of hydrocooling on browning and quality of litchi cultivar Feizixiao during storage. International Journal of Refrigeration. 30: 1-7.

Lichter A., Diver O., Rot I., Akerman M., Regev R., Wiesblum A., Fallik E., Zauberman G., Fuchs Y. 2000. Hot water brushing: an alternative method to SO₂ fumigation for color retention of litchi fruits. Postharvest Biology and Technology. 18: 235-244.

Lin Z.F., Li S.S., Zhang D.L., Lin Y.B., Liu S.X., Chen M.D. 1998a. The changes of pigments, phenolic content and activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonialyase in pericarp of postharvest litchi fruit. Acta Botanica Sinica. 30: 40-45.

Liu H., Song L., You Y., Li Y., Duan X., Jiang Y., Joyce D.C., Ashraf M., Lu W. 2011. Cold storage duration affects litchi fruit quality, membrane permeability, enzyme activities and energy charge during shelf life time at ambient temperature. Postharvest Biology and Technology. 60: 24-30.

Liu L., Xie B., Cao S., Yang E., Xu X., Guo S. 2007. A-type procyanidins from *Litchi chinensis* pericarp with antioxidant activity. Food Chemistry. 105: 1446-1451.

Liu S.C., Lin J.T., Wang C. K., Chen H.Y., Yang D.J. 2009. Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. Food Chemistry. 114: 577-581.

Lua J., Charlesb M.T., Vigneaulta C., Goyetteb B., Vijaya Raghavan G.S. 2010. Effect of heat treatment uniformity on tomato ripening and chilling injury. Postharvest Biology and Technology. 56: 155–162.

Lurie S. 1998. Postharvest heat treatments. Postharvest Biology and Technology. 14: 257-269.

Marangoni A.G., Palma T., Sanley, D.W., 1996. Membrane effects in postharvest physiology. Postharvest Biology and Technology. 7: 193–217.

Martínez-Castellanos G. 2009. Uso de bacterias lácticas en recubrimientos de quitosano para la conservación poscosecha de litchi y rambután. Tesis de Doctorado en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, México D.F.

Martínez-Castellanos G., Pelayo-Zaldívar, C., Pérez-Flores, L.J., López- Luna, A., Gimeno, M., Bárzana, E., Shirai, K. 2011. Postharvest litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) quality and preservation by *Lactobacillus plantarum*. Postharvest Biology and Technology. 59: 172-178.

Martínez-Flórez S., González-Gallego, Culebras J. M., Tuñón M. J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. XVII(6): 271-278.

Martínez G.A., Civello P.M. 2008. Effect of heat treatments on gene expression and enzyme activities associated to cell wall degradation in strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology. 49: 38-45.

McDonald R.E., McCollum T.G., Baldwin E.A. 1999. Temperature of water heat treatments influences tomato fruit quality following low-temperature storage. Postharvest Biology and Technology. 16: 147-155.

Mirdehghan S.H., Rahemi M., Serrano M., Guillén F., Martínez-Romero D., Valero D. 2006. Prestorage heat treatment to maintain nutritive and functional properties during postharvest cold storage of pomegranate. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 8495-8500.

Mirdehghan S.H., Rahemi M., Martínez-Romero D., Guillén F., Valverde J.M., Zapata P., Serrano M., Valero D. 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatments: Role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*. 44:19-25.

Mulders J.Z. 1973. *Lebensm Unters Forsch*. 151: 310-317.

Muy Rangel M. D. 2008. Manejo integral poscosecha para incrementar vida de anaquel en litchi: producto fresco y procesado. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Culiacán. Carr. El Dorado, km 5.5 Campo El Diez, Culiacán, Sinaloa.

Nakano Y., Asada K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase on spinach chloroplast. *Plant and Cell Physiology*. 22: 867-880.

Neog M., Saikia L. 2010. Control of post-harvest pericarp browning of litchi (*Litchi chinensis* Sonn). 47(l): 100-104.

Nicio-Cruz A.A. 2012. Síntesis y caracterización de películas de quitosano-cítrico-HPMC. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Ocampo C.R., Rios V.L.A., Betancur I.L.A., Ocampo S.D.M. 2008. Curso práctico de química orgánica enfocado a biología de alimentos. Universidad de Caldas. 1ra. Edición.

Ohlrogge J., Browse J. 1995. Lipid biosynthesis. *Plant Cell*. 7: 957–970.

Olesen T., Nacey L., Wiltshire N., O'Brien S. 2004. Hot water treatments for the control of rots on harvested litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 32: 135-146.

Orta-López, R. 2010. Aplicación de dióxido de azufre para la conservación del color rojo del litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) cv. Brewster. Escalamiento comercial. Tesina de Especialidad en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. México, D.F.

Paliyath G., Thompson J.E. 1987. Calcium and calmodulin regulated breakdown of phospholipid by microsomal membranes from bean cotyledons. *Plant Physiology*. 83: 63–68.

Paliyath G., Droillard M.J. 1992. The mechanisms of membrane deterioration and disassembly during senescence. *Plant Physiology and Biochemistry*. 30: 789–812.

Palou E., López-Malo A., Barbosa-Cánovas G.V., Welti-Chanes J., Swanson B.G. 1999. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*. 64: 42-45.

Patente No. 6,093,433. Process for preserving product quality of Lychee, United State Patent, July 25, 2000.

Paull R.E., Chen N.J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*. 21: 21-37.

Pelayo Zaldívar C. 2005. Investigación, asistencia técnica y capacitación para el cultivo y el manejo poscosecha de litchi Mexicano. Convenio COVIA-0718-2005 UAMI-Consejo Nacional de Productores y Exportadores de Litchi A. C.

Pelayo-Zaldívar C. 2006. Investigación, asistencia técnica y capacitación para el cultivo y el manejo poscosecha de litchi Mexicano. Convenio COVIA-0718-2005 UAMI-Consejo Nacional de Productores y Exportadores de Litchi A. C. Noviembre 2004-diciembre 2006. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. México. D.F.

Pelayo C., Ebeler S.E., Kader A. A. 2003. Postharvest life and flavor quality of three strawberry cultivars kept at 5 °C in air or air + 20 kPa CO₂. *Postharvest Biology and Technology*, 27: 171-183.

Pesis E. 2005. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. *Postharvest Biology and Technology*. 37, 1-19.

Pesis E., Dvir O., Feygenberg O., Arie R.B., Ackerman M., Lichter A. 2002. Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 26: 157-165.

Petracek P.D., Joles D.W., Shirazi A., Cameron A.C. 2002. Modified atmosphere packaging of sweet cherry (*Prunus avium* L., cv. "Sams") fruit: metabolic responses to oxygen, carbon dioxide, and temperature. *Postharvest Biology and Technology*. 24: 259-270.

Polenta G., Lucangeli C.D., Budde C.O., González C.B., Murray R.E. 2006. Heat and anaerobic treatments affected physiological and biochemical parameters in tomato fruits. *LWT-Food Science and Technology*. 39: 37-34.

Pradet A., Raymond P., 1983. Adenine nucleotide ratios and adenylate energy charge in energy metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 34: 199–224.

Ramma I. 2003. Postharvest sulphur dioxide fumigation and low acid dip for pericarp colour retention and decay prevention on litchi. AMAS, Food and Agricultural Research Council, Réduit Mauritius. 41-48.

Real Sandoval S.A. 2013. Efecto de un recubrimiento de nanopartículas con α -tocoferol sobre la actividad de fenilalanin amonio-liasas como indicador del oscurecimiento en manzana fresca cortada. Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Reichel M., Carle R., Sruamsiri P., Neidhart S. 2010. Influence of harvest maturity on quality and shelf-life of litchi fruit (*Litchi chinensis* Sonn.) *Postharvest Biology and Technology*. 57: 162-175.

Riederer M., Schreiber L. 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*. 52 (363): 2023-2032.

Rivera F., Pelayo-Zaldívar C., Díaz de León F., Buentello B., Castillo-Rivera M., Pérez-Flores L. 2007. Cold conditioning treatments reduce chilling injury in Mexican limes (*Citrus aurantifolia* S.) stored at different temperatures. *Journal of Food Quality*. 30: 121-134.

Rodríguez-Verástegui L.L., Castillo-Ánimas D., Chatelain-Mercado S., Pelayo-Zaldívar C. 2009. Tratamiento con dióxido de azufre (SO₂) y TRA para la conservación del color rojo del litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) cv Brewster. Convenio COVIA-CONPELAC (Consejo Nacional de Productores y Exportadores de Litchi A. C.). Vigencia: 20 enero–31 agosto 2009.

Saltveit, M.E. 1998. Heat-sock and fresh cut lettuce. *Perishables Handling Quarterly*, 95: 5-6.

Saltveit, M.E. 2000. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biology and Technology*. 21: 61-69.

Saquet, A.A., Streif, J., Bangerth, F. 2003. Energy metabolism and membrane lipid alterations in relation to brown heart development in 'Conference' pears during delayed controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology Technology*. 30: 123–132.

Saquet, A.A., Streif, J., Bangerth, F., 2000. Changes in ATP, ADP and pyridine nucleotide levels related to the incidence of physiological disorders in 'Conference' pears and 'Jonagold' apples during controlled atmosphere storage. *Journal Horticulture Science Biotechnology*. 75: 243–249.

Sarni-Manchado P., Le Roux E., Le Guerneve C., Lozano Y., Cheynier V. 2000. Phenolic composition of litchi fruit pericarp. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48: 5995-6002.

Schirra M., D'hallewin. 1997. Storage performance of Fortune mandarins following hot water dips. *Postharvest Biology and Technology*. 10: 229-238.

Scott K. J., Brown B. L., Chaplin G. R., Wilcox M. E., Bain J. M. 1982. The control of rotting and browning of litchi fruit by hot benomyl and plastic films. *Scientia Horticulturae*. 16: 253-262.

Schreiner, M., Huyskens-Keil, S. 2006. Phytochemicals in fruit and vegetables: health promotion and postharvest elicitors. *Critical Review in Plant Sciences*. 25: 267-278.

Serrano M., Martínez-Romero D., Castillo S., Guillén F., Valero D. 2004. Role of calcium and heat treatments in alleviating physiological changes induced by mechanical damage in plum. *Postharvest Biology and Technology*. 34: 155-157.

SIAP SAGARPA. 2009. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Consultado en línea: <http://www.siap.gob.mx/ventana.php?idLiga=1043&tipo=1>.

Singleton V.L., Rossi J.A. JR. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 3: 144-158.

Sivakumar D., Korsten L. 2006. Evaluation of the integrated application of two types of modified atmosphere packing and hot water treatments on quality retention of litchi cv. Mauritius. Postharvest treatments on quality retention in the litchi cultivars McLean's Red. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 81: 639-644.

- Sivakumar D., Korsten L., Zeeman K. 2007. Postharvest management on quality retention of litchi during storage. *Fresh Produce*, Global Sciences Books. 1: 66-75.
- Soto-Zamora G., Yahia E.M., Brecht J.K., Gadea A. 2005. Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 38: 657-663.
- Sun J., Jiang Y., Shi J., Wei X., Jun Xue S., Shi J., Yi C. 2010. Antioxidant activities and contents of polyphenol oxidase substrates from pericarp tissues of litchi fruit. *Food Chemistry*. 119: 753-757.
- Swarts D.H. 1983. Post-harvest handling of litchis. Tech. Bull. L1.1. Citrus Subtropical. Fruit Research Institute, Nelspruit, South Africa.
- Swarts D.H. 1985. Sulfur content of fumigated South Africa litchi fruit. Citrus and Subtropical Fruit Research Institute, Information Bulletin. 157: 22-24.
- Underhill S.J.R. 1989. Technology for the manipulation of lychee skin colour. Proceedings of the Second National Lychee Seminar, Cairns. 87-88.
- Underhill S J.R., Simons D.H. 1993. Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp desiccation and the importance of posrharvest micro-cracking. *Scientia Horticulturae*. 54: 287-294.
- Underhill S., Critchley C. 1994. Anthocyanin decolorization and its role in lychee pericarp browning. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 34: 115-122.
- Underhill S., Critchley C. 1995. Cellular localization of polyphenol oxidase and peroxidase activity in *Litchi chinensis* Sonn pericarp. *Australian Journal of Plant Physiology*. 22: 627-632.
- Underhill S.J.R., S. Gardiner, A. Prasad, 1992. The use of sulfur dioxide and low pH treatment to control lychee (*Litchi chinensis* Sonn) pericarp browning. Horticulture Post Harvest Group, Queensland Department of Primary Industries, 19 Hercules St, Hamilton Queensland 4007, Australia.
- Valero D., Serrano M. 2010. Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. eds, CRC Press. Heat Treatments. Capítulo 5: 91-109.

Veltman, R.H., Lenthéric, I., Van der Plas, L.H.W., Peppelenbos, H.W., 2003. Internal browning in pear fruit (*Pyrus communis* L. cv Conference) may be a result of a limited availability of energy and antioxidants. *Postharvest Biology and Technology*. 28: 295–302.

Vicente A.R. 2004. Efecto de tratamientos térmicos de alta temperatura sobre calidad y fisiología poscosecha de frutillas (*Fragaria xananassa* Duch.). Tesis doctoral. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Química.

Vicente A.R., Costa M.L., Matínez G.A., Chaves A., Civello P.M. 2005. Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry. *Postharvest Biology and Technology*. 38: 213-222.

Wang H.C., Hu Z.Q., Wang Y., Chen H.B., Huang X.M. 2011. Phenolic compounds and the antioxidant activities in litchi pericarp: Difference among cultivars. *Scientia Horticulturae*. 129: 784-789.

Wang K., Cao S., Jin P., Rui H., Zheng Y. 2010. Effect of hot air treatment on postharvest mould decay in Chinese bayberry fruit and the possible mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*. 141: 11–16.

Wills R.B.H, Glasson W. B., Graham D., Lee T.H., Hall E.G. 1987. *Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables*. Ed. Van nostrand Reinhold. 163.

Wilska-Jeszka J., Korzuchowska A. 1996. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation. Influence on the color of strawberry and chokeberry juices. *Food Reserch Technology*. 203: 38-42.

Wrolstad Ronald E. 1993. *Color and Pigment analysis in fruit products*. Agricultural Experiment Station, Oregon State University Station Bulletin. 624.

Yahia E.M., Soto-Zamora G., Brecht J.K., Gardea A. 2007. Postharvest hot air treatment effects on the antioxidants system in stored mature-green tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*. 44: 107-115.

Yang B., Wang J., Zhao M., Liu Y., Wang W., Jiang Y. 2006. Identification of polysaccharides from pericarp tissues of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit in relation to their antioxidant activities. *Carbohydrate Research*. 341: 634-638.

Zauberman G., Ronen R., Akerman M., Fuchs Y. 1989. Low pH treatment protects litchi fruit colour. *Acta Horticulturae*. 269: 309-314.

Zhang D. L., Quantick P.C., Grigor J.M. 2000. Changes in phenolic compounds in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*. 19: 165-172.

Zhang Z.Q., Pang X.Q., Ji Z.L., Jiang Y.M. 2001. Role of anthocyanin degradation in litchi pericarp browning. *Food Chemistry*. 75: 217–221.

Zhao M., Yang B., Wang J., Li B., Jiang Y. 2006. Identification of the major flavonoids from pericarp tissue of lychee fruit in relation to their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 98: 539-544