

ATMÓSFERAS CON BAJO O<sub>2</sub> Y ALTO CO<sub>2</sub> PARA LA CONSERVACIÓN DE FRUTOS DE LITCHILOW O<sub>2</sub> AND HIGH CO<sub>2</sub> ATMOSPHERES FOR PRESERVATION OF LITCHI FRUITSSalvador Valle Guadarrama<sup>1\*</sup>, Angelina Alonso Campos<sup>1</sup> e Irán Alia Tejacal<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Km. 38.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Chapingo, Edo. de México, México. Tel: 01 (595) 952-1500, Ext. 5592. <sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad Núm. 1001. 62209, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México.

\*Autor para correspondencia (svalle@correo.chapingo.mx)

## RESUMEN

La vida de anaquel de los frutos de litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) es corta, debido al oscurecimiento del pericarpio. En este trabajo se evaluó el efecto de tratamientos de atmósfera controlada (AC) bajo refrigeración, sobre la calidad de frutos de litchi cultivar 'Mauritius'. Se cosecharon frutos en fase de madurez de consumo (pericarpio rojo) en la región de Xicotepec de Juárez, Puebla, México. Se aplicaron cinco tratamientos de AC por 14 d a 5 °C y 96 % de humedad relativa (HR), con O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> en concentraciones porcentuales de (3-5), (3-10), (10-5), (10-10) y atmósfera normal (testigo). Después del tratamiento los frutos se almacenaron en atmósfera normal (aire) a 20 °C y 60 % HR por 6 d. Los atributos de color del pericarpio, luminosidad y cromaticidad, se mantuvieron en valores similares a los iniciales en frutos expuestos a AC, lo que no ocurrió en los frutos testigo. La mezcla gaseosa que produjo los mejores resultados fue 3 % de O<sub>2</sub> y 5 % de CO<sub>2</sub>, con la cual se consiguió menor degradación de antocianinas y menor actividad fermentativa, y permitió una exposición posterior a condiciones ambientales de al menos 6 d adicionales.

**Palabras clave:** *Litchi chinensis*, antocianinas, pericarpio, polifenoloxidasas, refrigeración.

## SUMMARY

The shelf life of the litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruits is short due to the pericarp browning. In this work the effect of different treatments of controlled atmosphere (CA) under refrigeration on the quality of litchi fruits cv. 'Mauritius' was evaluated. Fruits were harvested at Xicotepec de Juárez, Puebla, México, at edible maturity (red pericarp). Five CA treatments were applied for 14 d at 5 °C and 96 % relative humidity (RH), with O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> in porcentual concentrations of (3-5), (3-10), (10-5), (10-10), respectively, and normal atmosphere (control). After treatments the fruits were stored in normal atmosphere (air) at 20 °C and 60 % RH for 6 d. The pericarp color attributes, lightness and chroma, remained similar to the initial values registered in fruits exposed to AC, which did not occur in control fruits. The gaseous mixture that produced the best results was 3 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub>, since it produced lesser anthocyanins degradation, minimized the development of a fermentative metabolism and allowed subsequent fruit handling for at least six additional days at ambient conditions.

**Index words:** *Litchi chinensis*, anthocyanins, pericarp, polyphenoloxidase, refrigeration.

## INTRODUCCIÓN

Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) es una especie originaria de China. En México ha ganado importancia y se le cultiva comercialmente en los estados de Sinaloa, San Luis Potosí, Nayarit, Puebla, Veracruz y Baja California Sur (Schwentenius y Gómez, 1997). Produce un fruto no-climatérico con un pericarpio delgado (1 a 3 mm), de consistencia leñosa y textura rugosa, que adquiere un color rojo intenso en madurez de consumo (Pesis *et al.*, 2002). La parte comestible es un arilo blanco translúcido que recubre la semilla (Underhill y Simons, 1993; Nacif *et al.*, 2001).

La vida de anaquel de este fruto es menor a 3 d en condiciones ambientales, siendo una de las principales causas de su deterioro la pérdida del color rojo externo y el desarrollo de una coloración marrón y, aunque esto no afecta el sabor del arilo, sí reduce su valor comercial (Nip, 1988; Zauberman *et al.*, 1991). Según Underhill y Simons (1993), este problema se asocia con desecación y agrietado del pericarpio, que causa degradación celular e induce la acción de enzimas oxidantes sobre las antocianinas (Underhill y Critchley, 1994; Lichter *et al.*, 2000). Para reducirlo, se han probado bajas temperaturas (Chan *et al.*, 1998; Pesis *et al.*, 2002), tratamientos térmicos (Lichter *et al.*, 2000), aplicación de ácidos cítrico o ascórbico (Chan *et al.*, 1998) o de gases sulfurados (Zauberman *et al.*, 1991), manejo en atmósferas controladas (AC) con baja concentración de O<sub>2</sub> o alta de CO<sub>2</sub> (Vilasachandran *et al.*, 1997; Mahajan y Goswami, 2004; Techavuthiporn *et al.*, 2006a), AC con O<sub>2</sub> en concentraciones superatmosféricas (Techavuthiporn *et al.*, 2006b), atmósferas modificadas (AM) (Pesis *et al.*, 2002) y recubrimientos comestibles (Zhang y Quantick, 1997).

Según Zhang y Quantick (1997), el oscurecimiento se puede evitar si se controla la desecación del pericarpio y

se retrasa la degradación enzimática de antocianinas, lo que sitúa a las atmósferas controladas (AC) como una alternativa factible, que permite limitar el  $O_2$  que actúa como sustrato en las reacciones enzimáticas (Gil *et al.*, 2005) y aumentar la humedad relativa (HR) para reducir las pérdidas de agua por el producto, a una cierta temperatura. La combinación de bajas temperaturas con AC ha resultado positiva en todos los casos en que se ha probado, pero las respuestas dependen del genotipo. Al respecto, los frutos del cultivar 'Bombay' pueden conservarse hasta por 56 d (Majahan y Goswami, 2004), en tanto que los del cultivar 'Hong Huay' sólo por 32 d (Techavuthiporn *et al.*, 2006a). Wong *et al.* (1991) y Pesis *et al.* (2002) han señalado que la variabilidad se debe a diferencias en composición química y comportamiento fisiológico del fruto, y también son importantes las condiciones agroclimatológicas de desarrollo de la planta.

Pesis *et al.* (2002) evaluaron la conservación de frutos del cultivar 'Mauritius' en atmósfera modificada a 2 °C por cuatro semanas más 3 d a 20 °C; sin embargo, los resultados mostraron un deterioro rápido tras el retiro de las condiciones de refrigeración, por lo que sugieren reducir el periodo de almacenamiento o subir la temperatura del mismo. Vilasachandran *et al.* (1997) probaron AC a 5 °C en el mismo cultivar por 28 d y observaron que el tratamiento pierde efectividad a partir de la segunda semana, porque reduce la calidad del fruto. En este contexto, el presente trabajo se planteó con el objetivo de evaluar el efecto del almacenamiento en atmósferas con diferentes concentraciones de  $O_2$  y  $CO_2$ , a temperatura de refrigeración, sobre la calidad y posterior vida de anaquel de frutos de litchi cultivar 'Mauritius'.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** Se cosecharon frutos de litchi cv. 'Mauritius' de árboles desarrollados en Xicotepec de Juárez, Puebla, México, en julio del 2003. El estado fisiológico del fruto fue madurez de consumo, indicada por el color rojo intenso en la cáscara (Pesis *et al.*, 2002). Los frutos cosechados se colocaron en recipientes donde se mantuvieron a 5 °C por 10 h, tras de lo cual se midió la acidez titulable (% ácido cítrico) y el contenido de sólidos solubles totales (SST, °Brix), con métodos descritos por la AOAC (1990). Al momento de la cosecha se registraron valores medios de 0.55 ( $\pm 0.04$ ) % para acidez y de 17.75 ( $\pm 2.43$ ) °Brix para SST.

**Condiciones experimentales.** Se usaron frascos herméticos de 0.5 L de volumen para formar unidades experimentales con 0.25 kg de fruta cada una. Las unidades se sometieron a tratamientos de AC a 5 °C por 14 d, me-

dianamente mezclas de  $O_2/CO_2$  preparadas en el laboratorio en concentraciones porcentuales de 3/5, 3/10, 10/5, 10/10 y testigo (atmósfera normal; 21/0.03). Los gases circularon por los frascos a 50 mL  $min^{-1}$ . La HR de las mezclas se ajustó a 96 % mediante burbujeo en una solución de sulfato de cobre y glicerina con 1050 kg  $m^{-3}$  de densidad. Al término del tratamiento en AC, los frutos se pusieron en atmósfera normal por 6 d en condiciones de comercialización (20 °C y 60 % HR). Al inicio y término del periodo de AC se midió firmeza, color, contenido de antocianinas y actividad de polifenoloxidasas (PPO) en pericarpio, y contenido de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol) en arilo. Durante el periodo de exposición a las condiciones de comercialización se midió la velocidad de respiración en frutos enteros, y firmeza y color en pericarpio. La velocidad de respiración de los frutos testigo se determinó tanto a 5 como a 20 °C.

**Variables respuesta.** La velocidad de respiración se midió con un método estático (Jacxsens *et al.*, 1999); los frutos se pusieron en recipientes herméticos con volumen de 0.5 L; después de 1 h se determinó, mediante cromatografía de gases, la concentración de  $CO_2$  en el espacio de cabeza y al considerar la masa de los frutos y el volumen libre de los recipientes se calculó la actividad respiratoria en mL  $CO_2$   $kg^{-1}$   $h^{-1}$ . El contenido de acetaldehído y etanol se midió también por cromatografía de gases con el método de Davis y Chase (1969). Con base en las reacciones de fermentación alcohólica (Taiz y Zeiger, 1998), las producciones molares de los compuestos se sumaron y se expresaron en  $\mu mol$  100 mL $^{-1}$ . El cromatógrafo (Varian Star 3400CX, EE. UU.) contaba con: columna capilar Chrompack® tipo poraplot Q, detector por conductividad térmica (TCD) para la medición de  $CO_2$  y detector por ionización de flama (FID) para la medición de acetaldehído y etanol. Las temperaturas de la columna, inyector y detectores fueron, respectivamente, de 80, 150 y 170 °C para  $CO_2$  y de 150, 170 y 170 °C para acetaldehído y etanol. La medición de  $CO_2$  se auxilió con estándares (Praxair de México S. A. de C. V.) en concentraciones (v/v) de 4.98 %  $O_2$ , 4.98 %  $CO_2$  y 90.04 %  $N_2$  y con  $CO_2$  de alta pureza (99.8 %). Para acetaldehído y etanol se obtuvieron curvas tipo con soluciones preparadas a concentraciones de 1.57, 3.14, 6.28 y 7.85 mg 100 mL $^{-1}$  en el primer caso, y de 8.71, 17.41, 34.83 y 52.24 mg 100 mL $^{-1}$  en el segundo.

La firmeza del pericarpio se midió con un texturómetro modelo TA-TX2i (Stable Micro Systems, Gran Bretaña) y sonda de aguja (número de catálogo P/2N) en una rutina de penetrometría; la velocidad de ensayo fue 2 mm  $s^{-1}$  y la distancia de penetración 2 mm. Se evaluaron dos puntos opuestos de la zona ecuatorial de los frutos y los

resultados se expresaron como un promedio en newtons (N). El color se midió con un equipo MiniScan XE Plus modelo 45/O-L (Hunter Associates Laboratory Inc., EE. UU.) con ángulo de observador de 10° e iluminante D65; se determinaron las variables colorimétricas  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$ , y con éstas se calculó el ángulo de matiz ( $\tan^{-1} b^*/a^*$ ) y la pureza de color o cromaticidad  $\sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$  (McGuire, 1992).

Para medir antocianinas se usó el método de Connor *et al.* (2002). Muestras de 1 g del pericarpio se colocaron en tubos de fondo plano y se les agregaron 8 mL de metanol 80 % acidificado (0.1 % HCl) y refrigerado; cada tubo se sumergió en hielo picado, la mezcla se molió con un homogeneizador (Ika Labortechnik, modelo T25) y se filtró con papel Whatman # 1; el filtrado se centrifugó a 12000×g por 2.5 min en un equipo refrigerado (Du Pont Instruments, modelo Sorvall RC-5B). Del sobrenadante se tomaron 0.5 mL y se le adicionaron 2.5 mL de metanol para medir absorbancia a 520 nm. Se calcularon antocianinas totales (mg L<sup>-1</sup>) como  $[(10 E M_w V)/e]$ , donde E es absorbancia, V es un factor de dilución, e es un coeficiente de extinción (29600), y  $M_w$  es el peso molecular del principal pigmento en litchi (cianidina-3-rutinoso) (Lee y Wicker, 1991).

Para medir actividad de la enzima polifenoloxidas (E. C. 1.14.18.1; PPO) se usó el método de Lamikanra (1995) modificado por Alia *et al.* (2005). En un mortero frío se molieron 0.5 g de cáscara con Tris-HCl 0.1 N y polivinilpirrolidona 1 %, a pH 7.1. El extracto se centrifugó a 4 °C por 20 min a 10000×g en un equipo Du Pont Instruments modelo Sorvall RC-5B, se filtró con papel Whatman # 1 y se hizo un ensayo en una celda de vidrio para espectrofotómetro a 420 nm con 2 mL de catecol (20 mM), más 0.3 mL del sobrenadante. La actividad se reportó como U g<sup>-1</sup> de peso fresco, donde una unidad de actividad enzimática es igual a 1 µmol min<sup>-1</sup> de o-benzoquinona formada. Los reactivos fueron grado analítico (J. T. Baker S. A. de C. V., México).

El experimento se realizó de acuerdo con un arreglo factorial con dos fuentes de variación alojado en un diseño completamente al azar. Un factor fue el tipo de atmósfera que se aplicó por cuadruplicado a 5 °C por 14 d, con cinco tratamientos que fueron: testigo (atmósfera normal), 3/5 (3 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>), 3/10 (3 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>), 10/5 (10 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>) y 10/10 (10 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>). El otro factor fue el tiempo a 20 °C posterior a la aplicación de tratamientos. La unidad experimental fue un recipiente con 0.25 kg de fruta. Se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey, 0.05) con el programa SAS (SAS Institute, 1989).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Calidad a la cosecha.** Los frutos de litchi 'Mauritius' tuvieron una relación °Brix/acidez promedio de 32.3 en el arilo y una coloración completamente roja en el pericarpio, lo que se acepta como madurez de consumo (Pesis *et al.*, 2002). Esto contrastó con el reporte de Vilasachandran *et al.* (1997) para el mismo cultivar, quienes encontraron una relación de 18.8 en frutos producidos en Florida, EE. UU. De acuerdo con Underhill y Wong (1990), la relación °Brix/acidez es un indicador aceptable del grado de madurez del fruto de litchi, pero según Wong *et al.* (1991) y Pesis *et al.* (2002) la composición química y las condiciones climáticas pueden propiciar variabilidad en un mismo cultivar, lo cual sugiere que deben existir normas particulares para cada región. Ante la falta de una norma específica, en este trabajo se aceptó que al momento de cosecha los frutos estaban en madurez de consumo y que la relación °Brix/acidez encontrada es característica del cv. 'Mauritius' producido en Xicotepec de Juárez, Puebla, México.

**Velocidad de respiración.** La respiración de los frutos testigo antes del almacenamiento refrigerado fue de 8.3 (± 1.3) mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 20 °C. Este valor fue menor al reportado por Nagar (1994) para el cv. 'Calcuttia' (18 mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 25 °C), lo que pone de manifiesto diferencias en comportamiento fisiológico entre cultivares. Cuando los frutos se colocaron a 5 °C, la velocidad de respiración bajó hasta 2.24 mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y se mantuvo sin diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) durante todo el periodo de almacenamiento y aún después del traslado a 20 °C. Esta respuesta contrastó con lo reportado por Te-chavuthiporn *et al.* (2006a), quienes para frutos de litchi 'Hong Huay' expuestos a 4 °C registraron una respiración de 30 mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y una reducción gradual de tal actividad con el tiempo, lo que nuevamente fortalece el argumento de comportamientos fisiológicos distintos entre cultivares.

Según Kader y Saltveit (2003), la respiración depende directamente de la temperatura en un rango fisiológico normal. Por ello se consideró natural la reducción de la velocidad de producción de CO<sub>2</sub> al bajar la temperatura de los frutos de 20 a 5 °C; sin embargo, lo contrario no se presentó al transferir los frutos de 5 a 20 °C, lo que permite suponer la presencia de daños por frío. Al respecto, Chan *et al.* (1998) encontraron que se desarrollaron síntomas de este desorden fisiológico al exponer frutos provenientes de Tai Tong, Hong Kong, a temperaturas de 4 °C por 3 d y 10 °C por 8 d y posterior traslado a 25 °C. En comparación con el reporte anterior, la exposición de los frutos testigo a 5 °C por 14 d afectó la actividad

respiratoria al transferir a condiciones de comercialización (20 °C).

Al finalizar la fase de AC la velocidad de respiración del testigo fue estadísticamente igual a la de los tratamientos 3/5 y 10/5 (O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>), pero significativamente menor a la correspondiente a los tratamientos 3/10 y 10/10. Esta respuesta se modificó después de 4 d a 20 °C y los frutos expuestos a 3/5 y 10/5 presentaron una velocidad de respiración mayor que los frutos testigo, pero la de éstos fue estadísticamente igual a la de los tratamientos 3/10 y 10/10 ( $P \leq 0.05$ ), situación que se mantuvo hasta el sexto día a 20 °C (Cuadro 1). Estos resultados evidencian que en los frutos expuestos a 10 % de CO<sub>2</sub> la actividad respiratoria bajó en la condición de 20 °C posterior a la fase con AC, situación que contrastó con la de los expuestos a 5 % de CO<sub>2</sub> que mantuvieron una actividad sin variaciones importantes. Este comportamiento permite plantear la hipótesis de que durante la exposición de los frutos a elevadas concentraciones de CO<sub>2</sub> el gas difunde hacia el interior del tejido y se instala con concentración cercana a la ambiental, estableciendo un equilibrio cuya concentración depende del nivel de CO<sub>2</sub> externo. Al transferir a 20 °C y atmósfera normal (aire), la concentración a nivel de tejido transita a una nueva condición de equilibrio mediante liberación de CO<sub>2</sub>, lo que explica la mayor velocidad de evolución de este gas en los frutos expuestos a las atmósferas con 10 %, en comparación con las de 5 %. Al

respecto, Valle-Guadarrama *et al.* (2002) mostraron que el intercambio gaseoso de un fruto es resultado del gradiente de concentración entre el ambiente externo y el ambiente interno a nivel de tejido.

**Firmeza del pericarpio.** Durante la exposición en AC, en todos los tratamientos la firmeza del pericarpio disminuyó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 2), sin presentar agrietamiento alguno. Nagar (1994) encontró que las enzimas pectinmetilesterasa (PME) y celulasa (CE) registran alta actividad en frutos de litchi en fase de consumo, y emitió la hipótesis de que poligalacturonasa actúa en el ablandamiento del pericarpio después de una desmetilación parcial por PME. Con el traslado a 20 °C y 60 % HR el pericarpio se endureció y se hizo quebradizo, pero mantuvo valores de firmeza menores al estado inicial. Esto sugiere que la baja humedad ambiental favoreció un fenómeno de desecación, lo que explicaría el incremento en la firmeza durante la exposición a estas condiciones (Cuadro 2). De acuerdo con Underhill y Simons (1993), la deshidratación del pericarpio ocurre en dos etapas: primero se produce una pérdida de agua por lentecelas y regiones dañadas de la cutícula, principalmente en el vértice de las protuberancias de la superficie rugosa del fruto; después, debido a cierto grado de deshidratación, ocurre un micro-agrietado que inicia en las protuberancias y continúa radialmente por toda la superficie del pericarpio lo que favorece la pérdida de humedad.

**Cuadro 1. Comportamiento respiratorio de frutos de litchi a 20 °C después del tratamiento en atmósferas controladas a 5 °C y 96 % de humedad relativa.**

AC	Respiración (mL kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )			CV (%) <sup>ff</sup>
	16 d <sup>††</sup>	20 d	22 d	
Aire (testigo)	1.3 (a) (B) <sup>‡</sup>	0.9 (a) (B)	1.0 (a) (B)	58.5
3/5 <sup>†</sup>	4.9 (a) (AB)	2.5 (a) (AB)	5.3 (a) (A)	41.7
3/10	9.3 (a) (A)	4.2 (b) (AB)	3.5 (b) (AB)	35.9
10/5	5.8 (a) (AB)	7.2 (a) (A)	4.6 (a) (A)	48.4
10/10	9.1 (a) (A)	2.9 (b) (AB)	3.5 (b) (AB)	46.7
CV (%)	35.3	67.3	46.0	

<sup>†</sup> Concentraciones porcentuales respectivas de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> en mezclas de AC; <sup>††</sup> Días después de la cosecha (salida condiciones de refrigeración); <sup>‡</sup> Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa (Tukey, 0.05) entre medias de una misma hilera y las letras mayúsculas diferentes entre medias de una misma columna; <sup>ff</sup> CV = Coeficiente de variación (%). La interacción AC × Tiempo no fue significativa.

**Cuadro 2. Comportamiento de la firmeza del pericarpio de frutos de litchi a 20 °C después del tratamiento en atmósferas controladas a 5 °C y 96 % de humedad relativa.**

AC	Firmeza del pericarpio (N)			CV (%) <sup>ff</sup>
	Inicio	16 d <sup>††</sup>	22 d	
Aire (testigo)	1.613 (a) <sup>‡</sup>	0.071 (c) (B)	1.136 (b) (B)	2.533
3/5 <sup>†</sup>	1.613 (a)	0.098 (c) (A)	1.138 (b) (B)	2.384
3/10	1.613 (a)	0.094 (c) (AB)	1.177 (b) (B)	3.182
10/5	1.613 (a)	0.082 (c) (AB)	1.274 (b) (A)	2.609
10/10	1.613 (a)	0.089 (c) (AB)	1.138 (b) (B)	2.618
CV (%)	--	13.694	2.303	

<sup>†</sup> Concentraciones porcentuales respectivas de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> en mezclas de AC; <sup>††</sup> Días después de la cosecha (salida condiciones de refrigeración); <sup>‡</sup> Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa (Tukey, 0.05) entre medias de una misma hilera y las letras mayúsculas diferentes entre medias de una misma columna; <sup>ff</sup> CV = Coeficiente de variación (%). La interacción AC × Tiempo no fue significativa.

**Color del pericarpio.** Los atributos de color de los frutos del tratamiento testigo variaron linealmente con el tiempo de almacenamiento ( $t_d$ , días). La luminosidad ( $L^*$ ) y la cromaticidad ( $C^*$ ) disminuyeron ( $L^* = 31.0061 - 1.2685 t_d$ ;  $C^* = 29.4495 - 1.0217 t_d$ ), en tanto que el ángulo de matiz ( $H^*$ ) se incrementó ( $H^* = 32.2051 + 0.8954 t_d$ ) de tonalidades rojas a amarillas, con coeficientes de determinación  $R^2$  de 0.96, 0.89 y 0.87, respectivamente. Al término del almacenamiento a 5 °C y de tratamientos en AC, el valor de  $L^*$  y  $C^*$  en los frutos testigo fue diferente ( $P \leq 0.05$ ) al de los frutos de todos los tratamientos en AC que resultó semejante a la condición inicial, lo que no ocurrió con el ángulo de matiz y, aunque el cambio en los frutos expuestos en AC fue 66 % menor al de los frutos testigo, el análisis estadístico no reportó diferencia significativa. Después del retiro de la condición de AC, en todos los casos se observó un cambio constante en los tres atributos de color en los tratamientos; los frutos de la mezcla 10/10 ( $O_2/CO_2$ ) mostraron los cambios más acelerados, sin observarse diferencias estadísticas entre las mezclas 3/5, 3/10 y 10/5. Sin embargo, aún con estos cambios se mantuvieron las diferencias en  $L^*$  y  $C^*$  entre frutos expuestos en atmósfera normal y los frutos expuestos en AC (Figura 1). En esta etapa posterior a los tratamientos sí hubo diferencia significativa en el ángulo de matiz entre los frutos provenientes de AC y los frutos testigo (Figura 1). Estas respuestas señalan que las AC son benéficas para retrasar los cambios de color del pericarpio del fruto de litchi.

**Contenido de antocianinas y actividad de la enzima polifenoloxidas (PPO).** El contenido de antocianinas en el pericarpio al inicio del experimento fue de 37.8 mg 100 g<sup>-1</sup>, similar al contenido reportado por Underhill y Critchley (1993) con 40 mg 100 g<sup>-1</sup> y Rivera-López *et al.* (1999) con 46 mg 100 g<sup>-1</sup>. Mientras que en tejidos vegetales hay seis tipos de antocianinas (Del Valle-Leguizamón *et al.*, 2005), en litchi hay sólo dos: cianidina y malvidina. De acuerdo con Lee y Wicker (1991), el color rojo del pericarpio se debe a cianidina-3-rutinoso, cianidina-3-glucosa y malvidina-3-acetilglucosa. Durante el almacenamiento refrigerado el contenido de antocianinas bajó en los frutos testigo ( $P \leq 0.05$ ) en forma simultánea a un aumento de actividad en PPO ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 2). Por otro lado, al inicio del experimento se determinó que el pericarpio contenía fenoles totales en cantidad de 193.4 mg g<sup>-1</sup>, lo cual pudo ser determinante en la degradación del color, pues el oscurecimiento del pericarpio en litchi ocurre por un mecanismo enzimático donde la PPO juega un papel importante, pero la afinidad de esta enzima por las antocianinas es baja y la degradación se desarrolla sólo en presencia de compuestos fenólicos como catecol (Jiang, 2000).

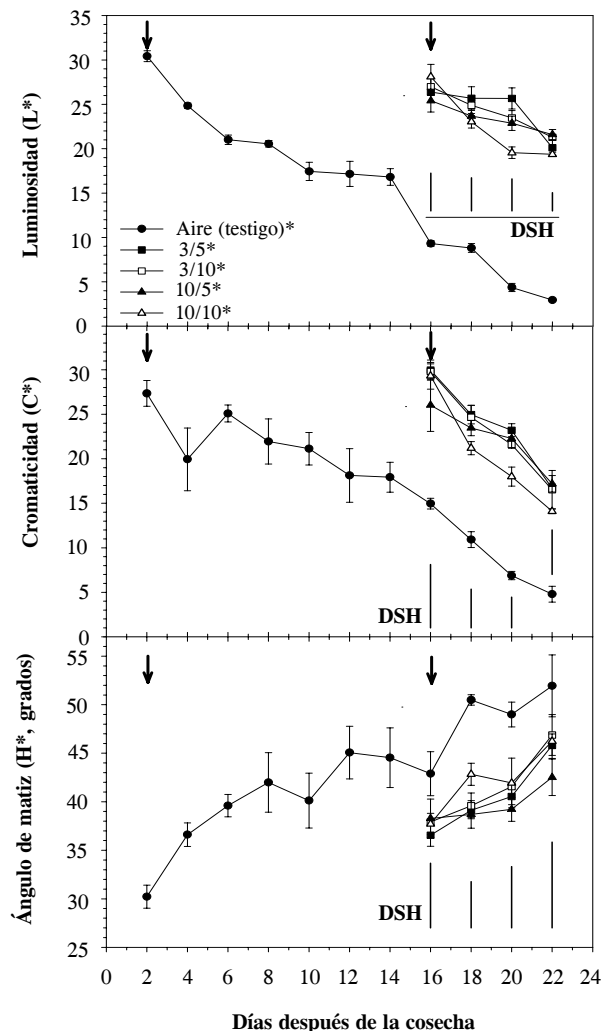


Figura 1. Efecto del tratamiento con atmósferas controladas (AC) por 14 d a 5 °C y 96 % de humedad relativa sobre los atributos de color del pericarpio de frutos de litchi 'Mauritius'. Las AC fueron mezclas con  $O_2/CO_2$  en concentración porcentual respectiva de 3/5, 3/10, 10/5, 10/10 y aire. Las flechas indican el inicio (izquierda) y final (derecha) del periodo de AC. DSH es diferencia significativa honesta (Tukey, 0.05) y aplica a comparación entre tratamientos en cada día. \*Cambio significativo (Tukey, 0.05) con el tiempo al interior del tratamiento en fase posterior a aplicación de AC.

Los frutos tratados en AC mostraron dos comportamientos; los sometidos a 3 ó 10 % de  $O_2$  y 5 % de  $CO_2$  (3/5 y 10/5) tuvieron un contenido de antocianinas similar al del inicio del experimento ( $P \leq 0.05$ ); en cambio, con 3 ó 10 % de  $O_2$ , pero 10 % de  $CO_2$  (3/10 y 10/10), el contenido fue similar al de los frutos testigo al término del almacenamiento refrigerado ( $P \leq 0.05$ ; Figura 2). Esto sugiere un papel importante del  $CO_2$  en la degradación de antocianinas, ya que al fijarse como  $HCO_3^-$  modifica el pH del tejido (Lange y Kader, 1997) y favorece las condiciones para dicha degradación. Con excepción del tratamiento 10/10, hubo congruencia con la actividad de PPO

pues con el tratamiento 3/10 la actividad de la enzima aumentó en forma similar al caso de los frutos testigo, lo que contrastó con lo encontrado en los tratamientos 3/5 y 10/5 donde fue menor ( $P \leq 0.05$ ; Figura 2). La acción de PPO es dependiente de  $O_2$  (Gil *et al.*, 2005) y los resultados indican que al reducir la disponibilidad de  $O_2$  a 3 ó 10 %, se reduce su actividad. Sin embargo, dado el efecto estimulador del  $CO_2$ , los resultados muestran que la mejor alternativa es el uso de una mezcla con 3 ó 10 % de  $O_2$  combinada con 5 % de  $CO_2$ .

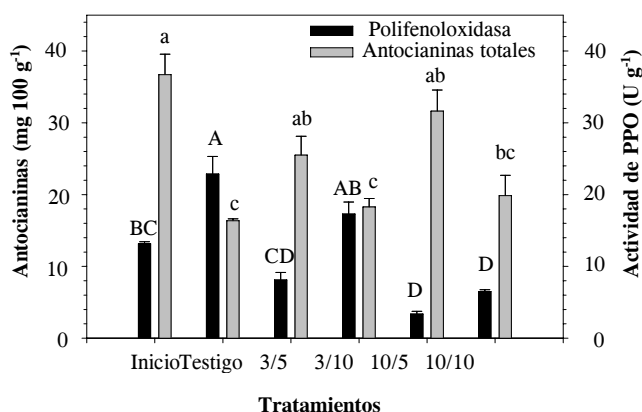


Figura 2. Comportamiento del contenido de antocianinas y de la actividad de polifenoloxidasas al término de la aplicación de tratamientos de atmósfera controlada (AC) por 14 d a 5 °C y 96 % de humedad relativa. Las AC fueron mezclas con  $O_2/CO_2$  en concentración porcentual respectiva de 3/5, 3/10, 10/5, 10/10 y aire. Letras mayúsculas y minúsculas iguales indican diferencia no significativa en valores de polifenoloxidasas y antocianinas, respectivamente (Tukey, 0.05).

**Metabolitos anaerobios.** Los frutos tuvieron alto contenido de acetaldehído (AA) y etanol (ET) al inicio del experimento, lo que indica presencia de metabolismo fermentativo (Figura 3). Resultados similares fueron reportados por Pesis *et al.* (2002), quienes indicaron que estos metabolitos aumentan con el desarrollo del fruto, y son más abundantes en el estado de coloración rosada y ligeramente menores en coloración roja. Los autores propusieron que al final de la maduración aumenta la demanda energética del fruto, que causa la activación simultánea de los metabolismos oxidativo y fermentativo para cumplir este requerimiento. Al término de la fase de AC hubo una tendencia a disminuir el contenido de metabolitos anaeróbicos respecto a la condición del inicio del experimento; se distinguieron tres casos: primero, los frutos testigo tuvieron un contenido similar al inicial; segundo, con los tratamientos 3/10 y 10/10 ( $O_2/CO_2$ ) se obtuvo un contenido estadísticamente igual al de los frutos testigo pero diferente al del inicio; y tercero, el contenido del material tratado con 3/5 y 10/5 fue diferente al del testigo ( $P \leq 0.05$ ), aunque no hubo significancia entre 10/5 y el grupo for-

mado por 3/10 y 10/10 (Figura 3), lo cual sugiere que el tratamiento 3/5 es el que minimiza el desarrollo del metabolismo fermentativo.

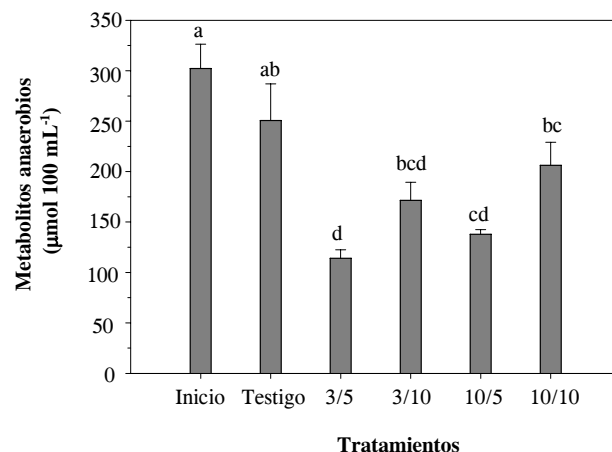


Figura 3. Efecto de tratamientos en atmósfera controlada (AC) por 14 d a 5 °C y 96 % de humedad relativa sobre la producción de metabolitos anaerobios. Las AC fueron mezclas con  $O_2/CO_2$  en concentración porcentual respectiva de 3/5, 3/10, 10/5, 10/10 y aire. Letras iguales indican diferencia no significativa (Tukey, 0.05).

Los frutos del tratamiento testigo mostraron que al bajar la temperatura bajó la respiración, sin afectar la velocidad del metabolismo fermentativo; sin embargo, éste sí se afectó por la composición de la atmósfera circundante. La tendencia mostrada en la Figura 3 sugiere que con mayor concentración de  $CO_2$  se tiene mayor actividad fermentativa y que con menor concentración de  $O_2$  dicha actividad disminuye. Esto también ha sido reportado por Valle-Guadarrama *et al.* (2004) en frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. 'Hass', quienes propusieron que en condición aeróbica al bajar la disponibilidad de  $O_2$  se reduce la actividad respiratoria y con ello la concentración de  $CO_2$  a nivel de tejido en forma de  $HCO_3^-$ , lo que afecta la actividad de las enzimas piruvato descarboxilasa y alcohol deshidrogenasa, responsables de la fermentación, que son dependientes del pH (Ke *et al.*, 1995). Para el aguacate 'Hass', Valle-Guadarrama *et al.* (2004) mostraron que a baja concentración de  $O_2$  pero mayor al punto de compensación anaeróbica, también ocurre menor emisión de AA y ET, lo que sugiere similitud de procesos bioquímicos con el fruto de litchi. El hecho de que el pH bajase con la fijación de  $CO_2$  (Lange y Kader, 1997) explica porqué en los tratamientos 3/10 y 10/10 la actividad fermentativa fue mayor. Estos resultados coinciden con los de Vilasachandran *et al.* (1997) quienes usaron  $CO_2$  a 10 y 15 % en litchi y detectaron malos olores derivados de un metabolismo fermentativo.

## CONCLUSIONES

Los atributos de color del pericarpio del fruto de litchi cultivar 'Mauritius' producidos en Xicotepec de Juárez, Puebla, México, pueden conservarse bajo atmósferas controladas con O<sub>2</sub> a 3 ó 5 % y CO<sub>2</sub> a 5 ó 10 %, aplicadas durante 14 d a 5 °C, con humedad relativa de 96 %. La mezcla gaseosa que produce mejores resultados es 3 % de O<sub>2</sub> y 5 % de CO<sub>2</sub>, con la cual se consigue menor degradación de antocianinas y color más intenso del pericarpio, además de tener un lento metabolismo fermentativo lo que permite un manejo posterior en condiciones de atmósfera normal a 20 °C por 6 d adicionales, con niveles normales de respiración, aunque el pericarpio puede mostrar signos de endurecimiento con humedad relativa baja.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alia T I, M T Colinas L, M T Martínez D, R M Soto H (2005) Daños por frío en zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn). II. Cambios en fenoles totales y actividad enzimática. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:25-32.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis Published by the Association of Official Analytical Chemistry. 15th ed. AOAC. Washington, D.C. 1141 p.
- Chan Y K, Y H Yang, N Li (1998) Low-temperature storage elicits ethylene production in nonclimacteric lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *HortScience* 33:1228-1230.
- Connor A M, J J Luby, B S Tong (2002) Variability in antioxidant activity in blueberry and correlations among different antioxidant activity assays. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127:238-244.
- Davis P L, W G Chase (1969) Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of head space. *HortScience* 4:117-119.
- Del Valle-Leguizamón G, A González-León, R Báez-Sañudo (2005) Antocianinas en uva (*Vitis vinifera* L.) y su relación con el color. *Rev. Fitotec. Mex.* 28:359-368.
- Gil M I, J A Tudela, J C Espín (2005) Pardeamiento. In: Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados. G A González-Aguilar, A A Gardea, F Cuamea-Navarro (eds). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Logiprint Digital S. de R. L. de C. V. México. pp:154-176.
- Jacxsens L, F Devlieghere, J Debevere (1999) Validation of a systematic approach to design equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut produce. *Food Sci. Technol.* 32:425-432.
- Jiang Y (2000) Role of anthocyanins, polyphenol oxidase and phenols in lychee pericarp browning. *J. Sci. Food Agric.* 80:305-310.
- Kader A A, M E Saltveit (2003) Respiration and gas exchange. In: Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. J A Bartz, J K Brecht (eds). University of Florida, Gainesville, Florida. pp:7-29.
- Ke D, E Yahia, B Hess, L Zhou, A A Kader (1995) Regulation of fermentative metabolism in avocado fruit under oxygen and carbon dioxide stresses. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120:481-490.
- Lamikanra O (1995) Enzymatic browning of Muscadine grapes products. In: Enzymatic Browning and its Prevention. C L Lee, J R Whitaker (eds). Chapman & Hall. London. pp:255-271.
- Lange D L, A A Kader (1997) Elevated carbon dioxide exposure alters intracellular pH and energy charge in avocado fruit tissue. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122:253-257.
- Lee H S, L Wicker (1991) Anthocyanin pigments in the skin of lychee fruit. *J. Food Sci.* 56:466-468.
- Lichter A, O Dvir, I Rot, M Akerman, R Regev, A Wiesblum, E Fallik, G Zauberman, Y Fuchs (2000) Hot water brushing: an alternative method to SO<sub>2</sub> fumigation for color retention of litchi fruits. *Postharv. Biol. Technol.* 18:235-244.
- Mahajan P V, T K Goswami (2004) Extended storage life of litchi fruit using controlled atmosphere and low temperature. *J. Food Proc. Preserv.* 28:388-403.
- McGuire R G (1992) Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27:1254-1255.
- Nacif S R, A A Sartori P, L C Chamhum S (2001) Morphological and anatomical development of the litchi fruit (*Litchi chinensis* Sonn. cv. Brewster). *Fruits* 56:225-233.
- Nagar P K (1994) Physiological and biochemical studies during fruit ripening in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *Postharv. Biol. Technol.* 4:225-234.
- Nip W K (1988) Handling and preservation of lychee (*Litchi chinensis* Sonn) with emphasis on colour retention. *Trop. Sci.* 28:5-11.
- Pesis E, O Dvir, O Feygenberg, A R Ben, M Ackerman, A Lichter (2002) Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 26:157-165.
- Rivera-López J, C Ordorica-Falomir, P Wesche-Ebeling (1999) Changes in anthocyanin concentration in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during maturation. *Food Chem.* 65:195-200.
- SAS Institute Inc (1989) SAS/STAT® User's Guide. Version 6. SAS Institute Inc., Cary, NC: pp:209-243.
- Schwentesius R R, M A Gómez C (1997) El Litchi, la Fruta más Fina del Mundo. Mundi-Prensa México, S. A. de C. V. México. 144 p.
- Taiz L, E Zeiger (1998) Plant Physiology. Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts. 792 p.
- Techavuthiporn C, W Niyomlao, S Kanlayanarat (2006a) Low oxygen storage of litchi cv. 'Hong Huay'. *Acta Hort.* 712:623-627.
- Techavuthiporn C, W Niyomlao, S Kanlayanarat (2006b) Superatmospheric oxygen retards pericarp browning of litchi cv. 'Hong Huay'. *Acta Hort.* 712:629-634.
- Underhill S J R, L S Wong (1990) A maturity standard for lychee. *Acta Hort.* 269:181-187.
- Underhill S J, C Critchley (1993) Physiological, biochemical and anatomical changes in Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during storage. *J. Hort. Sci.* 68:327-335.
- Underhill S J, D H Simons (1993) Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp desiccation and the importance of postharvest micro-cracking. *Sci. Hort.* 54:287-294.
- Underhill S J, C Critchley (1994) Anthocyanin decolourisation and its role in lychee pericarp browning. *Aust. J. Exp. Agric.* 34:115-122.
- Valle-Guadarrama S, C Saucedo-Veloz, C B Peña-Valdivia, J J E Corrales-García, S H Chávez-Franco, T Espinosa-Solares (2002) Skin permeance and internal gas composition in 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) fruits. *Food Sci. Technol. Int.* 8: 365-373.
- Valle-Guadarrama S, C Saucedo-Veloz, C B Peña-Valdivia, J J E Corrales-García, S H Chávez-Franco (2004) Aerobic-anaerobic metabolic transition in 'Hass' avocado fruits. *Food Sci. Technol. Int.* 10:391-398.
- Vilasachandran T, S A Sargent, F Maul (1997) Controlled atmosphere storage shows potential for maintaining postharvest quality of fresh lychee fruits. *Postharv. Hort. Ser.* 17:83-89.
- Wong L S, K K Jacobi, J E Giles (1991) The influence of hot benomyl dips on the appearance of cool stored lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) *Sci. Hort.* 46:245-251.

**Zauberman G, R Ronen, M Ackerman, A Weksler, I Rot, Y Fuchs (1991)** Postharvest retention of the red colour of litchi fruit pericarp. *Sci. Hort.* 47:89-97.

**Zhang D, P C Quantick (1997)** Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 12:195-202.