



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS RECUBRIMIENTOS BIOACTIVOS
ANTIOXIDANTES EN LA CONSERVACIÓN POSCOSECHA DE LITCHI.**

TESIS

ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

I.B.I. ROSALIO SÁNCHEZ GONZÁLEZ

Directora de tesis:

Dra. Concepción Keiko Shirai Matsumoto
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

Departamento de Biotecnología

Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto de Bioprocesos de subproductos Agro-industriales y
Alimenticios

Lector de tesis

Dr. Miquel Gimeno Seco
Departamento de Biotecnología y Alimentos
Universidad Nacional Autónoma de México



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

No. 00157

Matrícula: 2141800797

EVALUACION DEL EFECTO DE LOS
RECUBRIMIENTOS BIOACTIVOS
ANTIOXIDANTES EN LA
CONSERVACION POSCOSECHA DE
LITCHI.

En México, D.F., se presentaron a las 11:00 horas del día 21 del mes de octubre del año 2015 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. CONCEPCION KEIKO SHIRAI MATSUMOTO
DR. MIQUEL GIMENO SECO



ROSALIO SANCHEZ GONZALEZ
ALUMNO

siendo el primero asesor del alumno y , de la Idónea Comunicación de Resultados, se reunieron a evaluar la presentación cuya denominación aparece al margen, para la obtención del diploma de:

ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA

DE: ROSALIO SANCHEZ GONZALEZ

y de acuerdo con el artículo 79 fracción II del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, se comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

ASESORA

DRA. CONCEPCION KEIKO SHIRAI
MATSUMOTO

ASESOR

DR. MIQUEL GIMENO SECO

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto 10 del Departamento de Biotecnología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, bajo la dirección de la Dra. Concepción Keiko Shirai Matsumoto. El trabajo experimental se llevó a cabo con financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT 237292).

AGRADECIMIENTOS

A la doctora Concepción Keiko Shirai Matsumoto por la dirección de esta tesis, por darme la oportunidad de pertenecer a su grupo de trabajo. Muchas gracias doctora por los consejos, enseñanzas, apoyo y confianza que me ha brindado ya que he aprendido mucho de usted.

Al lector de tesis, Dr. Miquel Gimeno Seco por el tiempo de revisar la tesis.

A mis compañeros del Laboratorio de Biopolímeros S-157 por brindarme su amistad y compañía en los buenos y malos momentos.

-

ÍNDICE

	Pág.
Lista de figuras.....	VI
Lista de tablas.....	VIII
Abreviaturas y acrónimos.....	IX
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	4
4. HIPÓTESIS.....	5
5. OBJETIVOS.....	5
5.1 Objetivo General.....	5
5.2 Objetivos Particulares.....	5
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
6.1 Elaboración y análisis de los recubrimientos.....	5
6.1.1 Elaboración de los recubrimientos.....	5
6.1.2 Análisis de los recubrimientos.....	5
6.2 Aplicación y evaluación del efecto de los recubrimientos en la conservación de poscosecha de los fruto del Litchi.....	6
6.2.1 Aplicación de los recubrimientos en el fruto litchi.....	6
6.2.1.1 Primer ensayo a campo.....	6
6.2.1.2 Segundo ensayo a campo.....	6
6.2.1.3 Tercer ensayo a campo.....	7
6.2.2 Evaluación del efecto del recubrimiento en la calidad del fruto de litchi.....	7
6.2.2.1 Pérdida fisiológica de peso.....	7
6.2.2.2 Determinación de pH.....	7
6.2.2.3 Determinación de los sólidos solubles totales (SST).....	7
6.2.2.4 Acidez total titulable (ATT).....	7
6.2.2.5 Extracción de fenoles y antocianinas.....	8
6.2.2.6 Determinación de antocianinas totales.....	8
6.2.2.7 Determinación de antocianinas por HPLC.....	8
6.2.2.8 Determinación de fenoles.....	8
6.2.2.9 Cambios de color del Fruto.....	8
6.3 Análisis Estadísticos.....	8
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
7.1 Actividad antioxidante.....	9
7.2 Primer Ensayo.....	10
7.2.1 Cv. Mauritius.....	10
7.2.1.1 Pérdida fisiológica de peso.....	10
7.2.1.2 ATT, pH, SST y relación SST/ ATT.....	10
7.2.1.3 Determinación antocianinas.....	11
7.2.1.4 Determinación de fenoles.....	12
7.2.1.5 Color.....	13
7.2.2 Cv. Brewster.....	13
7.2.2.1 Pérdida fisiológica de peso.....	13
7.2.2.2 ATT, pH, SST y relación SST/ ATT.....	14

7.2.2.3 Determinación antocianinas.....	15
7.2.2.4 Determinación de fenoles.....	15
7.2.2.5 Color del fruto	16
7.3 Segundo Ensayo.....	17
7.3.1 Pérdida fisiológica de peso.....	17
7.3.2 ATT, pH, SST y relación SST/ ATT.....	17
7.3.3 Determinación antocianinas.....	19
7.3.4 Determinación de fenoles.....	20
7.3.5 Color del fruto.....	21
7.4 Tercer Ensayo.....	21
7.4.1 Pérdida fisiológica de peso.....	21
7.4.2 ATT, pH, SST y relación SST/ ATT.....	22
7.4.3 Determinación antocianinas.....	24
7.4.4 Determinación de fenoles.....	25
7.4.5 Color del fruto.....	25
8. CONCLUSIÓN.....	26
9. BIBLIOGRAFÍA.....	27

LISTA DE FIGURAS

CONTENIDO

	Pág.
Figura 1. Actividad antiradicalaria de los antioxidantes solos y en mezcla con quitosano	9
Figura 2. Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	10
Figura 3. Antocianinas en los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	11
Figura 4. Evolución de la cianidina-3- en los epicarpios de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	12
Figura 5. Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	12
Figura 6. Color de los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR.	13
Figura 7. Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	14
Figura 8. Antocianinas en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	15
Figura 9. Evolución cianidina-3-rutinósido en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	15
Figura 10. Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	16
Figura 11. Color de los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR.	16
Figura 12. Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	17
Figura 13. pH en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	18
Figura 14. Ácido málico en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	18
Figura 15. °Brix (SST) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	19
Figura 16. SST/AAT en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR.	

	Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	19
Figura 17.	Antocianinas en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	20
Figura 18.	Evolución cianidina-3-rutinósido en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	20
Figura 19.	Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	20
Figura 20.	Color de los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR.	21
Figura 21.	Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	22
Figura 22.	pH en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	22
Figura 23.	Ácido málico en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	23
Figura 24.	°Brix (SST) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	23
Figura 25.	SST/AAT en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	24
Figura 26.	Antocianinas en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	24
Figura 27.	Evolución cianidina-3-rutinósido en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	24
Figura 28.	Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).	25
Figura 29.	Color de los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR.	25

LISTA DE TABLAS

CONTENIDO

	Pág.
Tabla 1. IC50 determinada con la reacción de DPPH con quitosano, antioxidantes y mezcla de quitosano antioxidantes	9
Tabla 2. Parámetros de calidad pH, SST, ATT y relación SST/ATT en los frutos de litchi cv. Mauritius a los diferentes tratamientos almacenados a 10 °C con 75% de HR.	11
Tabla 3. Parámetros de calidad pH, SST, ATT y relación SST/ATT para los fruto de litchi cv. <i>Brewster</i> a los diferentes tratamientos almacenados a 10 °C con 75% de HR.	14

Abreviaturas y acrónimos

AOX	Antioxidante
AC	Ácido cafeíco
AG	Ácido gálico
ATT	Acidez total titulable
ARR	Actividad antirradicalaria
HR	Humedad relativa
1C ₅₀	Concentración de antioxidante que reduce al 50% la actividad antirradicalaria del DPPH
OG	Octil galato
Q	Quitosano
Q+AOX	Quitosano con antioxidante
QUER	Quercetina
Q+OG	Quitosano mas octil galato
QgOG	Quitosano modificado con octil galato
SST	Sólidos solubles totales
cv.	Variedad

1. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, se han desarrollado métodos confiables para extender la vida útil de los productos alimenticios y para evitar peligros para la salud de los consumidores (Ouattara et., al. 2000). Entre las tecnologías emergentes de conservación de alimentos se encuentra el desarrollo de envases biodegradables y comestibles que se estudian como una respuesta a la demanda del mercado por productos alimenticios seguros y con un mínimo procesamiento. Los recubrimientos o coberturas comestibles se definen como una capa delgada de material que reviste el alimento, mientras que una película (film) comestible es una capa preformada y delgada elaborada con material que una vez preparado puede disponerse sobre el alimento o entre los componentes del mismo (Krochta y De Mulder-Johnston, 1997). De forma general puede decirse que los recubrimientos se aplican en forma líquida sobre el alimento, normalmente por inmersión del producto en la solución con capacidad filmogénica, mientras que las películas elaboradas como láminas sólidas se aplican posteriormente sobre el alimento como envoltura (McHugh y Senesi, 2000). Estos materiales actúan como una barrera contra elementos externos (humedad, aceite) y por lo tanto protege el producto y extiende su vida útil.

El diseño y desarrollo de los envases activos comestibles se emplean agentes potencialmente bioactivos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, puesto que la oxidación y el crecimiento microbiano (bacterias, levaduras y mohos) son dos procesos íntimamente relacionados con el deterioro de los alimentos. Se entiende por antioxidante aquellas moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otros compuestos tales como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos (Gülçin, 2012; Halliwell et al., 1995). Estas moléculas actúan mediante uno o varios de los siguientes mecanismos:

1. “Secuestro” de los radicales libres o especies reactivas (llamados oxidantes o prooxidantes) y posterior transformación de los mismos en radicales estables, inertes o de baja reactividad.
2. Prevención de la formación enzimática de especies reactivas, inhibiendo la expresión, la síntesis o la actividad de enzimas pro-oxidantes.
3. Inhibición de la formación de especies reactivas dependiente de metales.
4. Activación o inducción de la actividad de enzimas antioxidantes (ej. superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa).
5. Absorción de la luz UV.
6. Creación de una capa protectora entre el aceite y la superficie del aire (ej. fosfolípidos).
7. Regeneración parcial de otros antioxidantes, como por ejemplo, la vitamina E, mediante la captación de oxígeno (Gramza y Korczak, 2005; Magalhaes et al., 2008; Singh y Singh, 2008).

Los antioxidantes añadidos a los envases comestibles permiten aumentar la estabilidad de los componentes de los alimentos al inhibir o retrasar la oxidación de lípidos u otros compuestos (proteínas, vitaminas), manteniendo su valor nutricional, sabor y color al prevenir la rancidez oxidativa, degradación y decoloración (Quezada-Gallo, 2009). Los antioxidantes incorporados a recubrimientos y películas comestibles son numerosos, por ejemplo, se encuentran el ácido ascórbico, ácido cítrico, glutatión, cisteína, entre otros (Martín-Belloso et al., 2009).

Uno de los alimentos en los que los recubrimientos han encontrado su uso más amplio es en la conservación de frutos ya que son altamente perecederos y presentan un metabolismo activo durante el almacenamiento. El litchi (*Litchi chinensis Sonn*) es una fruta de fácil descomposición, no climatérica valorada comercialmente por su sabor exótico (Paul et al., 1984). El fruto litchi pertenece a la familia Sapindaceae, hay varias variedades de litchi con diversos colores, pero los cultivares rojos son los más importantes para los mercados internacionales. El color rojo en el litchi es debido a la presencia de antocianinas que se han reportado como los pigmentos principales en el pericarpio (Lee and Wicker, 1991; Rivera-López et al., 1999). Un gran número de cultivares se siembran en todo el mundo, en México se encuentra 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 Brewster la más importante desde el punto de vista comercial (Orta-López, 2010).

El desarrollo de recubrimientos en los últimos años se ha incrementado debido a sus funciones para preservar, mejorar y mantener la conservación en la calidad de los frutos en poscosecha. Las soluciones para el deterioro del fruto después de la cosecha se han propuesto el uso de atmósferas modificadas, temperaturas y películas. El éxito de las películas depende del desarrollo de métodos de procesamiento adecuados para su fabricación que limiten la pérdida de agua y retarden el proceso de maduración (Donhowe y Fennema, 1994).

El quitosano ha sido propuesto como material estructural en la formulación de recubrimientos, debido a su actividad antimicrobiana y su excelente compatibilidad con otras sustancias. Diversos estudios señalan la incorporación del quitosano como material estructural en biopelículas para mejorar las características de calidad e inocuidad poscosecha (El Ghaouth, *et al.*, 1991). Por otra parte el uso de microorganismos inoocuos es una de las nuevas alternativas para mejorar la calidad poscosecha, incluso estos pueden ser incorporados exitosamente en películas de quitosano (Martínez Castellanos *et al.*, 2009). El quitosano es antimicrobiano debido a las interacciones electrostáticas con las paredes celulares microbianas interrumpiendo el transporte de nutrientes (Plascencia *et al.*, 2003; Pacheco *et al.*, 2008). Asimismo se ha reportado que se puede modificar al quitosano mediante la inserción de compuestos antioxidantes como la quercetina y octil galato incrementando su potencial como antioxidante y antimicrobiano (Itzincab *et al.*, 2013).

2. ANTECEDENTES

La aplicación de recubrimientos comestibles para preservar la calidad de las frutas no es nueva, desde la antigüedad en China se emplearon ceras para recubrir naranjas y limones para su conservación. En los E.U.A., elabora la primera patente sobre el uso de recubrimientos comestibles se remonta a 1916, donde un método de preservación de frutas enteras con cera fundida fue patentado por Hoffman (Hoffman, 1916). En general, los recubrimientos comestibles constituyen una opción interesante para las frutas y vegetales intactos con mínimo procesamiento, ya que forman una barrera que protege el producto y disminuye la tasa de deterioro fisiológico de poscosecha.

La aplicación exitosa de recubrimientos para frutas depende principalmente en la composición apropiada de gases para frutas. Algunos de los factores que deben de ser abordados en el desarrollo de recubrimiento: (1) cómo las propiedades de disolución de revestimiento afectarán el producto, (2) cómo cambiará el recubrimiento con el tiempo, (3) cómo va a interactuar el recubrimiento con el producto que podría conducir a la generación de sabor y, (4) cómo afectará el recubrimiento la forma y condiciones de almacenamiento. Otras consideraciones incluyen la importancia de grosor, color y el sabor de recubrimiento, ya que estos parámetros pueden cambiar la calidad final del producto recubierto.

Las propiedades de los recubrimientos se ven afectados por diversos factores tales como, medio ambiente, composición de la solución de recubrimiento (viscosidad, espesor, tipo de producto), tratamiento previo de la fruta, variedad y grado de maduración, cobertura de la superficie del fruto, i.e. cómo el recubrimiento se adhiere a la superficie (Hagenmaier y Shaw, 1992; Banks *et al.* 1993; Cisneros-Zevallos y Krochta 2002). Una clara comprensión de estos factores ayudará en el desarrollo de un recubrimiento adecuado para un producto específico.

Los recubrimientos comestibles se componen de hidrocoloides, que consisten en polisacáridos, proteínas, compuestos hidrófobos (por ejemplo, lípidos o ceras). Las películas comestibles también pueden estar compuestas de una mezcla de hidrocoloides y compuestos hidrófobos (películas compuestas o recubrimientos).

Para algunos frutos su principal problema se encuentra en el mantenimiento de sus características químicas y físicas de su superficie, el litchi que presentan oscurecimiento del pericarpio. Este proceso ocurre con gran rapidez en la poscosecha, problema que se ha relacionado con la deshidratación del pericarpio, el daño mecánico y el daño por frío, entre otros (Landrigan et al., 1996; y Critchley, 1994). El oscurecimiento de la cáscara se ha atribuido cambios bioquímicos como la rápida degradación de antocianinas, la oxidación enzimática de la vitamina C o ácido ascórbico y a la producción de fenoles poliméricos debido a las actividades de las enzimas antocianasa, peroxidasa y polifenol oxidasa, produciéndose subproductos de color oscuro a pardo (Underhill et al., 1992; Underhill y Critchley, 1995; Jiang, et al., 2004).

Una de las alternativas que se ha usado para la conservación poscosecha de frutos es el uso de quitosano, un biopolímero natural no tóxico, biodegradable, funcional, compatible y con poder antimicrobiano (El Ghaouth, et al., 1991). Se ha propuesto el uso de recubrimientos de quitosano para retardar el oscurecimiento de estos frutos durante su almacenamiento (Zhang y Quantick, 1997, Jiang y Li, 2000, Martínez-Castellanos et al., 2009 y 2011). Jiang et al., (2005), Martínez-Castellanos et al., (2009) y Martínez-Castellanos et al., (2011) mostraron que los recubrimientos de quitosano pueden disminuir el oscurecimiento poscosecha de litchi.

La principal razón del oscurecimiento de estos frutos se le atribuye a la oxidación de antocianinas, que cambian de color cuando el pH del medio aumenta. A pH ácido tienen color rojo, mientras que en pH alcalino presentan un color azul violáceo (Ketsa y Leelawatana; 1992). Uno de los principales objetivos de las investigaciones sobre el litchi ha sido la conservación de un pH ácido en la cáscara para retener el color, para lo que se han propuesto inmersiones de los frutos en soluciones diluidas de HCl, H₂SO₄ y ácido ascórbico (Zauberman et al., 1991; Underhill et al., 1992; Duvenhage 1994). Otro de los tratamientos más exitosos para controlar el cambio de coloración en litchi es la fumigación con SO₂, que disminuye la actividad de la polifenol oxidasa, manteniendo el pH del pericarpio, estabilizando las antocianinas, y disminuyendo su oxidación. El tratamiento con SO₂ puede ocasionar reacciones alérgicas en consumidores sensibles, presenta toxicidad que puede contaminar el ambiente y favorecer el desarrollo de hongos (Jiang, et al., 2003).

El control de la degradación poscosecha por hongos se ha recomendado el uso de control biológico. En el caso del fruto de rambután, la combinación de *Trichoderma harzianum* y metabisulfito de potasio se ha utilizado exitosamente para la disminución y control de patógenos (*C. gloeosporioides*, *G. microchlamydosporum* y *B. theobromae*) (Sivakumar et al., 2000).

Una de las nuevas alternativas para la conservación poscosecha de frutos, es el uso de recubrimientos activos, que combinen las bondades de los biopolímeros como recubrimientos como vehículos de compuestos antimicrobianos y antioxidantes, para el control de fitopatógenos y reducción del oscurecimiento, respectivamente.

La acción de los antioxidantes puede mejorarse notablemente cuando se combinan con recubrimientos. Sin embargo, deben estudiarse ampliamente las propiedades de estos recubrimientos bioactivos, ya que se podría alterar significativamente las propiedades de barrera y antimicrobiana de los recubrimientos de quitosano y por tanto su biofuncionalidad.

A pesar de estas evidencias y de las exigencias del mercado en la calidad de los productos, no se ha abordado con suficiente profundidad la incorporación de compuestos antioxidantes en recubrimientos para el control poscosecha de frutos y la conservación de sus propiedades físicas, químicas y sensoriales.

3. JUSTIFICACIÓN

La causa principal de pérdidas poscosecha de litchi para su comercialización en mercados nacionales e internacionales es el oscurecimiento de la cáscara o pericarpio. Hasta el momento, el tratamiento poscosecha más efectivo que se conoce para conservar el color rojo del pericarpio del litchi fresco e inhibir su oscurecimiento es la fumigación con dióxido de azufre (SO₂) seguida de un tratamiento en una solución ácida, donde el SO₂ forma un complejo con las antocianinas estabilizándolas y la solución ácida las mantiene en su forma de color rojo intenso (Holcroft y Mitcham, 1996).

El tratamiento adecuadamente aplicado conserva el color rojo del pericarpio hasta 25-30 días en refrigeración. En estas condiciones se inhibe la producción de compuestos que producen el oscurecimiento de la cáscara y destruye algunas plagas que infestan al litchi al momento de la cosecha. El problema es que 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 en el almacenamiento de la cáscara (Sivakumar et al., 2007).

El uso de SO₂ es un problema para el ambiente ya que genera residuos que contaminan el suelo y los mantos acuíferos. Por lo que se están buscando tratamientos alternos, tales como aplicaciones de vapor caliente, inmersión en soluciones del fungicida benomil, el problema de estos es que ninguna ha sido aceptada ampliamente o establecida comercialmente.

Debido a la utilización de SO₂ y la importancia comercial nacional e internacional del litchi, se busca nuevos tratamientos para la solución del problema que ocasiona el SO₂ como la contaminación que genera en el medio ambiente y la necesidad de sustituir este tratamiento. Por lo que se propone la aplicación de recubrimientos bioactivos con efectos antioxidante para aumentar la vida poscosecha del litchi.

4. HIPÓTESIS

La elaboración de recubrimientos bioactivos antioxidantes, permitirá la disminución del oscurecimiento del pericarpio.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Implementar, evaluar y validar los recubrimientos bioactivos antioxidantes en la conservación poscosecha de litchi.

5.2. Objetivos particulares

- Establecer las condiciones de formulación para obtener recubrimientos bioactivos antioxidantes.
- Determinar el efecto de los recubrimientos antioxidantes en la retención del color y evitar el deterioro del fruto litchi en poscosecha.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental consistió en dos etapas:

- 1) Elaboración y análisis de los recubrimientos.
- 2) Aplicación y evaluación del efecto de los recubrimientos en la conservación de poscosecha de los fruto del litchi.

6.1. Elaboración y análisis de los recubrimientos.

6.1.1. Elaboración de los recubrimientos.

En el trabajo experimental los compuestos para la elaboración de los recubrimientos: se utilizó quitosano nativo, obtenido en el laboratorio de biopolímeros de la Universidad Autónoma Metropolitana con un peso molecular de 200 kDa (Q) y antioxidante (AOX) de Sigma Aldrich de los antioxidantes utilizados fueron: ácido cafeico (AC), quercetina (QUER), ácido gálico (AG) y octil galato (OG).

Los recubrimientos se prepararon realizando la mezcla 1:1 Q/AOX en las siguientes concentraciones: 1, 0.4, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025, 0.001, 0.0005 y 0.0002 g/ L.

6.1.2. Análisis de los recubrimientos.

Los recubrimientos se analizaron pruebas de actividad antirradicalaria (AAR) e IC_{50} empleando el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) de Sigma Aldrich con una concentración 200 μ M disuelto en metanol grado analítico (J.T. Baker, México). Se prepararon muestras con un volumen total de 4ml que contenía 2 ml del recubrimiento, posteriormente se agregó 2 ml de la solución de DPPH preparado previamente. Los tubos se agitaron en un vórtex por 10 segundos a velocidad baja y se incubó en

oscuridad a 30°C por 30 minutos. Una vez transcurrido ese tiempo, se determinó la absorbencia de las muestras a una longitud de onda de 517nm.

Se determinó la actividad antirradicalaria (AAR) y la IC₅₀ (concentración de recubrimiento que tiene la capacidad de inhibir el 50% del radical DPPH). La IC₅₀ se estimó mediante un análisis estadístico Probit mediante el paquete NCSS 2007 (Versión 7.1.21 NCSS LLC. Kaysville, Utah).

6.2. Aplicación y evaluación del efecto de los recubrimientos en la conservación de poscosecha de los fruto del litchi.

6.2.1. Aplicación de los recubrimientos en el fruto litchi.

Las frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster* y cv. *Mauritius*) en estado maduro libres de daño mecánico por golpes y por infección de microorganismos fueron seleccionados y divididos al azar en grupos. Los recubrimientos se aplicaron por inmersión se dejaron secar. Los frutos tratados con los recubrimientos se almacenaron en contenedores de tipo clamshell con capacidad de 0.5 kg de fruta para después ser almacenados a 10 °C con una humedad relativa de 75 ± 5%. Cada tratamiento se tuvo tres repeticiones analizándose cada 7 días durante su duración de almacenamiento.

La aplicación de los recubrimientos en el fruto de litchi realizo a campo durante tres visitas en la región Estado de Oaxaca, México. El análisis de las muestras durante el almacenamiento fue realizado en el laboratorio de biopolímeros de la Universidad Autónoma Metropolitana. A continuación se describe los detalles de cada ensayo:

6.2.1.1. Primer ensayo en campo: Los recubrimientos (tratamientos) que se aplicaron fueron los siguientes:

- A. **Control:** fruto sin tratamiento.
- B. **Qitosano más ácido gálico (Q+AG):** se realizó la mezcla con respecto a la IC₅₀ de qitosano 2.313 g/L disuelto en ácido acético 0.1M y ácido gálico 1.96744×10^{-3} g/L disuelto en Agua.
- C. **Qitosano más quercetina (Q+QUER):** se realizó la mezcla con respecto a la IC₅₀ de qitosano 4.67 g/L disuelto en ácido acético 0.1M y quercetina 7.06011×10^{-3} g/L disuelto en etanol.
- D. **Qitosano 2.313 (Q 2.313):** se utilizó qitosano 2.313 g/L disuelto en ácido acético 0.1M.
- E. **Qitosano 4.67 (Q 4.67):** se utilizó qitosano 4.67 g/L disuelto en ácido acético 0.1M.

En este primer ensayo se utilizó dos variedades de frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster* y cv. *Mauritius*), la aplicación se llevó a cabo en la empacadora propiedad señor Felipe Villaseñor en Santa María Jacatepec Oaxaca, México.

6.2.1.2. Segundo ensayo en campo: Los recubrimientos (tratamientos) que se aplicaron fueron los siguientes:

- A. **Control:** fruto sin tratamiento.
- B. **Qitosano más ácido gálico (Q+AG):** se realizó la mezcla qitosano 5 g/L disuelto en ácido acético 0.1M y ácido gálico 1 g/L disuelto en Agua.
- C. **Qitosano más octil galato (Q+OG):** se realizó la mezcla qitosano 5 g/L disuelto en ácido acético 0.1M y octil galato 1 g/L disuelto en etanol.
- D. **Qitosano 4.67 (Q 4.67):** se utilizó qitosano 4.67 g/L disuelto en ácido acético 0.1M.

En este ensayo se utilizó la variedad del fruto de litchi (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster*), las aplicaciones se llevaron a cabo en Santa María Jacatepec. Oaxaca, México y en la empacadora propiedad del señor Roberto Moreno Sada en San José Chiltépec, Oaxaca México.

6.2.1.3. Tercer ensayo en campo: en este último ensayo los recubrimientos (tratamientos) que se aplicaron en el fruto de litchi fueron los siguientes:

- A. **Control:** fruto sin tratamiento.
- B. **Quitosano/octil galato a pH2 (QgOG2):** la aplicación de quitosano modificado con octil galato a 5g/L disuelto en ácido acético 0.1N ajustado a pH 2 con HCl 1N.
- C. **Quitosano/octil galato a pH1 (QgOG1):** la aplicación de quitosano modificado con octil galato a 5g/L disuelto en ácido acético 0.1N ajustado a pH 1 con HCl 1N.
- D. **Quitosano más octil galato (Q+OG):** se realizó la mezcla de quitosano 5 g/L disuelto en ácido acético 0.1M y octil galato 1 g/L disuelto en etanol ajustado a pH 1 con HCl 1N.

La variedad de fruto de litchi utilizado fue (*Litchi chinensis son cv Brewster*), la aplicación se llevó a cabo en la empacadora del señor Roberto Moreno Sada que se localiza en San José Chiltepec, Oaxaca México.

6.2.2. Evaluación del efecto del recubrimiento en la calidad del fruto de litchi.

6.2.2.1 Pérdida fisiológica de peso

Se midieron los cambios de peso de tres unidades experimentales de cada tratamiento durante todo el período de almacenamiento, calculándose la pérdida de peso en porcentaje de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\%PFP = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Dónde:

Pi = peso inicial

Pf = peso final

6.2.2.2. Determinación de pH

Para esta prueba se macero la pulpa de cinco frutos de cada caja y se filtró a través de una gaza de algodón, el jugo filtrado se colocó en vaso de precipitado donde se midió el pH con potenciómetro

6.2.2.3. Determinación de los sólidos solubles totales (SST)

A esta prueba se realizó mediante un refractómetro (MILTON Mod. LR45227, Riviera Beach, FL, USA) a temperatura ambiente donde se seleccionó tres frutos al azar de cada caja, después se tomó una gota del jugo de la pulpa de cada fruto ya seleccionado depositándose en el refractómetro realizando la lectura correspondiente.

6.2.2.4. Acidez total titulable (ATT)

Se cuantifico la cantidad de ácido presente en la pulpa de litchi mediante una titulación volumétrica ácido-base (AOAC, 2000). Se tomaron 5 ml de cada UE y se le agregaron 3 gotas de fenolftaleína y se tituló con NaOH 0.1 N. La acidez titulable fue calculada como % de ácido málico mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acido Málico} = \frac{V_{NaOH} \times N_{NaOH} \times meq_{acido\ malico}}{V_{muestra}} \times 100$$

Dónde:

V= volumen

N= normalidad

meq= miliequivalentes de ácido málico (0.06705)

6.2.2.5. Extracción de fenoles y antocianinas

Para esta extracción se maceraron los pericarpios de los frutos de litchi con nitrógeno líquido. Posteriormente, se pesaron 3 g de pericarpio y se extrajeron dos veces con metanol: ácido clorhídrico 1N en una proporción 85:15 v/v. Los extractos se centrifugaron a 12 100 rpm durante 15 min, a 5 °C. Las extracciones de los pigmentos se le realizaron determinaciones de Antocianina y fenoles.

6.2.2.6. Determinación de antocianinas totales

Esta determinación se realizó con un método espectrofotométrico de acuerdo a lo reportado por Zheng y Tian (2006). Del extracto metanólico de los tratamientos, se tomó una alícuota (6ml) y se diluyó con metanol: ácido clorhídrico 1 N (85:15 v/v); posteriormente, se leyeron en un espectrofotómetro a tres diferentes longitudes de onda (530, 620 y 650nm) y se utilizó la siguiente fórmula para la obtención de la absorbancia (A):

$$A = (A_{430} - A_{620}) - 0.1(A_{650} - A_{520})$$

6.2.2.7. La determinación de antocianinas

Se realizó mediante HPLC tomando una alícuota del extracto (10µl) la muestra se inyectó en un HPLC utilizando un gradiente de ácido fórmico (4.5 % v/v): metanol en los siguientes tiempos: 0' 90:10; 30' 75:25; 40' 55:45; 42' 10:90; 50' 90:10. Para la cuantificación se utilizó un estándar Fluka 36-428 de cianidina-3- rutinósido,

6.2.2.8. Determinación de fenoles

El contenido de fenoles totales fue estimado por un método espectrofotométrico y se expresó como equivalentes de catequina según lo reportado por Jaramillo-Flores et al., (2003) y Thililertdecha et al, (2008). Una alícuota (0.1 ml) previamente diluida del extracto metanólico fue transferida a un tubo de ensayo que contenía 7.9 ml de agua destilada. Luego, se adicionaron 0.1 ml del reactivo Folin-Ciocalteu. Después de 5 min, se añadieron 1.5 ml de una solución de Na₂CO₃ (200 g/L) y se dejó reaccionar durante 90 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se determinó la absorbancia a 760nm y se comparó con una curva de calibración realizada con catequina.

6.2.2.9. Cambios de color del fruto

Para el análisis de los cambios de color de la cáscara de los frutos de litchi se utilizó un colorímetro Hunter-Lab Color Flex con el cual se determinaron los parámetros CIE: L*, a y b. La medición de estos parámetros se realizó en 10 frutos de cada unidad experimental y en las zonas del pericarpio intactas y libres de oscurecimiento.

6.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico del ensayo con litchi se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de medias (LSD) utilizando el paquete estadístico NCSS (2007) para evaluar los efectos significativos ($\alpha < 0.05$).

7. RESULTADO Y DISCUSIÓN

7.1. Actividad Antioxidante

Los parámetros para determinar la actividad antioxidante de un compuesto es actividad antirradicalaria (AAR) e IC_{50} . La AAR involucra la concentración de un antioxidante en ejercer su efecto de estabilizar el radical orgánico DPPH, en la figura 2., se muestra la actividad de los antioxidantes solo y la mezcla con el quitosano de eliminar el radical DPPH donde la QUER fue más efectivo mostrando mayor actividad a una concentración de $32.78 \mu\text{M}$ con una AAR del 100% como antioxidante solo, por otra parte con la mezcla con el Q, el Q+AG a una concentración de $59\mu\text{M}$ elimina el 100% del radical DPPH con respecto a los otros recubrimientos.

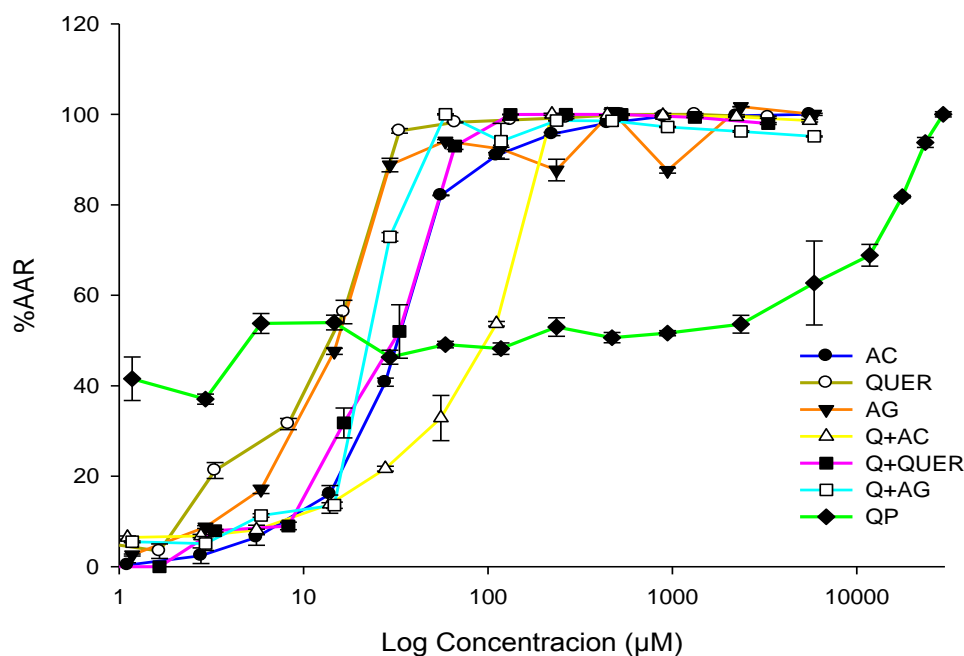


Figura 1. Actividad antirradicalaria de los antioxidantes solos y en mezcla con quitosano

Otro de los parámetros para determinar la actividad antioxidante es la IC_{50} que es la concentración media inhibitoria que disminuye el 50% de la concentración inicial del radical DPPH, según (Zhu et al., 2011) que entre menor sea el valor de la IC_{50} mayor actividad antioxidante. En la tabla 1 se observa que el quitosano más ácido gálico con valor de IC_{50} de $23.13\pm 1.15 \mu\text{M}$ es el presenta mayor actividad antioxidante seguida del quitosano más quercetina.

Tabla1. IC_{50} determinada con la reacción de DPPH con quitosano, antioxidantes y mezcla de quitosano antioxidantes

Muestra	IC_{50} (μM)
Quitosano	76.17 ± 36.07
Ácido cafeico	32.74 ± 1.26
Quercetina	17.54 ± 0.73
Ácido gálico	16.42 ± 0.87
Quitosano más ácido cafeico	64.58 ± 3.25
Quitosano más quercetina	46.70 ± 1.71
Quitosano más ácido gálico	23.13 ± 1.15
Quitosano mas octil galato	25.86 ± 0.97

7.2. PRIMER ENSAYO

Los tratamientos (recubrimientos) que se aplicaron en este primer ensayo se describen en el punto 6.2.1.1 de materiales y método. Los tratamientos aplicados fueron la mezcla de Q+AOX, la concentración de los tratamientos se basó con respecto a la IC₅₀. La tratamientos se aplicaron a dos variedades de frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster* y cv. *Mauritius*) a continuación se describe los resultados del el primer ensayo para la variedad (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Mauritius*).

7.2.1. Cv. Mauritius

7.2.1.1. Pérdida de Peso

La duración de este primer ensayo después de la aplicación con los tratamientos fue de 8 días de almacenamiento los tratamientos presentaron diferencias significativa con una ($\alpha < 0.5$) siendo el tratamiento Q 4.67 el que presento menor pérdida de peso mientras el tratamiento Q 2.313 presento mayor pérdida de peso por lo que nos indica que a concentraciones mayores de quitosano la perdida de agua es menor en comparación concentraciones menores. Los tratamientos de la mezcla de Q+AOX no hubo diferencia entre si con el control como se muestra en la figura 2, durante los 8 días de almacenamiento. La pérdida de agua por lo general reduce la calidad de la fruta lichi, por lo que lo frutos tratados con Q2.313 tienen menor calidad.

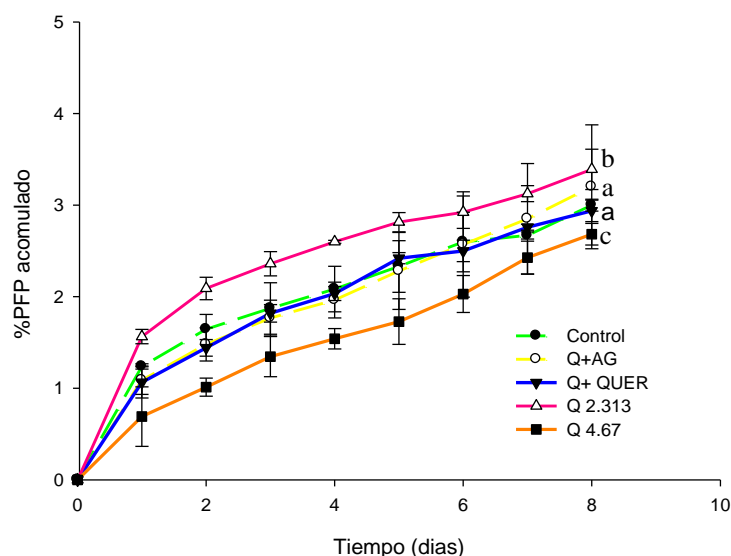


Figura 2. Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.2.1.2. ATT, pH, SST Y relación SST/ ATT

Los parámetros de calidad como se muestran en la tabla 2, tratamientos presentaron diferencia significativa durante los 8 días de almacenamiento, el pH de la pulpa del fruto aumentó ligeramente a los 8 días de su almacenamiento. Los frutos con el tratamiento Q+AG mostró un pH menor, 4.6 ± 0.06 , al del control, pero similar a lo reportado por Bolaños et al. (2010) a los seis días de tratamiento de un pH de 4.46 del fruto del litchi cv., Mauritius. Para el parámetro de calidad de SST medidos en °Brix los tratamientos Q 4.67. Q+QUER y Q+AG, los valores fueron menores con respecto al control a los 8 días de almacenamiento. El valor de SST del control tuvo un aumento del 2% al valor inicial, los cuales fueron similares a lo determinado por Minas y Frank (2002) en la cv. Mauritius con 20°Brix,

pero ligeramente alto a lo reportado por Bolaños et al. (2010) de 19.83°Brix y en el intervalo de lo obtenido por Aguas-Atlahua (2012). 18.3- 20.5 °Brix. Sin embargo, los tratamientos disminuyeron el ATT esto se debe al consumo de los ácidos orgánicos como sustrato respiratorio (Sivakumar et al., 2007; Jacuinde, 2007; Martínez- Castellanos, 2009). El rango de aceptación de calidad para su comercialización en la relación SST/ATT es de 40-100 los valores mostrados en la tabla 2 se encuentran dentro de este intervalo pueden ser comercializados, a excepción de los frutos tratados con Q+QUER que se encuentran por encima de la relación de aceptación para su comercialización. La disminución de la ATT afectó la relación SST/ATT.

Tabla 2, Parámetros de calidad pH, SST, ATT y relación SST/ATT en los frutos de litchi cv. Mauritius a los diferentes tratamientos almacenados a 10 °C con 75% de HR.

Tratamiento	pH		SST		ATT		SST/ATT	
	Tiempo (días)							
	0	8	0	8	0	8	0	8
Control	4.56±0.02 ^a	4.62 ± 0.01 ^b	20.8 ± 0.45 ^b	21.37 ± 0.35	0.40± 5.8E-17	0.19 ± 0.02	52.20 ± 0 ^a	99.58 ± 0.27 ^b
Q+AG		4.6 ± 0.06		19.94 ± 0.11 ^a		0.23 ± 0.03 ^a		99.43 ± 0.70 ^a
Q+QUER		4.79 ± 0.04		18.68 ± 0.21 ^c		0.20 ± 0.03		111.40± 5.04 ^b
Q 2.313		4.79 ± 0.16 ^c		20.24 ± 0.29 ^{b,c,a}		0.16 ± 0.05 ^b		99.93 ± 0.70 ^a
Q 4.67		4.73 ± 0.16		19.56 ± 0.26 ^{d,a}		0.22 ± 0.04 ^a		91.65 ± 6.78 ^a

Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos a una ($\alpha < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias LSD.

7.2.1.3. Antocianinas

Uno de los problemas más frecuentes que presenta el fruto de litchi durante su almacenamiento en poscosecha es el oscurecimiento del epicarpio, esto se debe a la degradación de las antocianinas. En este estudio los tratamientos no presentaron diferencia significativa. Los tratamientos que sufrieron una mayor disminución de antocianinas a los siete días de almacenamiento fue el control en comparación a los otros tratamientos durante los 8 días de almacenamiento (figura 3).

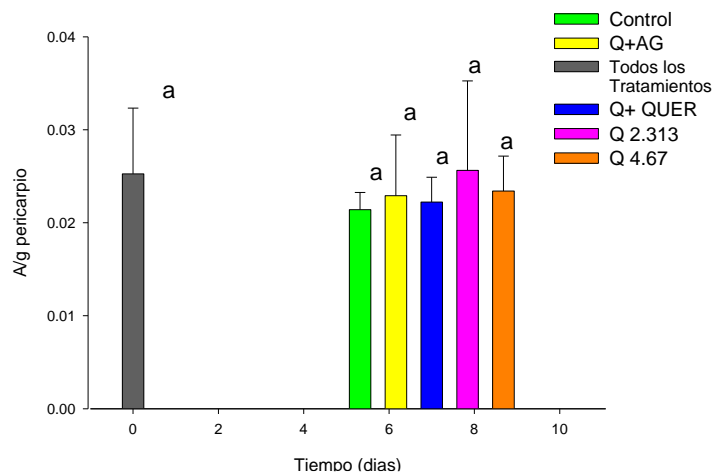


Figura 3. Antocianinas en los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

En el epicarpio del fruto de litchi los dos pigmentos (antocianinas) con mayor abundancia son cianidina-3-rutinósido y cianidina-3-glucósido, siendo la primera la que se encuentra en mayor

concentración de >75% en frutos de litchi (Lee y Wiker, 1991). Como se observa en la fig.4, los tratamientos mantuvieron la concentración de la cianidina-3-rutinósido con respecto al control durante los ocho días de almacenamiento sin diferencia estadística.

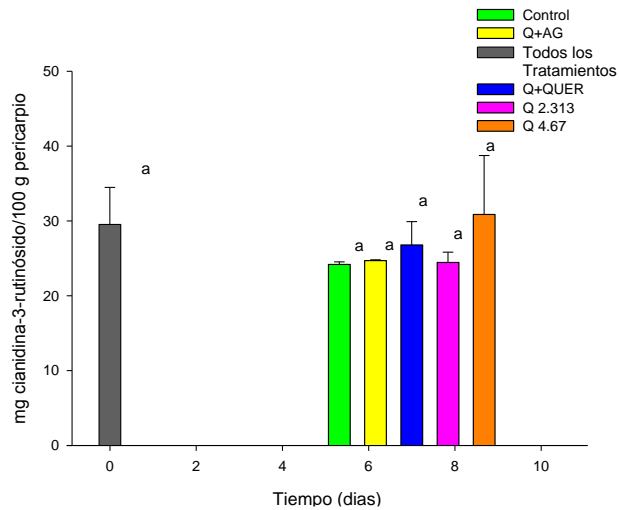


Figura 4. Evolución de la cianidina-3- en los epicarpios de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.2.1.4. Determinación de fenoles

Los niveles de fenoles en los frutos de litchi cv Mauritius expresados como mg de catequina por g de pericarpio como se muestra en la fig. 5 se observa que hubo mayor concentración de fenoles en los tratamientos de Q+QUER, Q2.313 y Q 4.67 durante los ocho días de almacenamiento, esto podría disminuir la oxidación de antocianinas y consecuentemente el oscurecimiento del pericarpio de acuerdo al mecanismo propuesto por Jiang, y col., (2004) estos tratamientos podrían disminuir la oxidación de Antocianinas y evitar el oscurecimiento del pericarpio del fruto.

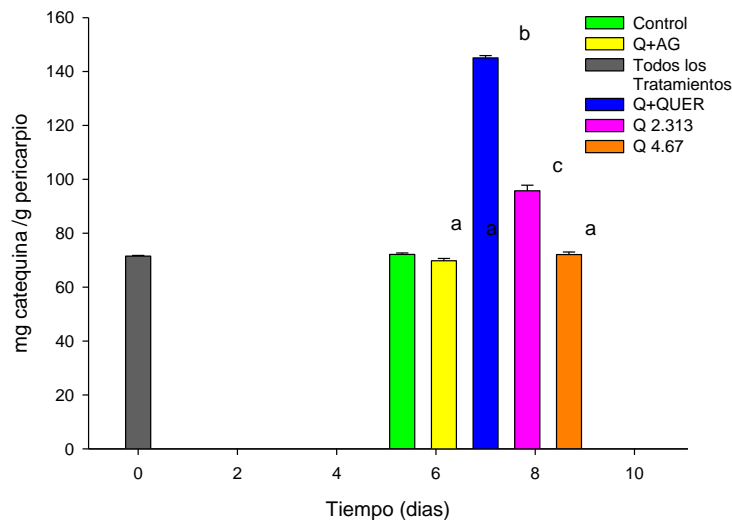


Figura 5. Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.2.1.5. Color

El parámetro de luminosidad (L^*) presentó diferencia significativa ($\alpha < 0.5$) donde el tratamiento Q+AG fue más claro que los otros tratamientos pero no mejor que el control a los ocho días de almacenamiento (figura 6). Con respecto a la cromaticidad o saturación (C^*), entre los tratamientos hubo diferencia significativa ($\alpha < 0.5$), el control presentó mayor pureza de color en el pericarpio de los frutos es decir tenía una matiz más intenso, de los tratamientos el que presentó menor pureza fue el tratamiento fue Q+QUER.

En el $^{\circ}H$ se observa un aumento a los ocho días de almacenamiento con valores por arriba de los $^{\circ}54$ para el control, Q 4.67 y Q 2.313 ya que estos tratamientos están orientados más hacia el color amarillo en comparación con el tratamiento Q+AG que tiene un $^{\circ}H$ de 49.21 y 51 para Q+QUER para estos últimos tratamientos no están ni amarillos pero tampoco rojos. Q+QUER con un Chroma de 28.52 presentó una menor pureza del color en comparación con el control en el que se determinó un valor de 34.82 por lo que el color tiene a ser menos oscuro que el de Q+QUER.

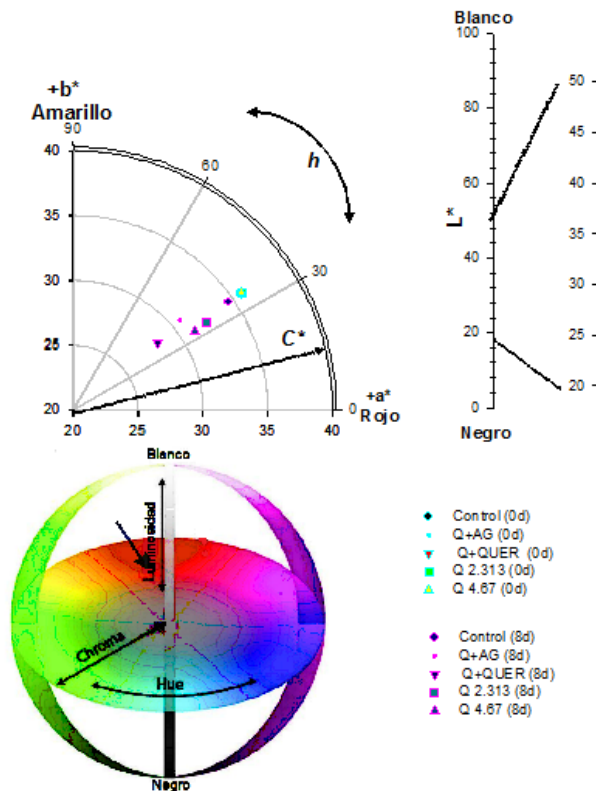


Figura 6. Color de los frutos de litchi cv. Mauritius almacenados a 10 °C y 75 % HR.

7.2.2. Cv. BREWSTER

A continuación se describe los resultados y discusión del efecto de los tratamiento (recubrimientos) en los frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster*).

7.2.2.1. Pérdida Fisiológica de Peso

La duración del almacenamiento de los frutos almacenados a 10°C con HR de 75% fue de 9 días en comparación a la cv. Mauritius, presentándose diferencia significativa entre los tratamientos. El tratamiento Q+AG produjo una mayor %PFP a comparación de los otros tratamientos mientras que el recubrimiento Q+QUER evitó la migración de gases y vapor de agua en los frutos de litchi con respecto al control (Fig. 7).

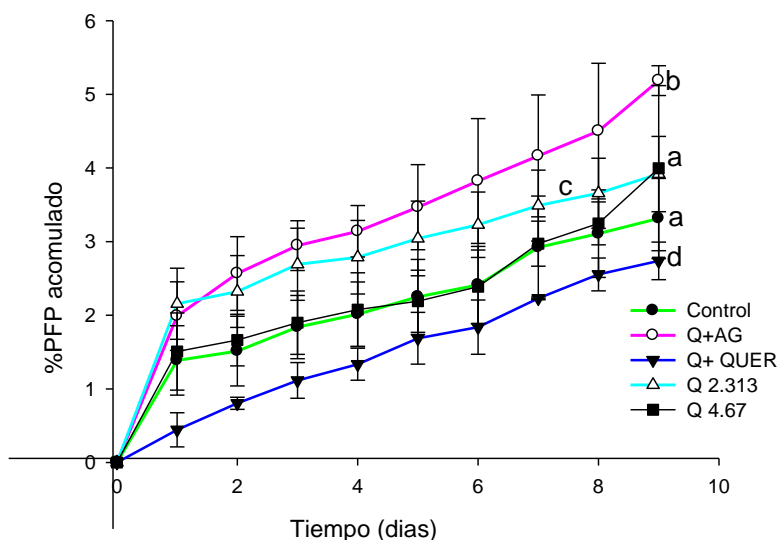


Figura 7. Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.2.2.2. ATT, pH, SST y relación SST/ ATT

El pH de la pulpa de los frutos de litchi de cv. Brewster fue diferente significativamente entre los tratamientos bajo las condiciones de almacenamiento. En el control se observó un aumento del pH a los 9 días de almacenamiento en comparación a los tratamientos, en los que disminuyó durante su almacenamiento. Rivera-López et al., (1999) observaron este mismo comportamiento al estudiar la maduración de los frutos de litchi. Los SST que indican la cantidad de azúcares presentes en los frutos, los tratamientos no presentaron diferencia a los 9 días de almacenamiento. Los SST aumentaron con los días de almacenamiento (Holcroft y Mitcham 1996). Los valores obtenidos de °Brix como se muestran en la tabla 3 a se encuentran en el intervalo obtenido por Galan y Menini, (1987) y Carvalho y Salomão (2000) de 11.8 a 20.6 °Brix de SST. Por otra parte la ATT de los frutos tratados no presentaron diferencia significativa, pero se observa un descenso a los 9 días después de la aplicación de los tratamientos siendo el Q4.67 que no presentó cambio. Los valores obtenidos de ATT fueron menores por lo reportado por Aguas et al (2012), quienes reportan valores de 0.6 para cv. Brewster. La relación de SST/ATT nos indica que tan maduro es el fruto y de que calidad es el fruto para su consumo ya que el intervalo de este cociente en frutos en general se encuentra entre 40-100. Los valores obtenidos que los frutos almacenados fueron adecuados por su calidad y sabor aceptable (tabla 3).

Tabla 3. Parámetros de calidad pH, SST, ATT y relación SST/ATT para los frutos de Litchi cv. Brewster a los diferentes tratamientos almacenados a 10 °C con 75% de HR.

Tratamientos	pH		SST		ATT		SST/ATT	
	Tiempo (días)							
	0	9	0	9	0	9	0	9
Control	4.06 ± 0.02 ^b	4.23 ± 0.19	18.50 ± 0.55 ^a	19.93 ± 0.46	0.50 ± 6.8E-17 ^a	0.48 ± 0.08 ^a	38.3 ± 0 ^a	41.60 ± 6.59 ^a
Q+AG		3.61 ± 0.02 ^a		19.53 ± 0.38 ^a		0.38 ± 0.01 ^a		51.04 ± 0.72 ^a
Q+QUER		3.74 ± 0.03 ^c		19.93 ± 0.19 ^a		0.41 ± 0.10 ^a		43.36 ± 6.37 ^a
Q 2.313		3.70 ± 0.01 ^d		19.85 ± 0.55 ^a		0.43 ± 0.04 ^a		49.64 ± 0.80 ^a
Q 4.67		3.72 ± 0.09 ^c		19.90 ± 0.48 ^a		0.50 ± 0.02 ^a		40.12 ± 1.94 ^a

Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos a una ($\alpha < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias LSD.

7.2.2.3. Antocianinas totales

La determinación de antocianinas totales en esta variedad no presentó diferencia significativa durante su almacenamiento (fig. 8), no hubo disminución e incluso se determinó un ligero aumento en los frutos tratados con las mezclas de Q+AOX, pero no fueron mejores que el control a los 9 días de almacenamiento.

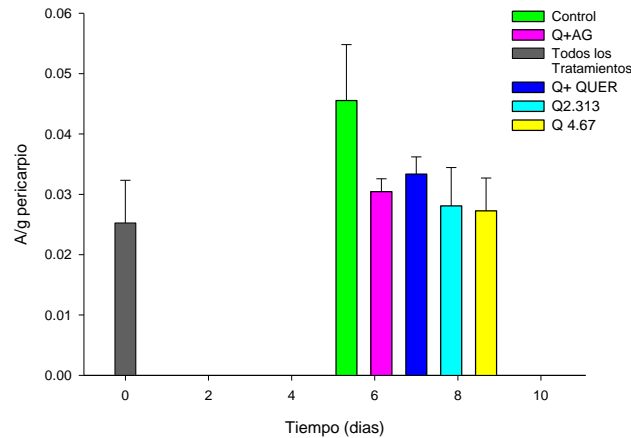


Figura 8. Antocianinas en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

En cuanto a la concentración de antocianinas determinadas por HPLC hubo diferencia significativa entre los tratamientos, se observa que el Q+AG fue el mejor recubrimiento de Q+AOX pero no fue mejor que el control durante los 9 días de almacenamiento. El material Q2.313 fue el que presentó menor concentración de cianidina 3-rutinosido (fig.9).

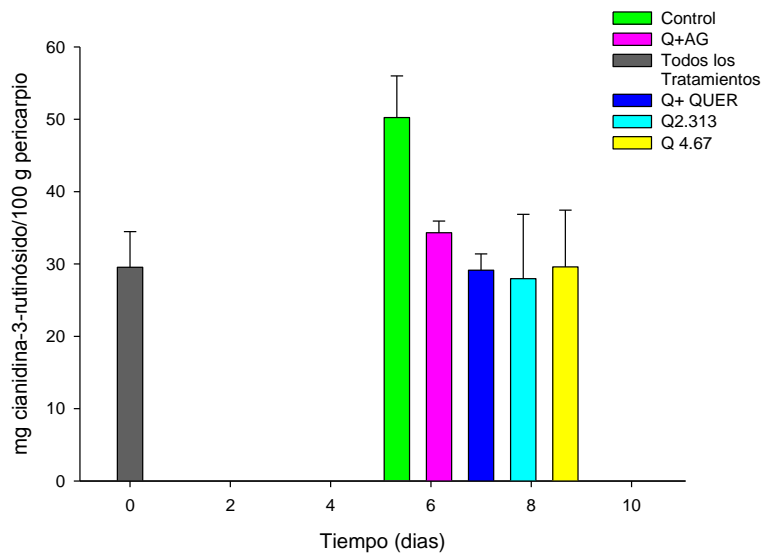


Figura 9. Evolución cianidina-3-rutinosido en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.2.2.4. Determinación de fenoles

En la fig.10 se muestra que hubo diferencia significativa entre los tratamientos, los recubrimientos presentaron menor concentración de fenoles a comparación con el control.

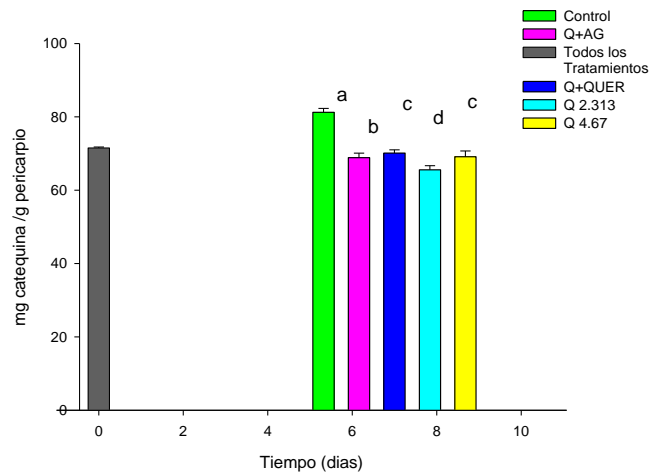


Figura 10. Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.2.2.5. Color del fruto

En el fruto litchi de la cv. Brewster se presentó una disminución del color al día 0 a los 9 días de almacenamiento, con pérdida evidente de luminosidad (fig.11). El control con °Hue de 58.43 por lo que la intensidad de color rojo fue menor, mientras de croma el valor inicial fue de 37.69, a los 9 días de almacenamiento se presentó un aumento por lo que el color de los frutos fue más vivo.

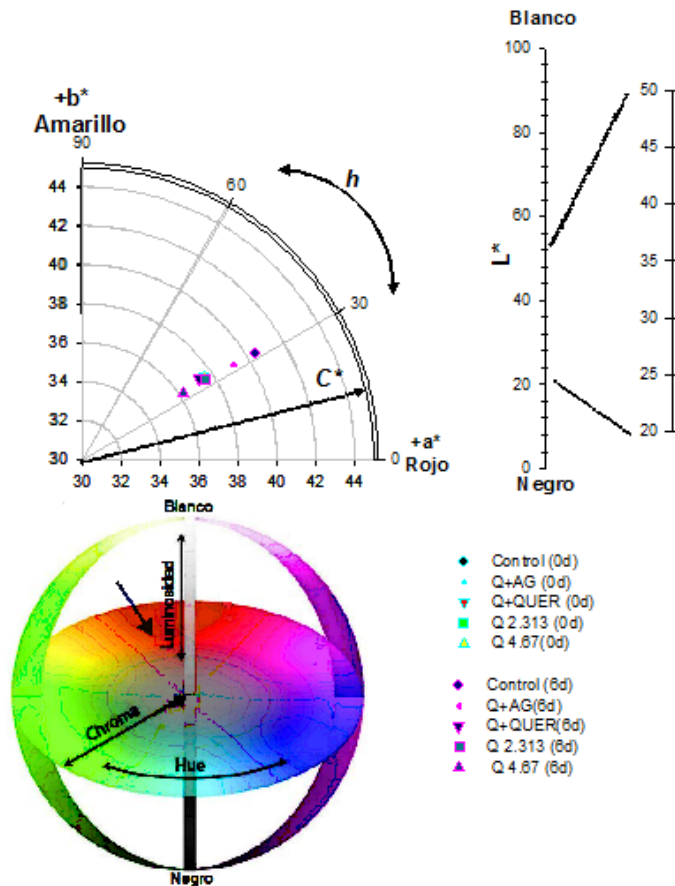


Figura 11. Color de los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR.

7.3. SEGUNDO ENSAYO

La segunda aplicación de los tratamientos en campo, sólo se utilizó una variedad de fruto de litchi (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster*). Se realizó una modificación con el aumento de la concentración del quitosano a 5g/L y de antioxidantes a 1g/L, con base en los resultados obtenidos en el primer ensayo donde concentración de Q4.64g/L fue mejor que a Q 2.313 g/L. En el caso de los AOX el incremento de concentración se determinó que considerando la IC₅₀, no presentó el efecto antioxidante esperado.

7.3.1. Pérdida fisiológica de peso

Los frutos de Litchi cv Brewster almacenado a 10°C con una HR de 75% hubo diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de comparación de medias LSD los frutos tuvieron una duración 21 días de almacenamiento, siendo el tratamiento Q4.67 mejor que las mezcla con los AOX pero no fue mejor que control (fig. 12). Con respecto al primer ensayo se puede observar que el tratamiento Q+AG al aumentar la concentración no evito la PFP de los frutos de litchi los resultados no coinciden con lo reporto por Kumar et al (2011) donde encontró que a concentraciones altas de antioxidante deduce la perdida fisiológica de peso y también dice que entre mayor es el pH del pericarpio mayor es la pérdida de peso.

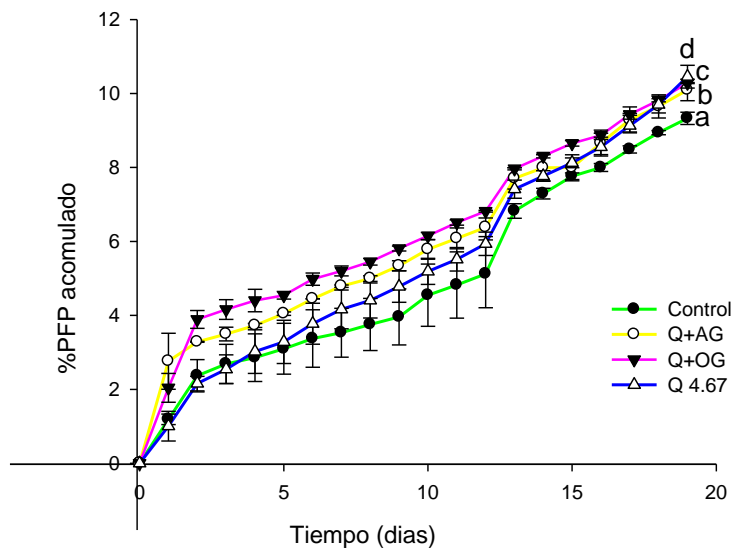


Figura 12. Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.3.2. ATT, pH, SST y relación SST/ ATT

El figura 13 se observa que hubo diferencia significativa en los tratamientos, donde hay un aumento de pH de conforme al tiempo de almacenamiento de los frutos de litchi siendo el Q+OG y control tuvieron mayor duración con respecto a los tratamientos Q4.54 y Q+AG donde estos últimos solo tuvieron una duración de 21 días de almacenamiento. El pH de la pulpa aumenta conforme avanza el tiempo debido al proceso de senescencia y a la disminución de ácidos orgánicos.

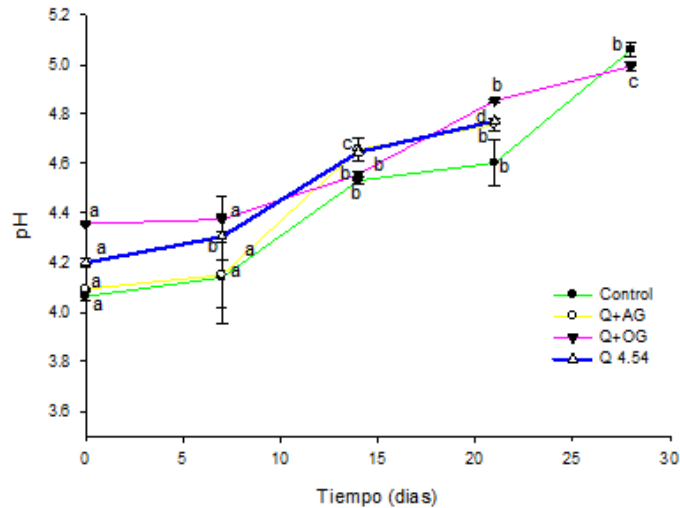


Figura 13. pH en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

El acidez total titulable nos da a conocer la concentración de ácidos orgánicos presentes en el fruto, el ácido de mayor concentración es el ácido málico. Como se muestra en la (fig.14) los tratamiento presentan diferencia significativa siendo el control que presento mayor concentración de ácido málico a los 21 días mientras que Q+OG presento la menor concentración de ácido málico. Los valores de ácido málico obtenidos en este trabajo experimental son parecidos a lo reportado por Kumar et al (2011).

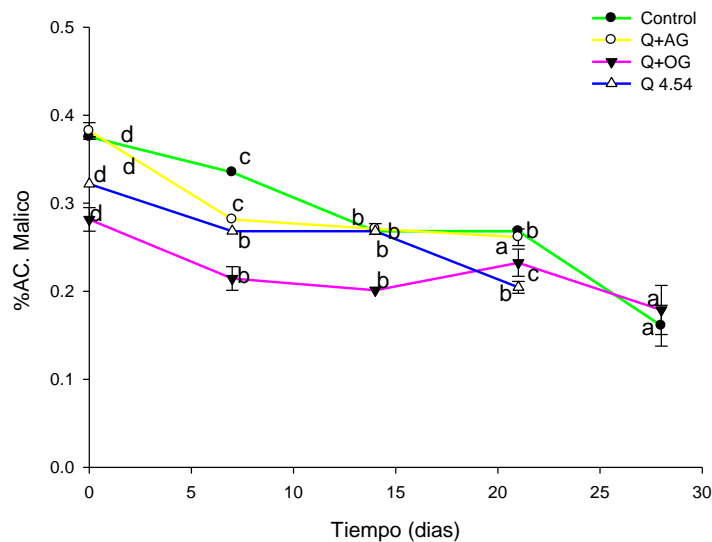


Figura 14. Ácido málico en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

En la fig. 15 se observa que los °Brix (contenido de azúcares) los tratamiento presentaron diferencia significativa entre sí, los valores obtenidos del tiempo 0 fueron iguales a lo reportado por Aguas et al (2012) en frutos de litchi cv. Brewster con valores de 19.15 °Brix como también a lo reportado por Galan y Menini, (1987) y Carvalho y Salomão (2000), con valores de 11.8 a 20.6 °Brix. De los tratamientos y el que presento mayor °Brix fue el Q 4.54 a los 21 días de almacenamiento la tendencia

que se observa en la gráfica de la figura 14 es de aumentar según Gaur y Bajapai (1978) reporta que en frutos al primer periodo de almacenamiento el aumento debe por la hidrólisis completa del almidón.

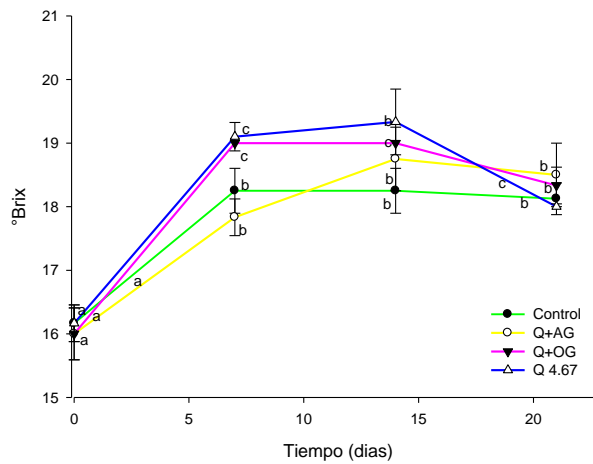


Figura 15. °Brix (SST) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

La relación de SST/ATT como se muestra en la (fig. 16) los tratamientos presentan diferencia significativa con ($\alpha < 0.05$). Los SST/ATT nos indica que tan maduro es el fruto y puede ser consumido el rango de aceptación en frutos en general se encuentra 40-100 donde hay un incremento de conforme transcurre el tiempo de almacenamiento donde todos los tratamiento a los 21 días almacenamiento los frutos son adecuados para una calidad de sabor aceptable. Los tratamientos el Q+AG y el control mantienen mejor el sabor de los frutos de litchi.

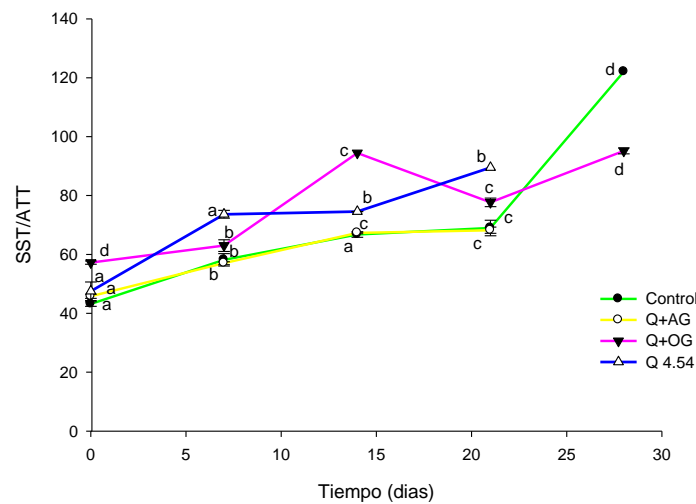


Figura 16. SST/AAT en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.3.3. Antocianinas

En la fig. 17 se observa que hay diferencia significativa entre los tratamientos a los 7 y 14 días siendo el Q+OG el que presentó mayor concentración de antocianinas a los 14 días. Sin embargo, a los 21 días de almacenamiento entre los tratamientos no hubo diferencia significativa siendo el Q+OG el que preservó la concentración de antocianinas con respecto al control. En los primeros 7 días de

almacenamiento los frutos presentaron un incremento de antocianinas donde los tratamientos Q 4.54 mostraron mayor concentración de antocianinas con respecto a los otros tratamientos. Yang et al (2009) reportan que este incremento puede deberse a la síntesis de antocianinas.

En la fig. 18 se determinó que hubo diferencia significativa entre los tratamientos. El recubrimiento Q 4.67 presentó mayor concentración de cianidina-3-rutinosido con respecto a los demás materiales, aunque éstos disminuyen con el tiempo de almacenamiento.

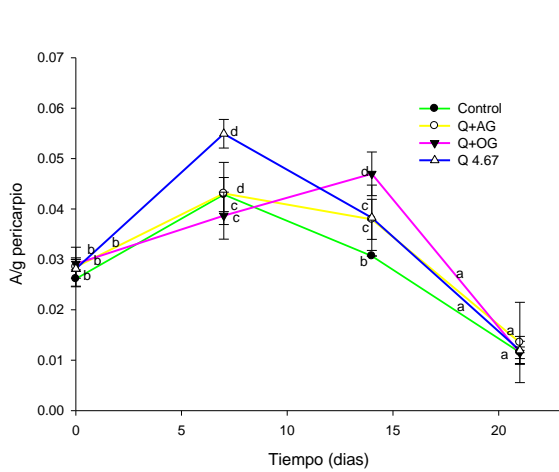


Figura 18. Evolución cianidina-3-rutinosido en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

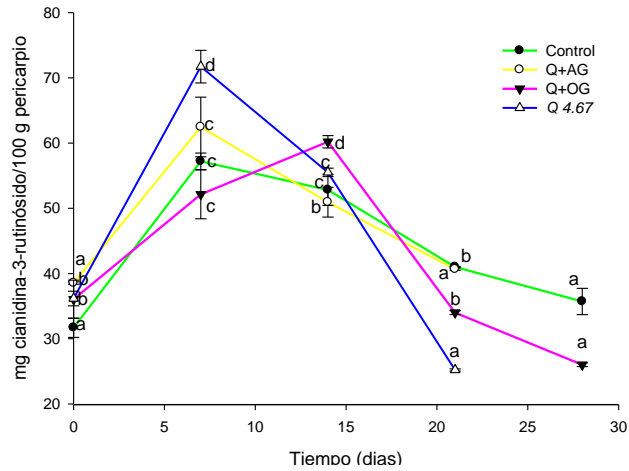


Figura 17. Antocianinas en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.3.4. Fenoles

Uno de los problemas que se presenta en el oscurecimiento del pericarpio de litchi se debe a la oxidación de compuestos fenólicos que conduce a la degradación de antocianinas (Jiang y Fu 1998). En la (fig. 19) los tratamientos muestran diferencia significativa durante el tiempo de almacenamiento siendo el control que presentó y preservó más la concentración de fenoles a los 21 y 28 días de almacenamiento con respecto a los otros tratamientos el aumento del tiempo 0 a los 7 días se puede relacionar a la alteración de la integridad de la membrana y tiende a descomponer los compuestos fenólicos insolubles donde podría ser la razón de un incremento en los compuestos fenólicos según (Wi et al 2007).

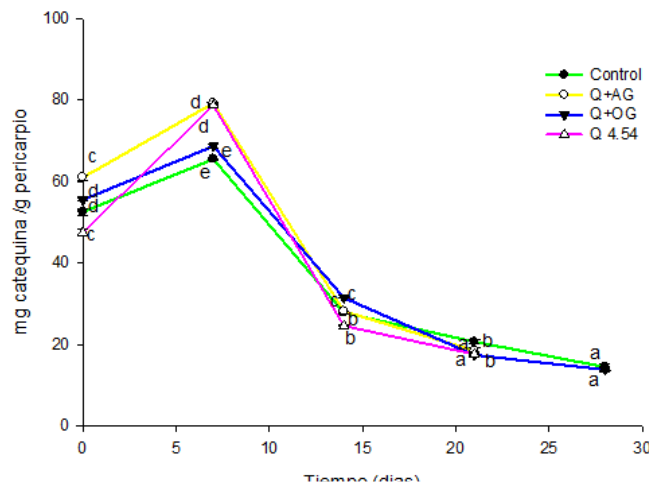


Figura 19. Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.3.5. Color del fruto

El color del fruto del litchi es un atributo visual más importante para el consumidor. En la (fig. 21) con respecto a L^* (luminosidad) los frutos presentaron color rojo claro a los 21 días de almacenamiento a valores más altos el color es más claro y a valores más bajos se vuelve más oscuro. El valor de $^{\circ}$ Hue nos indica la orientación de los cambios en el tinte, matiz, de los frutos de litchi con respecto al $^{\circ}$ Hue tiende hacer más rojo que amarillos. Los valores de croma (C^*) fueron mayores en el control 32 de croma a los 21 días de almacenamiento para los otros tratamientos los valores de croma es 29 esto nos indica entre mayor sea el valor (C^*) el color será más vivo y entre más pequeño, resultará más opaco por lo que se observa en la (fig. 21) los frutos con forme transcurre el tiempo de almacenamiento se van siendo opacos. por lo que el color rojo de los frutos Litchi son más vivos por otra parte los frutos al aplicarle el recubrimiento tiende a ser más opacos a los 21 días de almacenamiento.

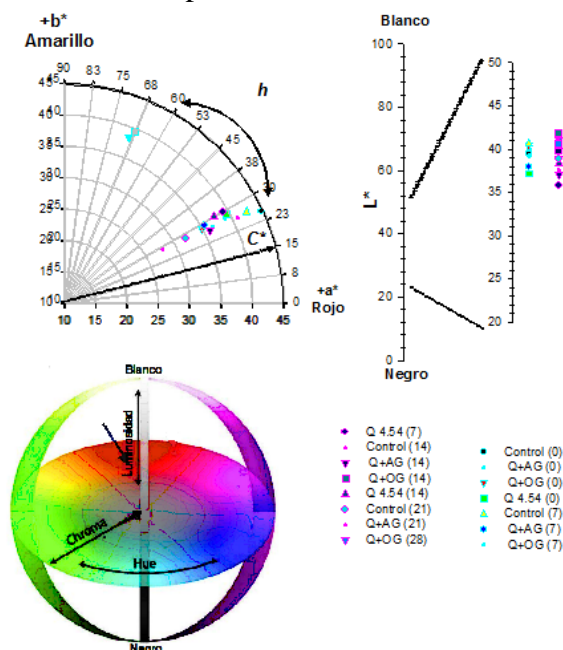


Figura 20. Color de los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR.

7.4. TERCER ENSAYO

En tercer ensayo a campo los tratamientos aplicados mencionados en materiales y métodos punto 6.2.1.3. Tercera ensayo en campo la opción de incluir el tratamiento quitosano modificado con octil galato (QgOG) y pH.

7.4.1. Pérdida fisiológica de peso

Los frutos de Litchi cv Brewster almacenado a 10°C con HR de 75% tuvieron una duración de 21 días después de ser tratados con los recubrimientos, los tratamientos tuvieron diferencia significativa ($\alpha < 0.05$). Como se observar en la fig. 21, el QgOG a pH1 la PFP fue menor que con la mezcla de Q+OG 1 y el control. Con respecto al ensayo dos se puede decir que al modificar el pH de la mezcla de Q+OG disminuye la perdida de agua en el fruto de litchi y es mejor que el control frutos. Los resultados obtenidos al modificar el pH de los tratamientos fueron mejores a lo reportado por Joas et al (2005) que obtuvieron valores de perdida de agua de 9.3% después de 13 días, que ellos utilizan recubrimientos a pH de 1.0 y 1.3.

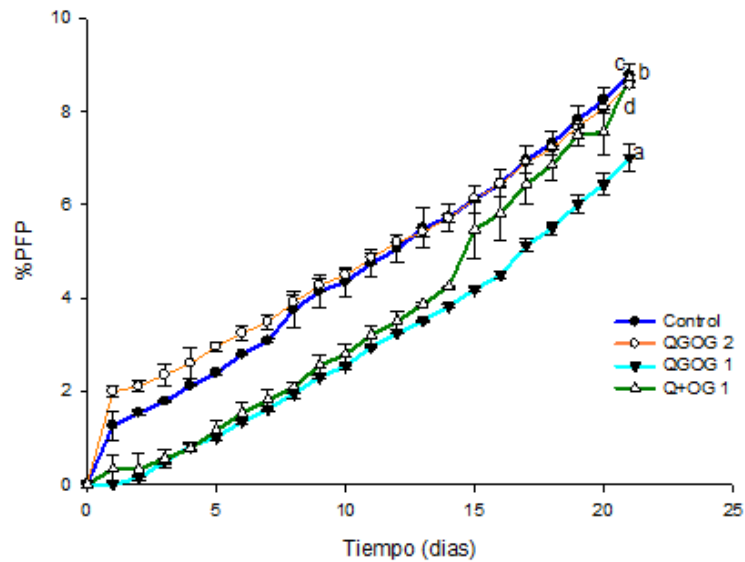


Figura 21. Pérdida fisiológica de peso en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.4.2. ATT, pH, SST y relación SST/ ATT

En la figura 22 se observa que hubo diferencia significativa en los tratamientos, se puede observar que el pH en la pulpa de los frutos a los 14 días hay aumento, a los 21 días de almacenamiento los tratamientos mantuvieron valores menores de pH con respecto al control siendo los mejores tratamientos el QgOg 2 g/l y Q+OG 1 g/l.

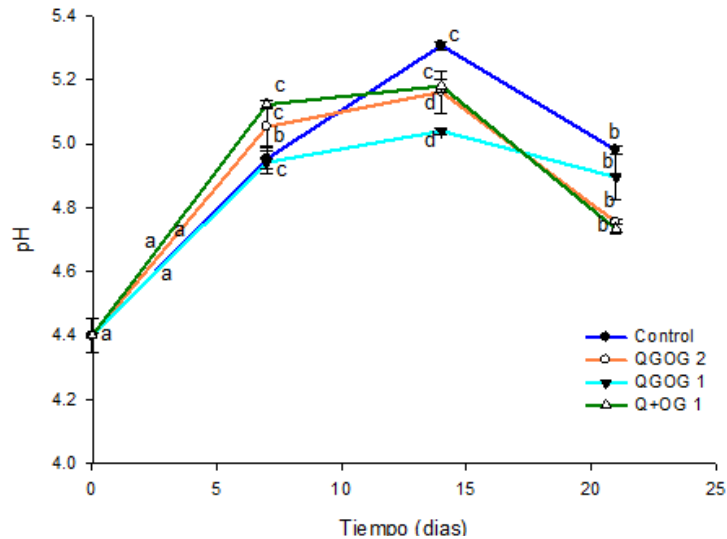


Figura 22, pH en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

En la fig. 23 se observa que a partir del día 7 a los 14 días hay un decremento en % de ácido málico y después se mantiene constante hasta el día 21 durante su almacenamiento, siendo el Q+OG 1 g/l el que presentó una disminución de ácido málico con respecto a los otros tratamientos.

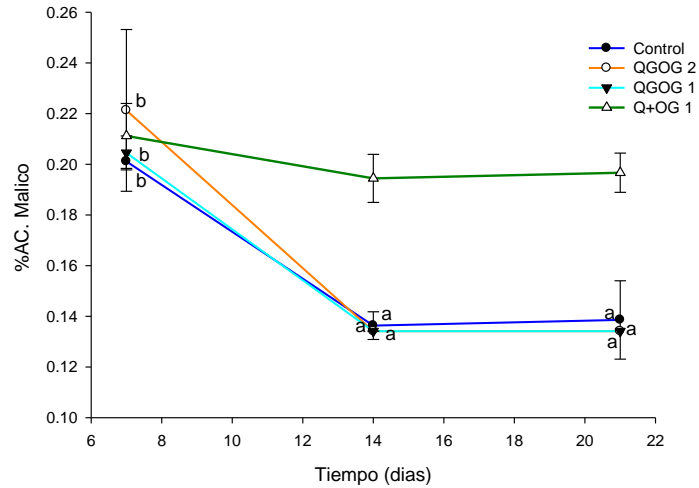


Figura 23. Ácido málico en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

Los tratamientos QgOG 2 g/l y el Q+OG 1 g/l presentaron menor °Brix durante los 21 días de almacenamiento siendo mejor en comparación con el control que presentó mayor °Brix (fig. 24).

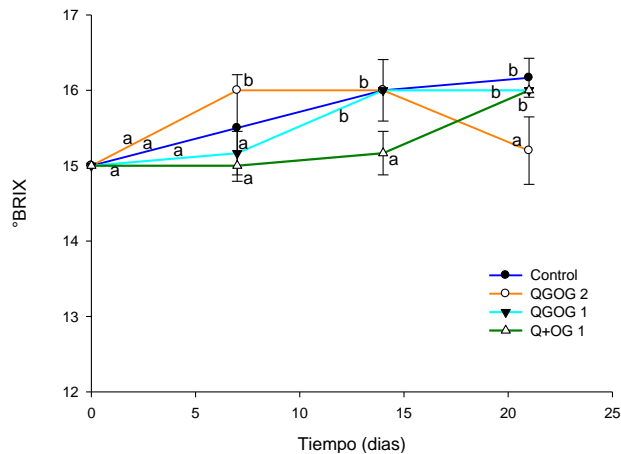


Figura 24. °Brix (SST) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

De los tratamientos a los 21 días de almacenamiento a 10°C con 75%HR el que mejor valor tiene de relación SST/ATT es el Q+OG1 con respecto a los demás tratamientos pero todos los tratamientos (fig. 25) están en el rango de aceptación de calidad para su comercialización ya que están en el rango de la relación SST/ATT 40-100.

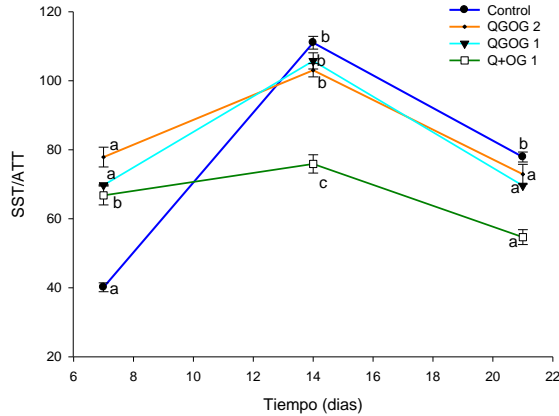


Figura 25. SST/AAT en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.4.3. Antocianinas

Los tratamientos condujeron a la pérdida de antocianinas de los frutos litchi cv. Brewster durante los 21 de almacenamiento la pérdida de las antocianinas fueron mayor con respecto al control. QgOG2 presentó mayor concentración de antocianinas con respecto a QgOG1 y Q+OG1 no fue mejor que el control este mismo tratamiento a los 7-14 días mostro mayor concentración de antocianinas presentes en el pericarpio en los frutos de litchi que el control (fig. 26).

Los tratamientos prestan diferencia significativa con una ($\alpha < 0.05$) de acuerdo al análisis de comparación múltiple de medias LSD. El contenido de cianidina-3-rutinosido disminuyó después de los 14 días de su almacenamiento como se muestra en la fig. 27. El Q+OG1 mostró una mayor concentración cianidina-3-rutinosido con respecto al control a los 14 días, mientras que a los 21 días los litchis tratados con QgOG1 fueron los que tuvieron una mayor concentración de cianidina-3-rutinosido pero menor que el control. Los tratamientos antes de los 14 días preservan la concentración de antocianinas totales y cianidina-3-rutinosido con respecto al control.

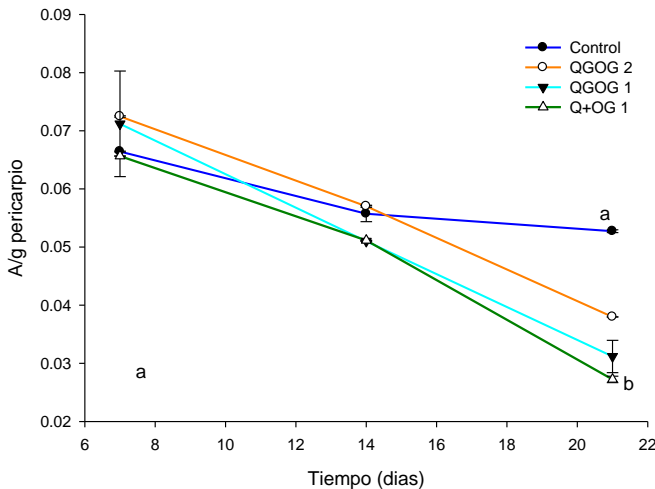


Figura 26. Antocianinas en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

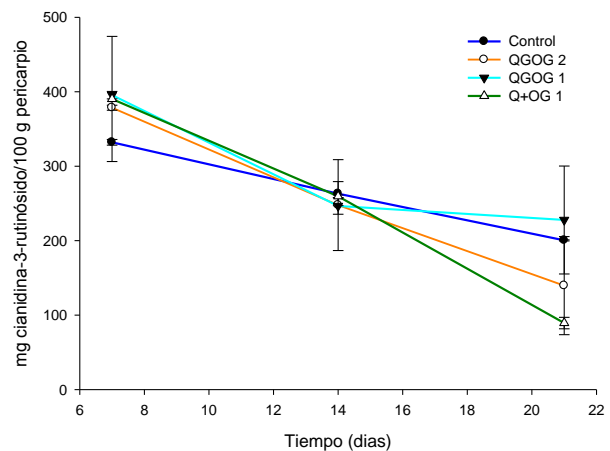


Figura 27. Evolución cianidina-3-rutinósido en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.4.4. Fenoles

La degradación de fenoles es uno de los problemas que se presenta durante el oscurecimiento del pericarpio de litchi esto se debe a la oxidación de compuestos fenólicos por enzimas PPO y PDO que conduce a la degradación de antocianinas (Jiang y Fu 1998). En la fig. 28 se observa que hay diferencia significativa entre los tratamientos durante el almacenamiento, donde el control mantuvo la concentración de fenoles a los 21 días de almacenamiento con respecto a los otros tratamiento esto no indica que probablemente se presentó una baja actividad de las enzimas PPO Y PDO. El aumento de fenoles a partir de 14 días puede estar relacionado a la alteración de la integridad de la membrana y tiende a descomponer los compuestos fenólicos insolubles donde podría ser la razón de un incremento en los compuestos fenólicos según (Wi et al 2007).

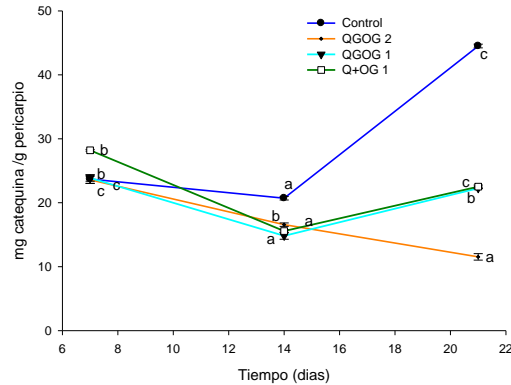


Figura 28. Concentración de fenoles (mg catequina/g pericarpio) en los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a un análisis estadístico LSD ($\alpha < 0.05$).

7.4.5. Color del fruto

Los valores de C* y °Hue indicaron que los frutos de litchi presentaron color Rojo opaco (fig. 29).

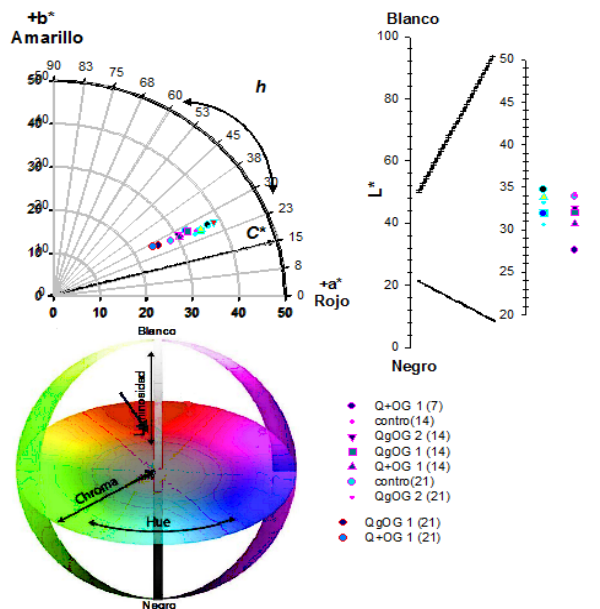


Figura 29. Color de los frutos de litchi cv. Brewster almacenados a 10 °C y 75 % HR.

8. CONCLUSIÓN

En este trabajo experimental se mostró que la mezcla de quitosano con compuestos fenólicos tuvo actividad antioxidante donde los tratamientos que presentaron una menor IC_{50} fueron Q+AG y Q+OG por lo tanto tienen una alta actividad antirradicalaria. Así mismo en los ensayos con los frutos de lichi se observó que el quitosano a concentración de 4.67 g/L limitó la pérdida de la calidad de los frutos durante su almacenamiento y preservó la concentración de antocianinas y fenoles conservando el color en el pericarpio para las dos variedades de los frutos de lichi (*Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster* y cv. *Mauritius*).

Los tratamientos de la mezcla de quitosano y antioxidante el Q+AG y Q+QUER conservaron los parámetros de calidad del fruto y la concentración de antocianinas a los ocho y nueve días de almacenamiento de los frutos de *Litchi chinensis* Sonn cv. *Brewster*.

El Q+OG sin ajustar el pH mantuvo el contenido de antocianinas totales y cianidina-3-rutinosido durante los 14 días de almacenamiento, cuando se modificó el pH1 al Q+OG evitó la pérdida de agua de los frutos de lichi y preservó mejor el cociente SST/AT de los frutos almacenados durante 28 días después de ser tratados y son adecuadas para una calidad de sabor aceptable. Por lo que se puede concluir que al modificar el pH de la mezcla de quitosano más octil galato conserva mejor los parámetros de calidad en comparación al quitosano modificado octil galato.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Aguas-Atlahua Aristarco, García-Pérez Eliseo, Trinidad-Santos Antonio y Ruiz-Rosado Octavio. (2012)** Quality Of Litchi Fruit (*Litchi chinensis* Sonn.) In Six Orchard State Veracruz, México.
- Banks N, Dadzie B, Cleland D (1993)** Reducing gas exchange of fruits with surface coatings Postharvest Biology and Technology 3 , 269 – 284.
- Baofeng Lin, Yumin Du , Xingquan Liang , Xiaoying Wang, Xiaohui Wang y Jianhong Yang. (2011)** Effect of chitosan coating on respiratory behavior and quality of stored litchi under ambient temperature. Journal of Food Engineering 102: 94–99.
- Bárzana, E., Shirai, K. 2011.** Postharvest litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) quality and preservation by *Lactobacillus plantarum*. Postharvest Biology and Technology, 59, 172-178.
- Castillo-Animas 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).
- Cisneros-Zevallos L, Krochta JM (2002)** Internal modified atmospheres of coated fresh fruits and vegetables: Understanding relative humidity effects. Journal of Food Science 67 (6), 1990 – 1995.
- Chen, Q.F, Liang-Ying, D., Shi, X., Yun-Sheng, W., Xiong-Lun, L. and Guo-Liang, W. 2007.** The COI1 and DFR genes are essential for regulation of jasmonate-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. J. Integr. Plant Biol. 49, 1370–1377.
- Donhowe, I. G. & Fennema, O. 1994.** Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions y testing methods. In: Edible coatings y films to improve food quality. Krochta J. M., E. A. Baldwin., and M. O. Nisperos-Carriedo. (comps). Ed. Technomic Publishing, Lancaster, P. A, pp 1-24.
- Duvenhage, J. A. 1994.** Control of postharvest decay and browning of litchi fruit by sodium metabisulphite and low pH dips – an update. Yearbook South African Litchi Growers Association. 6:36–38.
- Elia Nora Aquino Bolaños, Rubén Corona Velázquez, Andrés Villegas Cárdenas, Isabel Reyes Santamaría, Norma Güemes Vera, Alma Delia Hernández Fuentes y Edmundo Mercado Silva. (2010).** Effect of storage temperature and time on quality in minimally processed litchi fruit (*litchi chinensis* Sonn.). Journal of Food Quality 33: 299–311.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. y Boulet, M. 1991.** Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. Journal of Food Science. 56:1618–1620.
- Gramza, A. y Korczak, J. (2005).** Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. Trends in Food Science and Technology, 16(8), 351-358.
- Gülçin, I. (2012).** Antioxidant activity of food constituents: An overview. Archives of Toxicology, 86(3), 345-391.

Gur G.S and Bajapai P.N 1978. Post-harvest physiology of litchi fruit.I. Progressive horticulture. 10: pp. 63-77.

Hagenmaier RD, Shaw PE (1992) Gas-permeability of fruit coating waxes . Journal of the American Society for Horticultural Science 117 (1), 105 – 109.

Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. y Aruoma, O. I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 35(1-2), 7-20.

Hoffman AF (1916) Preserving Fruit . US patent 19, 160, 104.

Holcroft M. D., Mitcham J. E.1996. Postharvest physiology and handling of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) Postharvest Biology and Technology, 9, 265-281.

Itzincab, L., López-Luna, A. Gimeno, M., Shirai, K. Bárzana E. 2013. Enzymatic grafting of gallate ester onto chitosan: evaluation of antioxidant and antibacterial activities. International Journal of Food Science and Technology 48: 2034–2041.

Joas J, Yanis Caro, Marie Noelle Ducamp, Max Reynes. 2005. Postharvest control of pericarp browning of litchi fruit (*Litchi chinensis* Sonn cv Kwa'i Mi) by treatment with chitosan and organic acids I. Effect of pH and pericarp dehydration. Postharvest Biology and Technology 38. 128–136

Jiang Y.M, y Fu J.R. 1999. Biochemical and physiological changes involved in browning of litchi fruit caused by water loss. J Hortic Sci Biotechnol, 74:43–46.

Jiang, Y. M. y Li, Y. B. 2000. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. Food Chemistry. 73:139–143.

Jiang, Y. M., Su, X., Duan, X., Lin, W. y Li, Y. 2004. Anoxia treatment for delaying skin browning inhibiting disease development and maintaining the quality of litchi fruit. Food Technology and Biotechnology. 42:131-134.

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

Jiang, Y., Jianrong, J. y Jiang, W. 2005. Effects of chitosan coating on shelf life of cold-stored litchi fruit at ambient temperature. LWT - Food Science and Technology. 38:757–761.

Kadam, S. y 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, pp. 435-443

Ketsa, S. y Leelawatana, K. 1992. Effect of pre and poststorage acid dipping on browning of lychee fruits. Acta Horticulturae. 321:726-731

Konica Minolta, 2011. Parte I. Comunicación precisa de los colores L*a*b*. <http://www2.konicaminolta.eu/eu/Measuring/pcc/es/part1/07.html>; 11 julio 2011.

Krochta, J. M. y De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. [Review]. *Food Technology*, 51(2), 61-74.

Landrigan, M., Morris, S.C., Eamus, D., McGlasson, W.B., 1996. Postharvest water relationships and tissue browning of rambutan fruits. *Sci. Hort.* 66, 201–208.

Lee, H.S., Wicker, L., 1991. Quantitative changes in anthocyanin pigments of lychee fruit during refrigerated storage. *Food Chem.* 40, 263–270.

Magalhaes, L. M., Segundo, M. A., Reis, S. y Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, 613(1), 1-19.

Martín-Belloso, O., Rojas-Graü, M. A. y Soliva-Fortuny, R. (2009). Delivery of Flavor and Active Ingredients Using Edible Films and Coatings. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. In K. C. Huber y M. E. Embuscado (Eds.), (pp. 295-313): Springer New York.

Martínez-Castellanos G., Pelayo-Zaldívar, C., Pérez-Flores, L.J., López-Luna, A., Gimeno, M., Rivera-López J., Ordorica-Falomir C., Wesche-Ebeling P. 1999. Changes in anthocyanin concentration in Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during maturation. *Food Chemistry*. 65, 195-200.

McHugh, T. H. y Senesi, E. (2000). Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*, 65(3), 480-485.

Minas K. Papademetriou y Frank J. Dent. 2002. Lychee Production in the Asia-Pacific region. RAP publication 2002/04

Ouattara B, Simard RE, Piette G, Bégin A, Holley RA. 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *Int J Food Microbiol* 62:139–48.

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

Pacheco, N., Larralde-Corona, C.P., Sepulveda, J., Trombotto, S. Domard A. Shirai, K. 2008. Evaluation of chitosans and *Pichia guilliermondii* as growth inhibitors of *Penicillium digitatum*. *International Journal of Biological Macromolecules* 43:20–26.

Paul, E.P., Chen, N.J., Deputy, J., 1984. Litchi (*Litchi chinensis*) growth and compositional changes during fruit development. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 109, 817–821. Watson, B.J. 1988. Rambutan cultivars in north Queensland. *Queensland Agricultural Journal*, Jan-Feb. 37-41.

Plascencia, M., Viniegra, G., Olayo, R., Castillo, M., Shirai, K. 2003. Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*. 2003. *Macromolecular Bioscience* 3(10):582–586.

Pranoto, Y., S.K. Rakshit & V.M. Salokhe. 2004. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin LWT 38:859–865.

Quezada-Gallo, J.-A. (2009). Delivery of Food Additives and Antimicrobials Using Edible Films and Coatings. Edible Films and Coatings for Food Applications. In K. C. Huber & M. E. Embuscado (Eds.), (pp. 315-333): Springer New York.

Rivera-López J., Ordorica-Falomir C. y Wesche-Ebeling P. 1999. Changes in anthocyanin concentration in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during maturation. Food Chemistry. 65:195-200.

Rodríguez-Verástegui, L.L., Castillo-Animas, 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 sinensis* Sonn.) CV Brewster. Convenio COVIA-CONPELAC (Consejo Nacional de Productores y Exportadores de Litchi A. C.). Vigencia: 20 enero–31 agosto 2009.

Saunkhe D. y Desa B. 1984. lichi in postharvest Biotechnology of Fruit vol II. CRC press. pp 77-79.

Singh, S. y Singh, R. P. (2008). In vitro methods of assay of antioxidants: An overview. Food Reviews International, 24(4), 392-415.

Sivakumar D., Korsten L., Zeeman K. 2007. Postharvest management on quality retention of litchi during storage. Fresh Produce, Global Sciences Books, 1, 66-75.

Sivakumar, D., Wijeratnam, W., Wijesundera, R.L.C., Marikar F.M.T y Abeyesekere M. 2000. Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* on postharvest pathogens of rambután (*Nephelium lappaceum*). Phytoparasitica. 28:1-8.

Srilaong, V., Kanlayanarat, S., Tatsumi, Y., 2002. Changes in commercial quality of “Rong rieng” rambutan in modified atmosphere packing. Food Sci. Technol. Res. 8, 337–341.

Tindall, H.D. 1994. Rambutan cultivation. FAO Plant Production and Protection Paper 121. Food and Agriculture Organisation of the United Nation.

Underhill, S. J. R., Bagshaw, J., Prasad, A., Zauberman, G., Ronen, R. y Fuchs, Y. 1992. The control of lychee (*Litchi chinensis* sonn.) Postharvest skin browning using sulphur dioxide and low pH. Acta Horticulturae. 321:732-741.

Underhill, S. y C. Critchley. 1994. Anthocyanin decolorisation and its role in lychee pericarp browning. Australian Journal of Experimental Agriculture. 34:115-122.

Wrolstad R.E. 1976. Color and pigment análisis in fruti Products. S Bull. 621. Agric. Exp. Sta Oregón Sta. University.

Zauberman, G., Ronen, R., Akerman, M., Weksler, A., Rot, I. y Fuchs, Y. 1991. Postharvest retention of the red colour of litchi fruit pericarp. Scientia Horticulturae. 47: 89–97.

Zhang, D. L. y Quantick, P. C. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 12:195–202

Zhang, D., Quantick, P.C., Grigor, J.M., 2000. Changes in phenolic compounds in Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 19, 165–172.

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

Zhu K-X., Lian C-X., Guo X-N., Peng W., Zhou H-M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry* 126: 122–1126.