



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO.**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN.**

Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la reducción de los daños por frío y el contenido de poliaminas en mango variedad 'Manila'.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**INGENIERA EN ALIMENTOS.**

**P R E S E N T A :**

EDNA CASTILLO JIMÉNEZ

Asesora: Dra. Ma. Andrea Trejo Márquez.

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2005.

17346331



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**  
**UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR**  
**DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

F. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE  
EXÁMENES PROFESIONALES

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
**DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN**  
**PRESENTE**

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la reducción  
de los daños por frío y el contenido de poliaminas en mango variedad  
'Manila'.

que presenta la pasante: Edna Castillo Jiménez  
con número de cuenta: 09460288-1 para obtener el título de :  
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de Enero de 2005

PRESIDENTE IA. Alfredo Alvarez Cárdenas

VOCAL Dr. José Luis Arjona Román

SECRETARIO Dra. María Andrea Trejo Márquez

PRIMER SUPLENTE Dra. Ma. Gabriela Vargas Martínez

SEGUNDO SUPLENTE MC. Ma. de la Luz Zambrano Zaragoza

## **AGRADECIMIENTOS**

---



## AGRADECIMIENTOS

### *A mi mamá*

*Por ser una parte esencial en mi vida, por respetarme, guíarme y soportarme en mis aciertos y errores, pero sobre todo por ayudarme a seguir mis sueños y no abandonarme cuando más lo he necesitado, este también es un logro tuyo mamá.*

### *A mi papá*

*Por siempre estar al pendiente de mí y procurarme en todo lo que necesite para hacerme la persona que soy en este momento, a pesar de los momentos difíciles que hemos vivido, te doy las gracias por no dejarme caer y brindarme tu apoyo incondicional; Sabes una cosa? te quiero mucho papá.*

### *Al Enano*

*Por crecer junto a mí y convertirme en mi compañero de juegos y travesuras, por contagiarme la alegría de la vida y estar conmigo en todo momento, además de ser mi soporte técnico, espero que esto te sirva de motivación para que tú también salgas adelante a pesar de las adversidades, porque eres una persona excepcional, siempre recuérdalo, ok.*

### *Al Gordo*

*La vida me dio una oportunidad maravillosa al conocerte y no pienso desperdiciarla, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas y no permitirme flaquear cuando he estado a punto de hacerlo, eres muy importante para mí y espero que en un futuro alcancemos lo que nos hemos propuesto juntos.*

### *Al Nicky*

*Por haber llegado a mi vida a enseñarme que el amor no tiene límites, eres una de mis debilidades y espero tenerte aún más tiempo junto a mí.*

### *A mis Abuelitos<sup>†</sup> (Tere, Elena y Enrique) y mi padrino Felipe<sup>†</sup>*

*Por haber dejado una huella en mi vida, a pesar de ya no estar conmigo los tengo en mi pensamiento y se que donde quiera que se encuentren me estarán cuidando.*

### *A mi familia*

*Por estar conmigo y apoyarnos cuando más los hemos necesitado, en especial a mis tías Laura y Maricela, y mis primas Carmen y Nelly.*

### *A mis amigas de toda la vida*

*Xaren Aguayo, Sandra Moncibals y Carmen Fonseca por ser como son y ayudarme a ser menor cada día, ya son muchos años compartidos y espero que sean muchos más.*

### *A mis mejores amigas de la Universidad*

*Nancy Martínez, Araceli Ulloa, Elizabeth Santiago, Angélica Alaffita, Diana Saucedo, Carolina Álvarez, Vaney Ortiz, Claudia Cuellar y Ceticia Aviles por compartir conmigo las emociones y sabores de la vida, me siento muy afortunada de contar con personas como ustedes, no importando la distancia, espero que llegemos a viejitas y sigamos manteniendo contacto como hasta ahora, porque son un gran regalo de la vida.*

### *A mis amigos y compañeros de la Universidad*

*Omar Salinas, Carlos Ortiz, Abif Beltrán, Cilla Muñoz, Javier Cruz, Abril Espinosa, Ana Palacios, Juan Regalado y Jorge Alcántara, por haber hecho de la carrera y la universidad una etapa inolvidable.*

### *A mis amigos del CAT*

*Juan García, Noe Cortes, Benito Guadalupe, Marco Antonio García, Laura Anhelta y Rosy de la Cruz, gracias por las risas y el mutuo aprendizaje, créanme que el haberlos conocido hizo mi estancia mucho más agradable durante todo este tiempo, espero seguir cultivando esta amistad por muchísimos años más.*

### *A esas personitas especiales*

*César Meza, Javier Remigio, Pamela Bolaños, Alicia Balderas, Gabriela Barrios, Georgina López, Maribel Parra, Karina López, Alberto López, Rogelio Montoya y Gonzalo Téllez, gracias por haberme permitido dar lo mejor de mí a pesar de que algunos caminos ya no tienen la misma dirección, los momentos vividos nunca se olvidarán.*

*A la Lic. María Isabel Juárez Sánchez*

*Por brindarme su amistad incondicional y darme ese empujón para dar el salto cualitativo, te agradezco todos estos años de confianza y apoyo.*

*A mi hermana mayor Sandra*

*Porque fue maravilloso el tiempo que compartimos ya que aprendí muchas cosas positivas de ti y aunque la distancia nos separa, se que nuestra amistad será duradera, pero tengo que admitir que extraño esas largas charlas y tus consejos.*

*A Cupra PPO*

*Por escucharme cuando más lo he necesitado, y permitirme entrar en tu vida para dar paso a esta amistad, además de su ayuda para realizar este trabajo, espero seguir manteniendo contacto y sobre todo que no me olvides.*

*A Yadra Soto*

*Gracias por contagiarme tus energías y ganas de salir adelante, por permitirme enseñarte y aprender junto a ti.*

*A mis compañeros del Laboratorio de Postcosecha y de Métodos Analíticos*

*Rocío Fernández, Elizabeth de la Torre, Marcela Hernández, César Espinosa, Hugo Juárez, Mirtam Castillo, Karina Sandoval, Adriana Olvera y Edgar Muñoz, por compartir esta experiencia del laboratorio, espero haber dejado algo bueno en ustedes y que sigan adelante.*

*A mis niños del laboratorio*

*Nelly Choreño, Yvonne Osorio, Daniel Hernández, Paloma Ponce, Rodrigo Navarro, Ma. del Carmen Alvarado. Las Combricentas y las Trillizas fue muy agradable trabajar con ustedes, me llevó los mejores recuerdos, espero que en unos años estén en la cima del éxito con esa misma vitalidad.*

*A la Dra. Gaby Vargas*

*Gracias por permitirme aprender y compartir su experiencia, ha sido un placer trabajar con usted, ojala que algún día pueda llegar a tener esas mismas ganas para emprender mil cosas a la vez.*




*A la Dra. Andrea Trejo*

*Gracias por la oportunidad, por creer y confiar en mí para realizar esta tesis y la planeación del laboratorio, espero no haberte defraudado, ojalá y podamos seguir trabajando más adelante así como compartiendo las desveladas, comidas y las grandes charlas de café, en verdad fue algo enriquecedor para mí.*

*Este trabajo fue financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México, dentro del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT que lleva por nombre: Estudio sobre la inocuidad y el mejoramiento de la calidad del mango (No. Proyecto IN212703-3).*

*Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) dentro del proyecto: Desarrollo de tratamientos térmicos para mejorar la calidad en postcosecha del mango (No. de proyecto I39211-B). Además se agradece la beca otorgada para realizar esta tesis.*

*Se agradece al Departamento de Ingeniería y Tecnología por permitimos el uso del Colorímetro Minolta CR-300. De igual manera al Sr. Arturo Medina Martínez por la ayuda prestada para durante el periodo del trabajo experimental.*



Siembra un acto  
y cosecharás un hábito.

Siembra un hábito  
y cosecharas un carácter.

Siembra un carácter  
y cosecharás un destino.

Reade, Charles.

**ÍNDICE DE CONTENIDO**

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| <b>RESUMEN</b>  |               |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b>  | <b>1</b>      |
| <b>2. GENERALIDADES</b>                                       | <b>3</b>      |
| 2.1 Importancia económica del mango.                          | 3             |
| 2.1.1 Historia.   | 3             |
| 2.1.2 Producción y exportación de mango en México.            | 3             |
| 2.1.3 Estados productores.                                    | 5             |
| 2.2 El mango y sus cambios bioquímicos durante la maduración. | 6             |
| 2.2.1 Composición química y aporte nutritivo.                 | 6             |
| 2.2.2 Cambios fisiológicos en el mango.                       | 8             |
| 2.2.2.1 Respiración.  | 10            |
| 2.2.2.2 Producción de etileno.                                | 12            |
| 2.2.3 Cambios químicos y bioquímicos durante la maduración.   | 13            |
| 2.3 Desórdenes fisiológicos.                                  | 19            |
| 2.3.1 Daño por frío.  | 20            |
| 2.3.2 Prevención del daño por frío.                           | 22            |
| 2.3.3 Tratamientos térmicos.                                  | 23            |
| 2.4. Papel y función de las poliaminas.                       | 26            |
| 2.4.1 Definición y función de las poliaminas.                 | 26            |
| 2.4.2 Presencia y distribución de poliaminas.                 | 26            |
| 2.4.3 Biosíntesis de poliaminas.                              | 27            |
| 2.4.3.1 Síntesis de putrescina.                               | 27            |
| 2.4.3.2 Síntesis de espermidina y espermina.                  | 29            |
| 2.4.4 Degradación de poliaminas.                              | 30            |
| 2.4.5 Transporte de poliaminas.                               | 31            |
| 2.4.6 Metabolismo secundario de las poliaminas.               | 32            |
| 2.4.6.1 Poliaminas conjugadas.                                | 32            |
| 2.4.7 Función fisiológica de las poliaminas.                  | 32            |

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

|   |    |
|---|----|
| <b>3. OBJETIVOS.</b>  | 36 |
| <b>4. MATERIALES Y MÉTODOS.</b>   | 37 |
| 4.1 Secuencia metodológica.   | 37 |
| 4.2 Material biológico.   | 40 |
| 4.3 Tratamientos de las muestras.   | 40 |
| 4.4 Caracterización física, química y fisiológica del mango conservado a temperatura ambiente.                                      | 41 |
| 4.5 Aplicación de los tratamientos por inmersión en agua caliente (TIAC).   | 42 |
| 4.5.1 Perfil de penetración de calor.   | 42 |
| 4.5.2 Selección de condiciones de tiempo de inmersión y temperatura.  | 42 |
| 4.5.3 Efecto de tratamientos de inmersión en agua caliente en los parámetros de calidad, fisiológicos y sensoriales del mango.      | 43 |
| 4.5.4 Efecto de los tratamientos térmicos en la disminución de la susceptibilidad del mango al almacenamiento a bajas temperaturas. | 44 |
| 4.6 Métodos analíticos.   | 44 |
| 4.6.1 Análisis químico proximal.  | 44 |
| 4.6.2 Parámetros de calidad.  | 46 |
| 4.6.3 Parámetros fisiológicos y bioquímicos.  | 48 |
| 4.7 Análisis sensorial.   | 50 |
| 4.8 Desarrollo del método para la determinación de poliaminas por electroforesis capilar.   | 51 |
| 4.9 Caracterización de la cámara de refrigeración.  | 56 |
| 4.10 Análisis estadístico.  | 56 |
| <b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.</b>   | 58 |
| 5.1 Caracterización física, química y fisiológica del mango conservado a temperatura ambiente.                                      | 58 |
| 5.1.1 Caracterización física del mango.   | 58 |
| 5.1.2 Caracterización química y fisicoquímica del mango.  | 59 |
| 5.1.3 Caracterización fisiológica del mango.  | 61 |



|   |     |
|---|-----|
| 5.2 Selección de condiciones de tiempo y temperatura para los tratamientos térmicos.  | 62  |
| 5.2.1 Perfil de penetración de calor.   | 65  |
| 5.3 Evaluar el efecto de tratamientos de inmersión en agua caliente en los parámetros de calidad, fisiológicos y sensoriales del mango.                   | 68  |
| 5.3.1 Parámetros de calidad.  | 68  |
| 5.3.1.1 Sólidos solubles.   | 69  |
| 5.3.1.2 Acidez.   | 71  |
| 5.3.1.3 pH.   | 74  |
| 5.3.1.4 Firmeza.  | 75  |
| 5.3.1.5 Pérdida de peso.  | 78  |
| 5.3.1.6 Color.  | 80  |
| 5.3.2 Parámetros fisiológicos.  | 86  |
| 5.3.2.1 Respiración.  | 86  |
| 5.3.3 Evaluación sensorial.   | 88  |
| 5.4 Desarrollo del método analítico para determinar poliaminas en mangos por electroforesis capilar.  | 90  |
| 5.4.1 Influencia del tipo de buffer para la detección indirecta.  | 90  |
| 5.4.2 Influencia del pH del buffer.   | 93  |
| 5.4.3 Influencia del voltaje de separación.   | 94  |
| 5.4.4 Influencia del tipo de ácido utilizado en la preparación de la muestra.   | 95  |
| 5.5 Evaluar el efecto de los tratamientos de inmersión en agua caliente en los niveles de poliaminas y su relación con los daños por frío en mango.       | 100 |
| 5.6 Evaluar el efecto de los tratamientos de inmersión en agua caliente en las actividades de la PPO y POD y su relación con los daños por frío en mango. | 115 |
| 5.6.1 Comportamiento de la PPO y POD durante los estadios de maduración del mango.  | 116 |
| 5.6.2 Efecto de los tratamientos térmicos en las actividades de la PPO y POD en la piel y la pulpa de mango.  | 119 |
| 5.6.2.1 Temperatura de almacenamiento a 20°C.   | 119 |
| 5.6.2.2 Temperatura de almacenamiento a bajas temperaturas.   | 123 |
| 5.6.2.3 Temperatura de almacenamiento a 5°C.  | 125 |

|                     |     |
|---------------------|-----|
| 6. CONCLUSIONES.    | 129 |
| 7. RECOMENDACIONES. | 131 |
| 8. ANEXOS.          | 132 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA.    | 140 |
| 10. ABREVIATURAS.   | 169 |

---

**ÍNDICE DE TABLAS.**

| <b>Número</b> | <b>Leyenda</b>   | <b>Página</b> |
|---------------|--|---------------|
| 1             | Producción y exportación de mango en México.   | 4             |
| 2             | Principales estados productores de mango en el 2003.   | 5             |
| 3             | Composición química del mango.   | 7             |
| 4             | Valor nutritivo del mango.   | 7             |
| 5             | Reacciones asociadas al proceso de maduración.   | 8             |
| 6             | Concentración de las soluciones acuosas empleadas en la prueba de sabor.   | 50            |
| 7             | Sustancias empleadas como muestra en la prueba de aroma.   | 51            |
| 8             | Características sensoriales a evaluar del mango.   | 51            |
| 9             | Características físicas del mango.   | 58            |
| 10            | Composición química del mango.   | 59            |
| 11            | Características fisicoquímicas del mango.  | 60            |
| 12            | Parámetros de calidad de mangos tratados térmicamente al final del proceso de maduración.                                | 65            |
| 13            | Parámetros de calidad de mangos tratados térmicamente (45°C por 40, 55 y 70 minutos) al final del proceso de maduración. | 68            |
| 14            | Análisis sensorial de pulpa de mango 'Manila' a 20°C.  | 89            |
| 15            | Resumen de las condiciones finales encontradas para el monitoreo de las PA's en mangos 'Manila' por EC.                  | 97            |
| 16            | Parámetros estadísticos de las curvas de calibración de poliaminas.  | 97            |
| 17            | Detectores usados en EC y sus límites de detección aproximados.  | 134           |

---

**ÍNDICE DE FIGURAS.**

| <b>Número</b> | <b>Leyenda</b>  | <b>Página</b> |
|---------------|---|---------------|
| 1             | Fruto de mango 'Manila'.  | 6             |
| 2             | Principales procesos post-recolección: transpiración, respiración y maduración.   | 9             |
| 3             | Patrones respiratorios característicos de frutos climatéricos y no climatéricos.  | 11            |
| 4             | Biosíntesis del etileno.  | 13            |
| 5             | Principales cambios durante la maduración de frutos.  | 14            |
| 6             | Respuesta fisiológica y bioquímica de frutos sensibles al frío.   | 21            |
| 7             | Ruta de la biosíntesis del etileno y las poliaminas.  | 28            |
| 8             | Degradación de poliaminas.  | 30            |
| 9             | Cuadro metodológico.  | 37            |
| 10            | Frutos obtenidos para la experimentación.   | 40            |
| 11            | Selección de mangos de acuerdo a las características físicas.   | 41            |
| 12            | Aplicación de tratamientos por inmersión en agua caliente.  | 43            |
| 13            | Determinación de °Bx por refractometría.  | 46            |
| 14            | Determinación de color en el fruto.   | 47            |
| 15            | Determinación de textura en el fruto.   | 47            |
| 16            | Analizador de CO <sub>2</sub> (A) y Sistema de ventilación o canalizador de flujos para medición de la respiración (B). | 48            |
| 17            | Espectrofotómetro utilizado para determinación de actividades enzimáticas.  | 50            |
| 18            | Equipo de electroforesis capilar utilizado para la determinación de poliaminas.   | 52            |
| 19            | Caracterización de la cámara de refrigeración.  | 56            |
| 20            | Cambios en la tasa de respiración de frutos almacenados a 20°C.   | 62            |

---

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| <b>21</b> | Tasa respiratoria de mangos sometidos a tratamientos por inmersión en agua caliente: (A) 45°C por 15, 20, 30 minutos, (B) 47.5°C por 15, 20, 30 minutos, (C) 50°C por 3 y 5 minutos y (D) 55°C por 3 y 5 minutos. | 64 |
| <b>22</b> | Perfil de penetración de calor del mango 'Manila'.  | 66 |
| <b>23</b> | Tasa respiratoria de mangos 'Manila' sometidos a tratamientos hidrotérmicos a diferentes condiciones de temperatura y tiempo y madurados a 20°C.  | 67 |
| <b>24</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en los sólidos solubles de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).  | 70 |
| <b>25</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la acidez de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).   | 73 |
| <b>26</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el pH de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).   | 75 |
| <b>27</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la firmeza de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).  | 76 |
| <b>28</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la pérdida de peso de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B), durante los diferentes estadios de la maduración.                              | 79 |
| <b>29</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la luminosidad de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).  | 82 |
| <b>30</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el tono de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).   | 83 |
| <b>31</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el croma de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).  | 85 |
| <b>32</b> | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la respiración de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).  | 87 |

---

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| <b>33</b> | Estructura molecular de las poliaminas: Putrescina, Espermidina y Espermina.   | 90  |
| <b>34</b> | Esquema de cómo se lleva a cabo la detección indirecta.  | 91  |
| <b>35</b> | Espectros de absorción de los buffers estudiados para ser utilizados en la detección indirecta de poliaminas.                              | 91  |
| <b>36</b> | Electroferogramas obtenidos en la medición de una mezcla de poliaminas estándar utilizando diferentes buffers para la detección indirecta. | 92  |
| <b>37</b> | Electroferogramas de la influencia del pH en la separación de las poliaminas.  | 93  |
| <b>38</b> | Electroferogramas para la confirmación del orden de elusión de las poliaminas.   | 94  |
| <b>39</b> | Electroferogramas de la influencia del voltaje en la separación de poliaminas.   | 95  |
| <b>40</b> | Electroferograma de los estándares de poliaminas en diferentes ácidos (clorhídrico y perclórico).  | 96  |
| <b>41</b> | Electroferogramas del análisis de pulpas de mango a diferentes diluciones.   | 98  |
| <b>42</b> | Electroferogramas del análisis de pieles de mango a diferentes diluciones.   | 99  |
| <b>43</b> | Gráfico de la curva de calibración obtenida para la determinación indirecta de SPD en medio ácido perclórico.                              | 100 |

---

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 44 | Efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente en el índice de daño por frío en mangos 'Manila' almacenados a 5°C.  | 101 |
| 45 | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en mangos 'Manila' : A) inmediato al TIAC, B) 15 días almacenados a 5°C, C) 25 días y D) 35 días almacenados a 5°C.                          | 103 |
| 46 | Contenido de SPD en pulpa y piel de mangos 'Manila' durante los diferentes estadios de el proceso de maduración a 20°C(A y B) y 5°C (C y D).   | 109 |
| 47 | Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el contenido de espermidina en pulpa (A) y piel (B) de mangos 'Manila', inmediato al tratamientos y después de 25 días almacenados a 5°C. | 111 |
| 48 | Correlación entre contenido de SPD en la piel (A) y pulpa (B) y el tiempo de inmersión de los tratamientos térmicos aplicados a mangos 'Manila'.   | 113 |
| 49 | Correlación entre contenido de SPD e índice de daños por frío en mangos 'Manila' almacenados a 5°C, A) pulpa y B) piel.  | 113 |
| 50 | Evolución de la actividad de la PPO en la piel (A) y en la pulpa (B) de mango 'Manila' almacenados a 20°C.   | 116 |
| 51 | Evolución de la actividad de POD en piel (A) y en la pulpa (B) de mango 'Manila' madurados a 20°C.   | 118 |
| 52 | Actividad residual de PPO en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 20°C, en piel (A) y pulpa (B).  | 120 |

---

|           |   |     |
|-----------|---|-----|
| <b>53</b> | Actividad residual de POD de mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 20°C, en piel (A) y pulpa (B).                   | 122 |
| <b>54</b> | Actividad residual de PPO de mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 10°C, en la piel (A) y la pulpa (B).             | 124 |
| <b>55</b> | Actividad residual de POD en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 10°C, en la piel (A) y la pulpa (B).             | 125 |
| <b>56</b> | Actividad residual de PPO en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 5°C, en la piel (A) y la pulpa (B).              | 127 |
| <b>57</b> | Actividad residual de POD en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 5°C, en la piel (A) y la pulpa de mango (B).     | 128 |
| <b>58</b> | Configuración Básica de un Sistema de Electroforesis Capilar.   | 133 |
| <b>59</b> | Esquema representando la distribución iónica a través de un capilar de sílice fundida y el flujo electro-osmótico (EOF) resultante. | 135 |



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la efectividad de tratamientos hidrotérmicos en la reducción de la sensibilidad al daño por frío en mango variedad 'Manila', y su influencia en la calidad y vida en postcosecha del fruto.

Se realizó una caracterización física, química y fisiológica del mango 'Manila' almacenado a 20°C. Se realizaron diferentes pruebas para establecer las condiciones de los tratamientos hidrotérmicos (45°C por 40, 55 y 70 minutos) que permitieran alargar la vida de anaquel y controlar los daños por frío en mango.

Se evaluó el efecto de los tratamientos hidrotérmicos en los parámetros de calidad, las características sensoriales y la respiración del mango. No se encontró efecto significativo de los tratamientos sobre dichos parámetros, ni tampoco se logró alargar la vida útil de los frutos tratados. Sin embargo, se encontró que los tratamientos a 45°C por 40 minutos fueron los más efectivos para reducir el índice de daño por frío.

Se evaluó el efecto de los tratamientos en el control de los daños por frío y su relación con los cambios en las actividades enzimáticas de la polifenol oxidasa y peroxidasa en la piel y pulpa de los frutos almacenados a 5 °C. Encontrándose una correlación de  $r=0.90$  y  $r=0.87$  entre el índice de daño por frío y la actividad de la polifenol oxidasa y peroxidasa, respectivamente. Por otra parte los tratamientos térmicos provocaron una desactivación de dichas enzimas inmediato al tratamiento, sin embargo al final del almacenamiento recuperaron el 100% de su actividad.

Se desarrolló un método analítico por electroforesis capilar para determinar el contenido de poliaminas presentes en mango. Se detectó únicamente presencia de espermidina tanto en piel como en la pulpa de mangos. Se encontró una correlación lineal ( $r=0.91$ ) entre el tiempo del tratamiento y el contenido de espermidina en piel, lo que indicó que estos tratamientos inducen la biosíntesis de espermidina. Se estableció que el contenido de espermidina en mango no presentó relación con el índice de daño por frío.

## 1. INTRODUCCIÓN

---

## 1. INTRODUCCIÓN.

El mango es una de las frutas tropicales más antigua que se cultiva y es de gran importancia para México. Este fruto es uno de los productos con más alto potencial económico, de 90 países productores destacan: India, China, Tailandia, México, Pakistán, Filipinas, Indonesia y Brasil. Entre los principales países exportadores durante el 2002, México ocupó el primer lugar con 194, 591 TM (FAO, 2004).

Los estados de mayor producción son: Sinaloa, Michoacán, Nayarit, Veracruz, Oaxaca, Guerrero, Jalisco, Colima, y Campeche. Dentro de las principales variedades cultivadas se encuentran: 'Manila', 'Criollo', 'Tommy Atkins', 'Haden', 'Kent', 'Keitt', 'Ataúlfo' e 'Irwin', los cuales se localizan a lo largo de las franjas costeras del Pacífico y del Golfo. El mango 'Manila' se considera el más fino y sabroso de todos. Su pulpa es muy suave, abundante, dulce, perfumada y casi no presenta hebras.

La pérdida de calidad durante el almacenamiento del mango es el principal problema a resolver para mejorar la incorporación de este fruto en el mercado internacional, utilizando métodos tales como almacenamiento refrigerado. La conservación por frío disminuye la transpiración de la fruta, la germinación de esporas y el crecimiento de hongos, y retrasa los cambios bioquímicos que conducen a la senescencia. Todo ello contribuye a una reducción de las pérdidas postcosecha y a una mejora de la presentación y la calidad de la fruta. Sin embargo, el daño por frío, un desorden fisiológico que presentan los frutos de origen tropical y subtropical al ser almacenados por debajo de su temperatura crítica, limita su vida de anaquel. Los mangos son susceptibles al frío al ser expuestos a temperaturas bajas por períodos prolongados, por lo que la temperatura crítica de almacenamiento dependerá de cada variedad. Si bien dicha susceptibilidad está influenciada por factores bióticos y ambientales, su incidencia está determinada principalmente por la temperatura y duración del almacenamiento. El daño se manifiesta normalmente como un picado, decoloraciones y envejecimiento que conduce a podredumbres. Estas alteraciones junto con los daños mecánicos e infecciones, son las causas más importantes de pérdidas que van desde la cosecha hasta su comercialización que se calculan por el orden de 25-40% de la producción total. Por lo tanto, para extender la vida de anaquel y controlar los desórdenes

fisiológicos se han utilizado tratamientos térmicos, atmósferas modificadas y/o controladas, tratamientos con ceras, entre otros. Sin embargo, los más utilizados son los tratamientos térmicos, en estos tratamientos los frutos son sometidos a periodos de temperaturas elevadas (en agua, con calor seco o húmedo) previos al almacenamiento en frío, o bien, a periodos intermitentes de calentamiento durante el almacenamiento. Estos tratamientos han mostrado su utilidad en el control de enfermedades de postcosecha, y en la reducción de los daños por frío en productos tropicales. Los mecanismos por los cuales, los tratamientos térmicos proporcionan protección contra los desórdenes de postcosecha no son bien conocidos y representan en la actualidad uno de los campos de investigación más activos en esta área. Algunos de los efectos reportados por distintos investigadores comprenden el cambio en la composición de lípidos de la membrana (Lurie *et al.*, 1997), la inactivación de ciertas enzimas como la polifenol oxidasa y peroxidasa (Paull y McDonald 1994) y la síntesis de metabolitos como las poliaminas que pueden ayudar a estabilizar y proteger a la membrana (Wang, 1993).

Por lo tanto se realizó un estudio cuyo objetivo fue evaluar el efecto de altas temperaturas en el control de los daños por frío y su relación con los cambios en el contenido de poliaminas, así como su efecto en los parámetros de calidad y sensorial del mango variedad 'Manila'.

## 2. GENERALIDADES

---

## 2. GENERALIDADES DEL MANGO.

### 2.1 IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL MANGO.

#### 2.1.1 HISTORIA.

El mango es probablemente un híbrido natural entre el *M. indica* y del *M. sylvatica* que se cultiva en Asia del sudeste a la India (UGA, 2002). El mango está reconocido en la actualidad como uno de los 3 ó 4 frutos tropicales más finos. Ha estado bajo cultivo desde los tiempos prehistóricos. Desde el año 2000 a. C. en las sagradas escrituras en sánscrito, las leyendas y el folclore hindú se hace referencia a este fruto. Aparentemente es originario del noroeste de la India y el norte de Myaninar en las laderas del Himalaya y posiblemente también de Sir Lanka. El mango está distribuido por todo el sureste de Asia y el archipiélago Malayo desde épocas antiguas (Infoagro,1997).

El mundo occidental se relacionó con el mango e inició su actual distribución mundial con la apertura, por los portugueses, de las rutas marítimas hacia el Lejano Oriente, al principio del siglo XVI. Los españoles introdujeron este cultivo a sus colonias tropicales del Continente Americano, por medio del tráfico entre las Filipinas y la costa oeste de México por los siglos XV y XVI (Infoagro,1997).

#### 2.1.2 PRODUCCIÓN Y EXPORTACIÓN DE MANGO EN MÉXICO.

Por su amplia expansión en diferentes regiones del mundo, la producción de mango se presenta durante todo el año, pero el período septiembre-octubre es la temporada de menor producción, que corresponde al fin de la producción de los países tropicales del hemisferio Norte e inicia la del hemisferio Sur. En el caso de México, la producción inicia en enero aunque se incrementa a partir de febrero, alcanzando su nivel máximo en los meses de mayo y junio (Sifuentes, 2000).

Actualmente, dentro de las 53 especies frutícolas que se cultivan en nuestro país, el mango ocupa el tercer lugar en superficie cosechada con el 14.38 por ciento del total

nacional (detrás de la naranja y el plátano) y el primer lugar durante los dos últimos años en lo que a productos frutícolas de exportación se refiere (Infoaserca, 1996).

En México la producción de mango desde el punto de vista económico y social reviste una gran importancia, pues de esta actividad dependen aproximadamente 15,000 productores además nuestro país ocupa el primer lugar como país exportador y los volúmenes de exportación que anualmente realiza representan una fuente importante de divisas, siendo sus principales mercados Estados Unidos, Canadá, Francia y Japón (San Agustín, 1998).

En la tabla 1 se muestra la producción mundial de mango en el 2003 se registraron 1'503,010 TM. México ocupó el 4º lugar con 173,837 mil hectáreas y 5.02% del total. De 90 países productores destacan: India, China, Tailandia, México, Pakistán, Filipinas, Indonesia y Brasil (FAO, 2004).

Por otra parte, México registra exportaciones del orden de las 195,000 toneladas de mangos (Tabla 1), lo que constituye un aumento de 0.03 por ciento respecto de 2001 (FAO, 2004). Para el mercado de exportación se destinan las variedades de 'Haden', 'Kent', 'Keitt' y 'Tommy Atkins'. Las variedades de exportación están muy localizadas por zona geográfica, lo que permite tener disponibilidad del producto durante 8 meses del año (Sifuentes, 2000).

Tabla 1. Producción y exportación de mango en México.

| <b>Año</b> | <b>Producción México<br/>(TM)</b> | <b>Producción Mundial<br/>(TM)</b> | <b>Exportación México<br/>(TM)</b> |
|------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 2003       | 1,503,010                         | 25'563,469                         | 216,316                            |
| 2002       | 1,412,980                         | 26'479,497                         | 194,591                            |
| 2001       | 1,577,450                         | 25'141,500                         | 194,540                            |
| 2000       | 1,559,351                         | 24'749,036                         | 206,782                            |
| 1999       | 1,508,468                         | 23'482,266                         | 204,002                            |

Fuente: FAO (2004).

### 2.1.3 ESTADOS PRODUCTORES.

El mango ocupa el tercer lugar en producción de frutales a nivel nacional (1.5 millones de toneladas, en 2003), solo detrás de la naranja (4 millones) y el plátano (2 millones) (FAO, 2004).

Las zonas productoras de mango las podemos ubicar en las regiones costeras, de tal forma que se considera que el 91 por ciento de la superficie cultivada se localiza en los estados de Veracruz, Sinaloa, Oaxaca, Nayarit, Michoacán, Guerrero, Chiapas, Jalisco y Colima, los que aportan el 94 por ciento de la producción total (Infoaserca, 1996). Los estados de mayor producción son: Sinaloa, Michoacán, Nayarit, Veracruz, Oaxaca, Guerrero, Jalisco, Colima, y Campeche como se puede observar en la Tabla 2.

Dentro de las principales variedades cultivadas se encuentran: 'Manila', 'Criollo', 'Tommy Atkins', 'Haden', 'Kent', 'Keitt', 'Ataúlfo' e 'Irwin', los cuales se localizan a lo largo de las franjas costeras del Pacífico y del Golfo (Correa, 2002).

Tabla 2. Principales estados productores de mango en el 2003.

| Estado    | Superficie Sembrada (Ha) | Producción (Ton) | Rendimiento (Ton/Ha) | Valor Producción (Pesos) |
|-----------|--------------------------|------------------|----------------------|--------------------------|
| Campeche  | 3,023.50                 | 29,893.45        | 12.059               | 37,053,065.18            |
| Colima    | 4,471.00                 | 55,375.20        | 12.592               | 84,636,195.90            |
| Guerrero  | 9,350.30                 | 86,534.65        | 10.290               | 466,149,517.79           |
| Jalisco   | 4,672.00                 | 41,802.05        | 9.050                | 52,250,899.78            |
| Michoacán | 23,746.56                | 125,905.54       | 6.170                | 201,548,693.51           |
| Nayarit   | 20,517.05                | 306,018.75       | 14.918               | 346,592,367.92           |
| Oaxaca    | 17,924.00                | 172,816.00       | 10.279               | 445,612,000.00           |
| Sinaloa   | 3,406.00                 | 34,611.50        | 11.777               | 105,213,721.59           |
| Veracruz  | 1,633.50                 | 20,024.70        | 12.266               | 15,346,875.88            |

Fuente: SIAP-SAGARPA (2003).

En los estados del sur, la variedad que más se produce es la 'Manila', mientras que en los estados del centro y norte son las variedades 'Haden', 'Kent' y 'Tommy Atkins' las más importantes. En México, la variedad 'Manila' es la que mayormente se produce, su principal destino es el mercado nacional ya que su vida de anaquel es muy corta y el



manejo de calidad es muy delicado. Esta variedad de mango no resiste el tratamiento hidrotérmico, el cual es un requisito para su exportación a países como Japón, Estados Unidos, Chile y Nueva Zelanda (Correa, 2002).

## 2.2 EL MANGO Y SUS CAMBIOS BIOQUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN.

*Mangifera indica* L., es el miembro más importante de los *Anacardiaceae* o familia del marañón (ver Figura 1). Tiene algunos parientes bien conocidos, tales como el marañón (*Anacardium occidentale* L.), el pistachero (*Pistacia vera* L), los mombins (*Spondias* spp.), y la familia hiedra venenosa o roble venenoso de Norteamérica (*Rhus toxicodendron* L., o *R. radicans* L.), entre otros.

REINO: Vegetal

CLASE: Angiospermae

SUBCLASE: Dicotyledoneae

ORDEN: Sapindae

FAMILIA: Anacardiaceae

GÉNERO: *Mangifera*

ESPECIE: *Mangifera indica* L.

Fuente: Corporación Colombiana Internacional (1992).

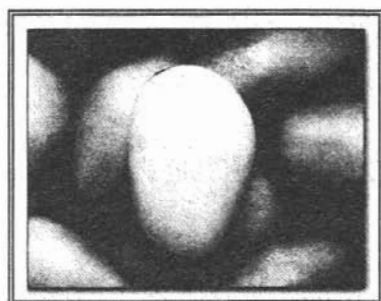


Figura 1. Fruto de mango 'Manila'.

Fuente: Philippines Department of Trade and Industry

### 2.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y APORTE NUTRITIVO.

En la Tabla 3 se muestra la composición química del mango, en donde se observa que es una fuente importante de carbohidratos. Es un fruto con un bajo contenido de proteínas y grasa, además de acuerdo a la variedad el contenido de fibra estará en un rango de 0.2-1.7 por ciento. El ácido pantoténico que contiene (vitamina B<sub>5</sub>) regulariza el metabolismo de los hidratos de carbono y aminoácidos (PM Productions & PM Ministries, 2002).

Por otra parte, el extracto acuoso de la corteza del mango denominado Vimang, rico en polifenoles, ha sido utilizado en numerosos estudios de investigación, demostrándose no solo su acción antioxidante sino también su efecto analgésico y antiinflamatorio. (Asociación 5 al día, 2003).

Tabla 3. Composición química del mango.

| <b>Componente</b> | <b>Valor por 100 g de pulpa de mango maduro</b> |
|-------------------|---|
| Humedad           | 78.9-82.8 g                                     |
| Proteína          | 0.36-0.40 g                                     |
| Grasa             | 0.30-0.53 g                                     |
| Carbohidratos     | 16.20-17.18 g                                   |
| Fibra total       | 1.70 g  |
| Soluble           | 0.63 g  |
| Insoluble         | 1.07 g  |
| Cenizas           | 0.34-0.52 g                                     |

\* Niveles mínimo y máximo de constituyentes del alimento derivados de varios análisis hechos en Cuba, América Central, África e India.

Fuente: Purdue University (2003); Asociación 5 al día (2003).

En la tabla 4 se muestra el valor nutritivo del mango en 100 g de parte comestible, de donde se puede destacar que un solo mango aporta toda la vitamina C que se necesita por día, 2/3 de las necesidades de vitamina A, casi la mitad de las necesidades de vitamina E, una cuarta parte de la fibra que necesita el cuerpo y una combinación de minerales entre los que se encuentran hierro y fósforo. También el mango es excelente para problemas de la piel y para convalecencias, además es buena fuente de antioxidantes, vitamina C y  $\beta$ -caroteno (PM Productions & PM Ministries, 2002).

Tabla 4. Valor nutritivo del mango.

| <b>Factor nutricional</b> | <b>Valor por 100 g de pulpa de mango maduro</b> |
|---------------------------|---|
| Calorías                  | 62.1-63.7                                       |
| Vitamina A (Eq. Retinol)  | 0.201 mg  |
| Carotenos totales         | 1.30 mg   |
| Tocoferol (E)             | 1.0 mg  |
| Complejo B                | 0.495 mg  |
| Ácido ascórbico           | 7.8-172.0 mg                                    |
| Calcio                    | 6.1-12.8 mg                                     |
| Hierro                    | 0.20-0.63 mg                                    |
| Fósforo                   | 5.5-17.9 mg                                     |
| Sodio                     | 5 mg  |
| Potasio                   | 170 mg  |

\* Niveles mínimo y máximo de constituyentes del alimento derivados de varios análisis hechos en Cuba, América Central, África e India.

Fuente: Purdue University (2003); Asociación 5 al día (2003).

## 2.2.2 CAMBIOS FISIOLÓGICOS EN EL MANGO.

El proceso de maduración de los frutos se caracterizan por una secuencia de cambios físicos, químicos, bioquímicos y metabólicos que permiten al fruto alcanzar sus atributos sensoriales (forma, color, sabor, aroma, firmeza) característicos de la especie (Lamúa, 2000).

El desarrollo del proceso de maduración depende de un delicado y complejo equilibrio entre hormonas inductoras (etileno y ácido abscísico) e inhibitoras (auxinas, citoquininas y giberelinas) que regulan los mecanismos bioquímicos (Lamúa, 2000).

Los mecanismos bioquímicos asociados a la maduración son altamente complejos y algunos no parecen depender de la síntesis autocatalítica de etileno. Teniendo en cuenta esta complejidad, se indican únicamente los procesos de mayor relevancia en la Tabla 5.

Tabla 5. Reacciones asociadas al proceso de maduración.

| <b>Degradación</b>                 | <b>Síntesis</b>                                |
|------------------------------------|--|
| Destrucción de cloroplastos        | Mantenimiento de la estructura mitocondrial    |
| Descomposición de clorofilas       | Síntesis de carotenoides, antocianos           |
| Hidrólisis de almidón              | Interconversión en azúcares                    |
| Destrucción de ácidos              | Activación del ciclo de Krebs                  |
| Oxidación de sustratos             | Incremento de ATP                              |
| Compuestos fenólicos               | Síntesis de aromas                             |
| Solubilización de pectinas         | Incorporación de aminoácidos                   |
| Activación de enzimas hidrolíticas | Aumento de transcripción y traducción de ARN-m |
| Iniciación de la rotura celular    | Mantener selectividad de membranas             |
| Degradación pared celular          | Formación de etileno                           |

Fuente: Lamúa (2000).

Los productos vegetales, después de la recolección, continúan sus procesos vitales a expensas de sus propias sustancias de reserva. El proceso fisiológico fundamental es la respiración, ya que permite sintetizar compuestos ricos en energía (ATP), esenciales para el desarrollo de los mecanismos de síntesis en post-recolección. La respiración y transpiración son procesos comunes a todos los productos vegetales. Otros procesos en comparación más específicos: maduración, elongación, floración, etc; dependerán del órgano vegetativo de la planta que es utilizado como alimento (Lamúa, 2000).

La respiración es el proceso fundamental ya que produce la energía necesaria para desarrollar los mecanismos de síntesis y mantener la integridad celular después de la recolección. El proceso de transpiración es un fenómeno físico de intercambio de vapor de agua entre el producto (agua de constitución) y el medio ambiente como se observa en la Figura 2. Los procesos de transpiración y respiración son comunes a todas las especies vegetales (Lamúa, 2000).

La intensidad de los procesos fisiológicos post-recolección depende de la especie, variedad, condiciones ecológicas y agrotécnicas de cultivo, y del grado de desarrollo en recolección. En general, los frutos de especies de clima tropical y subtropical, así como las hortalizas foliáceas son los productos vegetales que presentan una mayor actividad fisiológica post-recolección, y por ello una menor capacidad de conservación (Lamúa, 2000).

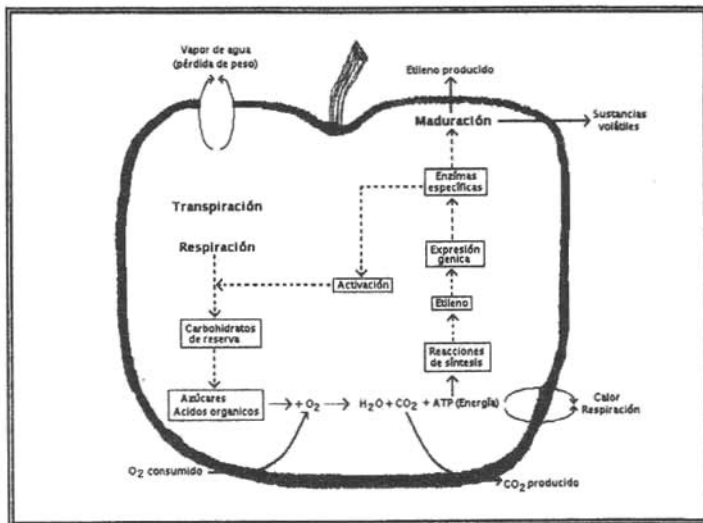


Figura 2. Principales procesos post-recolección: Transpiración, Respiración y Maduración.

Fuente: Lamúa (2000).

### 2.2.2.1 RESPIRACIÓN.

La respiración es un proceso oxidativo altamente complejo que permite obtener la energía necesaria para mantener los procesos vitales (síntesis y/o degradación) a expensas principalmente de los hidratos de carbono de reserva (Lamúa, 2000).

El proceso de respiración se puede concretar en tres fases fundamentales:

- Hidrólisis de carbohidratos de reserva: Almidón (polisacárido), sacarosa (disacárido) y producción de moléculas sencillas (azúcares y ácidos orgánicos) fundamentales como sustratos de la glicólisis.
- Degradación de glucosa vía glicólisis y transformación en sustratos oxidables (piruvato) en el ciclo de Krebs.
- Oxidación de sustratos a través del ciclo de ácidos tricarbóxicos (Krebs), produciendo  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y energía. La energía producida se utiliza en los mecanismos de síntesis, aunque parte se desprende en forma de calor (calor de respiración).

El análisis de la respiración se efectúa mediante el cociente respiratorio (CR): relación entre el volumen de  $\text{CO}_2$  producido y  $\text{O}_2$  consumido. Usualmente indica el tipo de sustrato que se está metabolizando esencialmente en la respiración. Si  $\text{CR}=1$ , azúcares;  $\text{CR} > 1$ , ácidos orgánicos;  $\text{CR} < 1$ , ácidos grasos. En general el CR aumenta durante la maduración y senescencia (Lamúa, 2000).

En la figura 3 se pueden observar los patrones respiratorios de frutos. En los frutos climatéricos la IR se caracteriza por alcanzar un mínimo en la madurez fisiológica (mínimo pre-climatérico), y posteriormente aumentar (crisis climatérica) hasta alcanzar un máximo (máximo climatérico) que comúnmente se corresponde con la plena madurez (óptimo de calidad de consumo). El descenso final de la respiración (post-climaterio) coincide con la fase de senescencia y muerte celular. Por el contrario, en frutos no-climatéricos la respiración es decreciente y no se modifica significativamente durante la maduración (Lamúa, 2000).

Rhodes (1970) sugiere que el término climatérico debe asociarse a una fase crítica de la vida del fruto, inducida por el etileno (hormona de la maduración), en la que sufre intensos cambios fisiológicos y metabólicos. McGlasson (1978) limita el concepto de fruto

climatérico a aquellas especies en las que el aumento respiratorio está asociado con cambios físicos, químicos, fisiológicos y metabólicos, presentes en la fase de transición existente entre la plena madurez y la senescencia (descomposición y muerte celular). (citado en Lamúa, 2000).

Los frutos climatéricos responden al aporte de etileno acelerando sus procesos metabólicos (únicamente en la fase preclimatérica). La intensidad del estímulo no depende de la concentración de etileno aportada, pero la rapidez con la que se produce es proporcional a la misma. Los frutos climatéricos son capaces de madurar una vez separados de la planta, por lo que pueden ser recolectados inmaduros (mayor capacidad de conservación), y mediante las tecnologías post-recolección, alcanzar el óptimo de calidad de consumo (Lamúa, 2000).

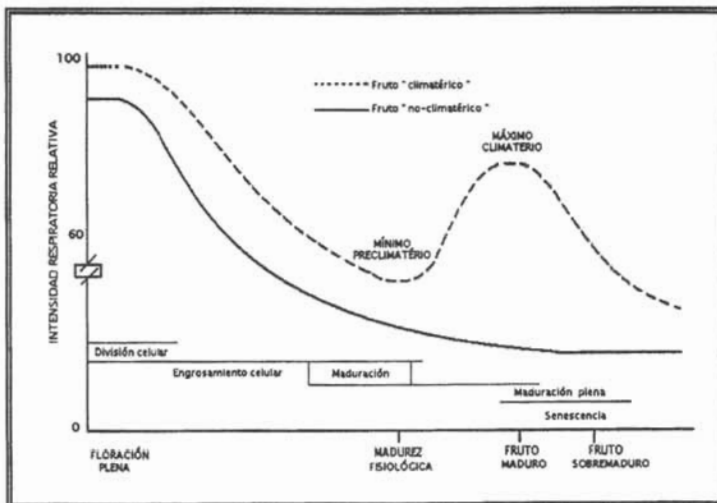


Figura 3. Patrones respiratorios característicos de frutos climatéricos y no climatéricos.

Fuente: Lamúa (2000).

En los frutos no climatéricos el patrón respiratorio no presenta cambios significativos durante la maduración. No son capaces de madurar después de la recolección, por lo que es necesario recolectar en plena madurez (Lamúa, 2000).

### 2.2.2.2 PRODUCCIÓN DE ETILENO.

Aunque en principio se pensó que el etileno era un producto de la maduración, se ha confirmado que es una hormona de las plantas que regula el crecimiento, desarrollo o las funciones de ciertos órganos en la mayoría de las especies. El etileno ( $C_2H_4$ ) juega un papel fundamental en estimular la crisis climática, pero no debe considerarse el único factor, ya que otras fitohormonas, como el ácido abscísico, auxinas, citoquininas y giberelinas, también participan de forma activa en el crecimiento y desarrollo de plantas. Auxinas (IAA), giberelinas y citoquininas retardan la senescencia, mientras que el etileno y ácido abscísico (ABA) estimulan la maduración (Mc Glasson, 1970).

Hay evidencias de que el proceso de maduración de frutos es inducido por un delicado equilibrio hormonal y que el etileno es en general el 'inductor' final que estimula la mayoría de los mecanismos bioquímicos asociados a la maduración. Los frutos climáticos se caracterizan por un rápido incremento de la síntesis de etileno (síntesis auto-catalítica) cuando se superan unos niveles internos 'críticos', y esta crisis etilénica es necesaria en numerosas especies para alcanzar la plena madurez (Lamúa, 2000).

Los principales mecanismos asociados a la maduración dependientes de la síntesis de etileno son: degradación de clorofilas (clorofilasas), metabolismo de azúcares (invertasa) y ácidos orgánicos (malato deshidrogenasa), y degradación de la pared celular (celulasa, poligalacturonasa) (Lamúa, 2000).

Las reacciones enzimáticas críticas en la síntesis de etileno son la conversión de S-adenosil-metionina descarboxilasa (SAM) en ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) catalizada por la ACC-sintasa, y la posterior oxidación de ACC que es catalizada por la ACC-oxidasa a etileno. Estudios realizados han confirmado que la formación de ACC es el paso limitante de la síntesis de etileno. La oxidación de ACC a etileno depende de la concentración de oxígeno y necesita de la integridad de la membrana, por lo que puede ser un 'punto crítico' de la inducción del 'Daño por frío', en especies sensibles a las bajas temperaturas (Lamúa, 2000).

Una vía alternativa de degradación de ACC ha sido observada en relación con la formación de malonil ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (MACC); catalizada por

la Malonil-transferasa, reacción que parece ser irreversible, como se observa en la figura 4. Durante la maduración, la concentración de MACC aumenta paralelamente con el incremento de ACC. Mientras que, la formación de MACC parece representar un mecanismo de desintoxicación, existen algunas evidencias de que el MACC no es totalmente inactivo respecto a la producción de etileno. Sin embargo, existen importantes lagunas en el entendimiento de la dinámica de la conversión de ACC en MACC (Lamúa, 2000).

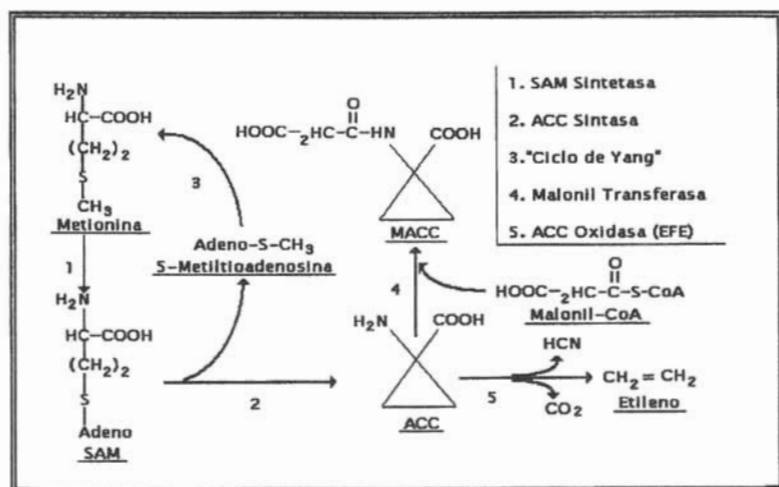


Figura 4. Biosíntesis de etileno.

Fuente: Yang y Hoffman (1984).

### 2.2.3 CAMBIOS QUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN.

Los alimentos, tanto por sus características físicas y químicas como por su composición, son sistemas muy complejos y altamente inestables (Lamúa, 2000). Los principales cambios producidos durante la maduración en la mayoría de los frutos incluyen cambios en el sabor, aroma, firmeza y color además de cambios en la composición química y en el metabolismo de los frutos como se puede observar en la figura 5.



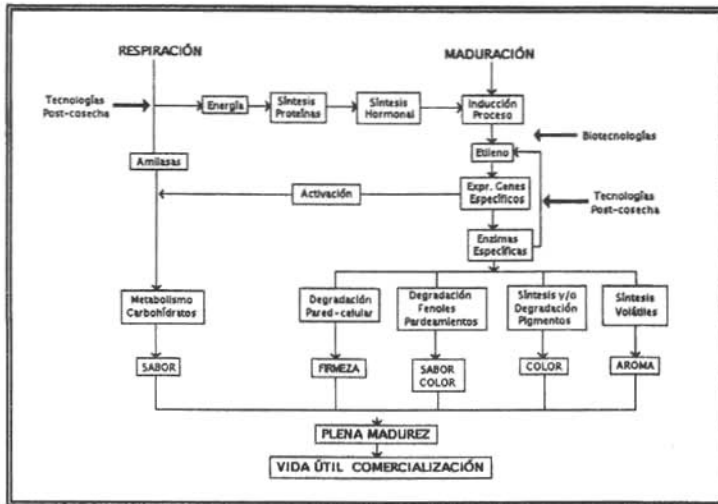


Figura 5. Principales cambios durante la maduración de frutos.

Fuente: Lamúa (2000).

**Pigmentos.** Los principales mecanismos de síntesis o degradación de compuestos coloreados durante la maduración están relacionados directamente con clorofilas, antocianinas y carotenoides. En la mayoría de los frutos la primera señal del inicio de la maduración es la desaparición del color verde, producido por la degradación de las clorofilas (Lamúa, 2000). Muchos autores han estudiado los cambios cuantitativos y cualitativos en los pigmentos de los carotenoides en mangos (Jungalwala y Cama, 1963; Jonh *et al.*, 1970; Medicott *et al.*, 1986a). Durante la maduración ocurren pérdidas substanciales del contenido de clorofila en la piel después de que la fruta comienza a ponerse suave (Medicott y Thompson, 1985).

**Azúcares.** En la mayoría de las especies la hidrólisis del almidón (polisacárido de reserva) es el primer paso en el metabolismo de los azúcares. Inmediatamente después de la recolección las enzimas responsables de la hidrólisis de almidón ( $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas) se activan posiblemente por un efecto de 'estrés' de recolección, lo que supone un rápido incremento de sustratos respiratorios (azúcares y ácidos) (Bruinsma y Paull, 1984). Sin embargo, la actividad de amilasas según avanza el proceso de maduración depende de la síntesis de etileno (Lamúa, 2000).

La acumulación o descenso de los azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa), en combinación con otros constituyentes, incide directamente sobre la calidad sensorial: sabor (relación azúcares/ácidos), color (derivados antocianidinas), y firmeza (combinación con polisacáridos estructurales de la pared celular). El contenido en sacarosa (azúcar no reductor), glucosa y fructosa (azúcares reductores), así como en azúcares totales, son índices eficaces tanto para analizar la evolución metabólica como de la calidad de los frutos (Lamúa, 2000).

La glucosa, fructosa y sacarosa constituyen la mayoría de los monosacáridos, y han sido reportados en concentraciones similares durante la maduración de los mangos (Shashirekha y Patwardhan, 1976), mientras que la sacarosa es el disacárido predominante (Krishnamurthy y Subramanyam, 1970; Selvaraj *et al.*, 1989; Kumar *et al.*, 1994).

**Pared celular.** En los frutos la solubilización de sustancias pécticas (protopectinas) tiene un gran interés tecnológico al ser responsable del ablandamiento de la pulpa. Este último es un suceso asociado a la maduración, dependiente del etileno, y de enorme importancia comercial tanto en frutos climatéricos, como no-climatéricos. Las sustancias pécticas están fundamentalmente localizadas en la pared celular y laminilla media, actuando como material de cimentación de la estructura de los tejidos. Son derivados del ácido poligalacturónico y se encuentra en forma de protopectina (insoluble), ácidos pécticos, pectinas y ácidos pectínicos (Lamúa, 2000).

En mangos, se cree que la maduración es caracterizada por cambios en el ablandamiento del tejido, se inicia en el tejido interno del mesocarpio cerca de la semilla, y va progresando hacia el exterior. Mientras que, la solubilización de la pectina en el interior y exterior del tejido del mesocarpio fue comparable, la despolimerización de la pectina comienza primero en el mesocarpio interno que en el tejido del mesocarpio externo (Lazan y Ali, 1993).

La presencia de poligalacturonasa (PG), la enzima responsable de la degradación de el enlace (1-4) de los residuos del ácido galacturónico, ha sido reportada en la madurez del mango (Abu-Sarra y Abu-Goukh, 1992; Lazan *et al.*, 1986; Lazan *et al.*, 1993). La pectinesterasa (PE), la cual cataliza la desesterificación de los grupos metilo de las

pectinas ácidas, es también detectable en los mangos maduros (Tahir y Malik, 1977; Roe y Bruemmur, 1981; Ali *et al.*, 1991; Ali *et al.*, 1995; Abu-Sarra y Abu-Goukh, 1992). Otras hidrolasas detectadas en la pared celular durante la madurez de los mangos son las celulasas (Lazan *et al.*, 1986; Abu-Sarra y Abu-Goukh, 1992),  $\beta$ -galactosidasas (Ali *et al.*, 1990; Ali *et al.*, 1995; Lazan y Ali, 1993), galactanasas (Ali *et al.*, 1990) y xilasas (Ali *et al.*, 1990).

**Compuestos volátiles.** Los compuestos volátiles más comúnmente sintetizados durante la maduración de frutos son los ésteres de alcoholes alifáticos y ácidos grasos de cadena corta. El perfil de compuestos volátiles responsables del aroma en el mango es muy complejo, por lo que definir a un solo compuesto responsable del sabor y aroma es muy difícil. Sin embargo, en estudios realizados se sugieren que algunos hidrocarburos monoterpenos cíclicos son responsables del sabor del mango, junto con ésteres, lactonas y ácidos grasos (Andrade *et al.*, 2000; Bauer, 2000; Engel y Tressel, 1983; MacLeod y De Troconis, 1982; MacLeod y Pieries, 1984; MacLeod y Snyder, 1985; Wilson *et al.*, 1990). Algunos mangos poseen un sabor parecido al durazno, que puede estar relacionado a la presencia de lactonas, las cuales son los principales contribuyentes al sabor y aroma de los duraznos (Lakshminarayana, 1980; Wilson *et al.*, 1990). Otro compuesto presente en mangos hindúes es el (Z)-ocimeno (Engel y Tressel, 1983).

**Compuestos fenólicos y enzimas oxido reductasas.** Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios (por lo que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal) que contribuyen a la astringencia, sabor y aroma de la mayoría de los frutos. Están presentes en muy pequeñas cantidades, y con gran diversidad de estructuras complejas (asociados a azúcares, ácidos metales, etc.). Esta diversidad y complejidad ha dificultado enormemente su identificación y cuantificación (Lamúa, 2000).

La composición de compuestos fenólicos depende de la especie, variedad, condiciones ecológicas y agrotécnicas de cultivo y grado de desarrollo en recolección. Los compuestos fenólicos derivados del ácido cinámico (clorogénico), y de las flavonas (catequinas y epicatequinas) están más ampliamente distribuidos en frutos que las antocianinas (color) y flavonoles (ausencia de color). Los derivados del ácido cinámico decrecen durante la maduración, aunque el contenido total del fruto aumenta en la plena madurez. La pérdida de compuestos fenólicos se atribuye a reacciones oxidativas

de la polifenol oxidasas y la peroxidasas, y a procesos de polimerización, que producen pardeamiento en frutos sobremaduros (senescentes). Condiciones de 'estrés' fisiológico y mecánico inducen la síntesis de compuestos fenólicos, por oxidación de difenoles, y la producción de polímeros y lignificación (Rhodes *et al.*, 1981).

El descenso de compuestos derivados del cinámico durante la maduración tiene una gran importancia en la pérdida de astringencia (taninos) y en que el fruto alcance el óptimo de calidad de consumo (Lamúa, 2000).

Los compuestos fenólicos también intervienen en el sabor de los frutos; están ampliamente distribuidos y su principal función es la de participar en los mecanismos de defensa de las plantas. También son indicadores de la maduración del fruto responsable del amargor y la astringencia de muchos frutos y forman parte de los pigmentos (Ramos, 1999).

En los frutos, los principales compuestos fenólicos son los derivados del ácido cinámico, los flavanos, antocianos y antocianidinas y los flavonoles y flavono glicosídicos, siendo el ácido clorogénico el derivado del ácido cinámico más importante y el ácido *p*-cumarilquímico el segundo éster de importancia. La concentración de los compuestos fenólicos disminuye durante la maduración del fruto y dentro de una misma especie la concentración puede variar, ampliamente, en dependencia de factores tales como la variedad y las condiciones ambientales (Ramos, 1999).

Durante la maduración de los frutos aumenta la condensación de los compuestos fenólicos en forma continua y paralelamente a ello, disminuye la astringencia. Se ha considerado que este comportamiento sea debido a la menor solubilidad que poseen los flavonoides cuando están altamente condensados y estrechamente enlazados a otros componentes celulares como sucede durante la maduración (Ramos, 1999).

Las enzimas son proteínas altamente especializadas que actúan como catalizadores biológicos. Pueden ser obtenidas de fuentes naturales de origen vegetal, animal o microbiana (Universidad de Tolima, 2002). La polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD) se cree que son ubicuas en el reino de las plantas. Han sido descubiertas en muchas frutas conocidas y vegetales. Para el proceso de frutas y vegetales, las acciones de PPO

y POD son primariamente unidas al pardeamiento enzimático en fresco y generación de sabores en enlatados o en productos hortícolas congelados, respectivamente (Vámos-Vigyázó, 1981).

La peroxidasa (EC 1.11.1.7) es una de las enzimas que controlan el crecimiento fisiológico de las plantas, su diferenciación y desarrollo. Es bien conocido que esta enzima participa en la construcción y lignificación de la pared celular, la biosíntesis del etileno a partir del ácido 1-aminociclopropano carboxílico y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), la regulación de niveles de auxina, la protección contra el deterioro de tejidos e infección por microorganismos patógenos, la oxidación de ácido indolacético, etc. (Krylov y Dunford, 1996; Farrell, *et al.*, 1989; Wakamatsu, y Takahama, 1993; citados en Sakharov, *et al.*, 1999).

La polifenol oxidasa (EC 1.10.3.1) es distribuida ampliamente en la naturaleza, sin embargo la distribución de la misma en las diferentes partes de frutas y vegetales puede ser considerablemente diferente, el radio de partícula y enzimas solubles varía con la madurez (Vámos-Vigyázó, 1981).

El oscurecimiento enzimático es una consecuencia indirecta de la acción de la PPO. Los productos primarios de la reacción oxidativa catalizada por la enzima, las  $o$ -quinonas, reaccionan uno a uno con polímeros de alto peso molecular, formando complejos macromoleculares con aminoácidos o proteínas y oxidan los compuestos de potencial oxido-reducción inferiores (Mathew y Parpia, 1971).

**Ácidos orgánicos.** En el mango el contenido de ácidos orgánicos aumenta alcanzando un máximo en la plena madurez. Es por tanto evidente que el balance entre síntesis y consumo de ácidos orgánicos durante la maduración depende directamente de las características metabólicas de las especies. Los principales ácidos orgánicos presentes en el mango son: el cítrico y el málico (Matoo *et al.*, 1975).

La modificación del contenido de los ácidos orgánicos es de gran importancia a nivel bioquímico, ya que el pH condiciona la actividad de un gran número de enzimas responsables de los sucesos claves (ablandamiento, color, etc.), asociados a la

maduración. Asimismo, el contenido de los ácidos orgánicos determina la acidez (sabor), y la sensibilidad del fruto al ataque fúngico (Lamúa, 2000).

En general, los niveles de citrato y succinato disminuyen gradualmente durante la maduración, mientras que el malato muestra cambios diferentes dependiendo de la variedad (Lizada, 1993).

**Lípidos.** El contenido total de lípidos en mangos aumenta durante la maduración (Bandyopadhyay y Gholap, 1973a; Bandyopadhyay y Gholap, 1973b; Selvaraj *et al.*, 1989). Hay un aumento en la actividad de la ATP: citrato oxaloacético liasa (enzima que rompe el citrato) durante la maduración y se cree que la acetil-CoA y ácido oxaloacético (OAA) formado por la acción de la enzima sobre el citrato, puede contribuir con los procesos de síntesis que se llevan a cabo durante la maduración. Los productos degradados de los lípidos naturales pueden regular la actividad de la enzima *in vivo* (Mattoo y Modi, 1970).

### 2.3 DESÓRDENES FISIOLÓGICOS.

Las frutas son susceptibles a daños fisiológicos que se vuelven aparentes durante la maduración y traen como resultado una pérdida de calidad. Estos desórdenes pueden deberse a deficiencias nutricionales, condiciones climáticas externas y/o condiciones de almacenamiento inadecuadas (Mitra y Baldwin, 1997).

Los principales desórdenes fisiológicos durante la postcosecha se presentan como resultado de la exposición del fruto a ciertas condiciones durante su almacenamiento. Algunos de los ejemplos de desórdenes inducidos es el daño por frío después de la exposición del fruto a bajas temperaturas y el daño por CO<sub>2</sub> que provoca un desajuste metabólico del fruto después de su almacenamiento en atmósferas con alta concentración con este gas. A continuación se describen el principal daño fisiológico que sufre el mango y que es responsable de grandes pérdidas del producto durante el almacenamiento postcosecha (Correa, 2002).

### 2.3.1 DAÑO POR FRÍO ("CHILLING INJURY").

El daño por frío es un desorden fisiológico que se produce cuando se exponen los tejidos vegetales a una temperatura inferior a un umbral crítico, pero por encima del punto de congelación (Tirill y Bourgeois, 2002).

Las bajas temperaturas son un medio muy eficaz para controlar los procesos fisiológicos post-recolección, sin embargo existen determinadas especies que su metabolismo sufre alteraciones irreversibles a temperaturas próximas al punto de congelación (Lamúa, 2000). La respuesta fisiológica a las bajas temperaturas depende de las propias características de la especie. Las especies más sensibles a los daños por bajas temperaturas son las originarias de climas tropicales y subtropicales. En las especies tropicales y subtropicales temperaturas inferiores a 10-12°C inducen un cambio de fase de los lípidos de la membrana celular y se alteran irreversiblemente los procesos fisiológicos post-recolección, y en especial el proceso de maduración de frutos (Lamúa, 2000).

Uno de los métodos más reconocidos para la conservación de frutas y hortalizas es el empleo de almacenamiento por frío, pero debido a la naturaleza tropical del mango, éste es susceptible al frío cuando son almacenados por debajo de 10°C, dependiendo de la variedad (Mc Collum *et al.*, 1993; Pernezny y Simone, 2000; Wang, 1989). Evitar la exposición a bajas temperaturas es la forma más segura de prevenir el desarrollo del daño por frío, sin embargo, el mango es muy perecedero y se deteriora rápidamente a temperaturas ambiente (US Patent, 1990).

En la figura 6 se muestra la respuesta fisiológica y bioquímica de los frutos sensibles a los daños por frío. Los frutos tropicales y subtropicales al ser sometidos a estrés por frío presentan como respuesta primaria cambios físicos en la membrana, de una estructura líquida-cristalina y flexible cambia a una de gel-sólida, esto provoca una respuesta secundaria caracterizada por un desacoplamiento metabólico, pérdida de compartimentación de la célula, aumento de la energía de activación, aumento en la permeabilidad de la membrana y en la salida de iones. Si la exposición al frío se prolonga, entonces el daño será irreversible y se manifestarán los siguientes síntomas: decoloración y excoriaciones de la piel, madurez no homogénea, poco desarrollo del

color y el sabor, aumento de su susceptibilidad al ataque de hongos y por lo tanto su pérdida de calidad. Los cambios ultra-estructurales incluyen: la desorganización de la matriz y cresta de las mitocondrias, distensión del retículo endoplásmico, pérdida de ribosomas, agrupamiento de cromatina del núcleo y alteración de los protoplastidos (Wang, 1989).

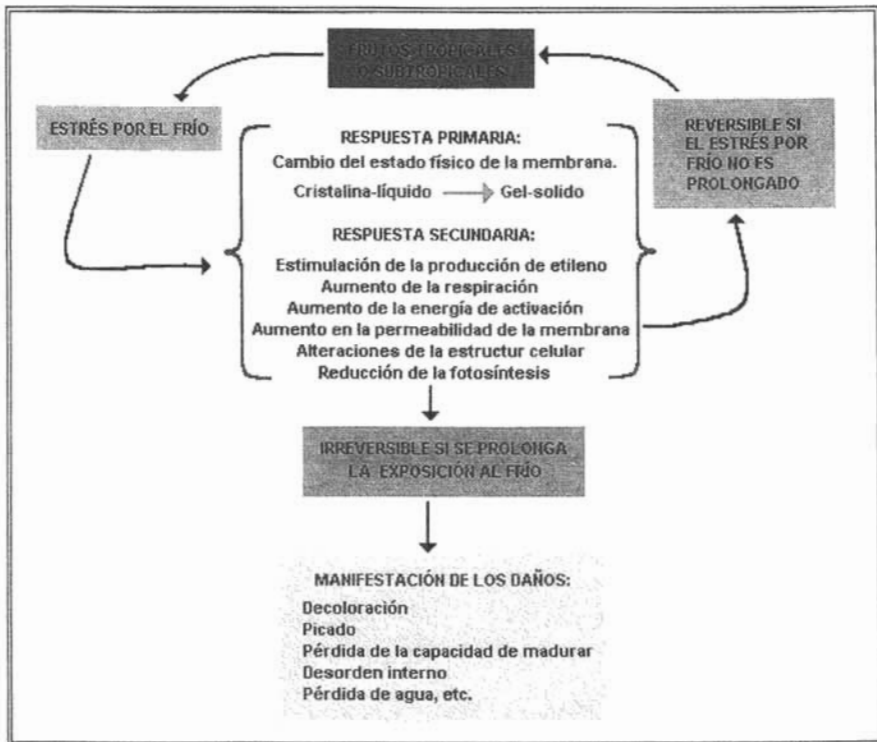


Figura 6. Respuesta fisiológica y bioquímica de frutos sensibles al frío.

Fuente: Wang y Adams (1980).

Los factores que afectan la aparición de los daños por frío son: la variedad, estado de madurez, variedad del fruto, el estado de desarrollo, tipo de tejido, composición química, humedad relativa y temperatura de almacenamiento (Kader, 2002; Mc Collum *et al.*, 1993; Wang, 1989).

El almacenamiento con temperaturas bajas retrasa la actividad metabólica del mango como las reacciones bioquímicas asociadas con la respiración y la producción de



etileno. El desarrollo de los daños por frío en la piel y en la pulpa del mango, está marcado por un descenso significativo en el contenido de azúcares solubles (principalmente la sacarosa) y una degradación mínima del almidón; además, la actividad de la invertasa disminuye, mientras que la de la amilasa aumenta (Chatpar *et al.*, 1971; Farooqui *et al.*, 1985; Wang, 1989). La actividad de las enzimas peroxidasa y celulasa en la piel del fruto aumentan mucho más durante el desarrollo del daño por frío, en comparación con frutos que no fueron sometidos a bajas temperaturas. Esto sugiere que el aumento en la actividad de las dos enzimas es parte del síndrome de daño por frío (Zauberman *et al.*, 1988).

La alteración de los procesos fisiológicos es inducida por la relación inadecuada temperatura-tiempo de tratamiento, e implica una pérdida irreversible de la calidad comercial. Los síntomas del daño de frío dependen directamente de la especie e incluso de la variedad, y de la intensidad de la alteración. Cuando el daño es intenso en frutos climatéricos el proceso de maduración se desarrolla de forma incompleta y el fruto no es capaz de alcanzar el óptimo de consumo (Wang, 1990).

Las modificaciones de la calidad producidas por el "daño por frío" son especialmente intensas cuando los frutos son transferidos a temperatura ambiente. Asimismo, el "daño por frío" aumenta la sensibilidad al desarrollo fúngico. Es por tanto evidente que para optimizar la conservación de especies sensibles al "daño por frío" debe establecerse una relación adecuada entre especie, variedad y grado de madurez en recolección, y temperatura-tiempo de tratamiento (Lamúa, 2000).

### **2.3.2 PREVENCIÓN DEL "DAÑO POR FRÍO".**

Se ha comprobado en determinadas especies muy sensibles a las bajas temperaturas que el "Daño por frío" (DF) puede ser controlado mediante un grado adecuado de madurez en recolección (los frutos precoces son especialmente sensibles), y mediante tratamientos: humedad relativa elevada durante el almacenamiento, uso de ceras, atmósferas controladas, tratamientos con calcio o potasio, térmicos (de 'choque' o 'intermitente'), atmósferas modificadas (Lamúa, 2000).

-*Tratamientos químicos*, con calcio o fitoreguladores que retardan la entrada en fase de senescencia. Los tratamientos químicos y en especial los fungicidas e insecticidas son potencialmente contaminantes (Lamúa, 2000).

-*Choques térmicos*, tratamiento con elevadas temperaturas (40-50°C) durante corto tiempo se han mostrado eficaces en controlar el desarrollo de hongos y parásitos (mosca del mediterráneo), retardar el ablandamiento, e incrementar la tolerancia a las bajas temperaturas (Paull, 1990b). Es una tecnología que ha recuperado su vigencia por la tendencia actual de aplicar tecnologías post-cosecha sostenibles y no contaminantes.

-*Bajas presiones (hipobárica)*, la reducción de la presión (50-100 mm de Hg) retarda los procesos fisiológicos post-recolección. Su efecto sobre la maduración es fundamentalmente debido al descenso del nivel de O<sub>2</sub> y a la eliminación del etileno (Salunkhe y Desai, 1984).

-*Atmósferas modificadas*, los filmes poliméricos, con permeabilidades al CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y vapor de agua específicas permiten establecer en el interior del envase atmósferas empobrecidas en O<sub>2</sub> y enriquecidas en CO<sub>2</sub>, por la propia respiración del producto, así como elevadas humedades relativas. Estas condiciones retardan el desarrollo fisiológico y reducen drásticamente las pérdidas de peso (O'Beirne, 1990). Aun cuando no hay control de la composición de la atmósfera, si la elección del film es adecuada y no hay fluctuaciones de temperatura la composición de la atmósfera se estabiliza.

-*Otras tecnologías*: ozono, SO<sub>2</sub>, irradiación, etc; son tratamientos que se aplican en casos específicos para el control, fundamentalmente, de insectos, bacterias y hongos (Lamúa, 2000).

### 2.3.3 TRATAMIENTOS TÉRMICOS.

Los tratamientos de frutos a altas temperaturas se han utilizado desde hace mucho tiempo para controlar enfermedades fúngicas y plagas. Sin embargo, los resultados que se han obtenido en frutos sensibles al frío los hacen cada vez un medio más útil para la reducción de estos desórdenes fisiológicos (Trejo, 2000).

El calor en los tratamientos térmicos puede aplicarse de diversas maneras: con agua caliente, con aire caliente saturado de humedad, con aire caliente seco, radiación infrarroja o con radiación microondas. Todos estos métodos han sido investigados experimentalmente, pero en la práctica se utilizan principalmente el agua y el aire caliente. Según la modalidad con la que se aplique el calor tendremos tratamientos de acondicionamiento o curado, tratamientos de calor intermitente, fluctuaciones de temperatura y los enfriamientos intermitentes (Artés, 1995a; Artés, 1995b). Sin embargo, los más utilizados son los tratamientos de acondicionamiento y los de calor intermitente.

Los tratamientos de acondicionamiento consisten en retrasar un cierto tiempo la aplicación de la refrigeración, o se recurre a una breve exposición de los frutos a una temperatura relativamente moderada (15 a 25°C) e incluso elevada (35 a 60°C) antes de la refrigeración (Wang, 1989).

Estos tratamientos fueron eficaces para reducir los daños por el frío en toronjas (McDonald *et al.*, 1993; El-Shiekh, 1996), mangos (McCollum *et al.*, 1993), jitomates (Lurie *et al.*, 1993), pepino (McCollum y McDonald, 1993; Laamin *et al.*, 1998), pimienta dulce (Mencarelli *et al.*, 1993), mandarina (González-Aguilar *et al.*, 1998), calabaza (Kramer y Wang, 1990), peras (Schirra *et al.*, 1997), guayabas (McGuire, 1997), persimon (Woolf *et al.*, 1997; Lay-Yee *et al.*, 1997), naranjas (Schirra *et al.*, 1998), y aguacate (Woolf *et al.*, 1995).

Los tratamientos de calor intermitente consisten en la interrupción del almacenamiento a bajas temperaturas con uno ó más periodos cortos de aplicación a temperaturas ligeramente superiores a la temperatura crítica lo cual, ayuda a prevenir del daño por el frío (Wang, 1989).

La elevación de la temperatura por encima del punto crítico puede permitir que el tejido se recupere de la condición de estrés o acelere el proceso degradativo, dependiendo de la etapa en la cual, se encuentre el daño por el frío. Si se encuentra en la etapa reversible, al elevar la temperatura se induce una mayor actividad metabólica que permite al tejido metabolizar el exceso de intermediarios acumulados durante el proceso de estrés o puede ayudar a sintetizar compuestos que fueron gastados o no fueron capaces de sintetizarse durante este periodo. El cambio de temperatura de frío a

caliente y de caliente a frío induce reajustes rápidos al metabolismo que puede incluir un aumento en la síntesis de ácidos grasos insaturados. Cuando el daño por el frío se encuentra en la etapa irreversible el cambio de temperaturas provoca un aumento en el proceso degradativo y se acelera el desarrollo de los síntomas de los daños. Por lo tanto, este tratamiento será efectivo antes de que el daño sea irreversible. Si este tipo de tratamiento se utiliza por periodos largos puede hacer que el tejido se vuelva blando y vulnerable al ataque de hongos (Wang, 1989).

Tratamientos de calor intermitente fueron eficaces para reducir los daños por el frío en cítricos (Arras y Usai, 1992), durazno (Lill, 1985; Ben-Arie *et al.*, 1970; Fernández-Trujillo y Artés, 1997), pepino (Cabrera y Salveit, 1990), granada (Artés *et al.*, 1998) y jitomate (Artés *et al.*, 1993; Hakim *et al.*, 1997).

Con la aplicación de estos tratamientos no solamente se reducen los daños por el frío, sino también, se consigue reducir la tasa respiratoria y la emisión de etileno, frenando o inhibiendo la maduración y retrasando la senescencia.

El mecanismo por el cual, el calentamiento provoca la inhibición de la síntesis de etileno y de las enzimas que degradan la pared celular, puede estar vinculado a cambios en la síntesis de proteínas. Temperaturas del orden de 40°C causan la inhibición de la síntesis normal de proteínas y además se ha comprobado que un choque térmico puede producir una inducción rápida de un pequeño grupo de proteínas denominadas de choque térmico (Trejo, 2000).

El modo de acción de los tratamientos térmicos en la reducción de los síntomas de los daños por el frío no está completamente establecido. Una posible explicación del efecto de los precalentamientos puede ser el provocar un ligero envejecimiento de los frutos climatéricos, lo que mejoraría su aptitud para soportar las bajas temperaturas (Marcellín y Ulrich, 1983). Otra posible hipótesis es que el mecanismo por el cual, el preacondicionamiento térmico inhibe los daños por el frío está ligado con la inducción de la biosíntesis de poliaminas.

## **2.4 PAPEL Y FUNCIÓN DE POLIAMINAS EN PRODUCTOS VEGETALES.**

### **2.4.1 DEFINICIÓN Y FUNCIÓN DE POLIAMINAS.**

Las poliaminas son compuestos nitrogenados alifáticos de bajo peso molecular y de naturaleza policatiónica, que sirven de protección a la membrana celular (Tiburcio *et al.*, 1993).

Recientemente se ha demostrado que las poliaminas, putrescina, espermidina y espermina participan en numerosos procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas, entre los que se incluyen la división celular, la diferenciación de hojas, flores y raíces, el desarrollo de la flor y fruto, la senescencia de órganos, etc (Evans y Malmberg, 1989; Bagni, 1989; Galston y Kaur-Sawhney, 1990; Tiburcio *et al.*, 1990).

Muchas de estas funciones son similares a las ejercidas por las hormonas vegetales auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno. Además, se poseen también datos sobre la existencia de diversas interacciones entre poliaminas y fitohormonas en algunos sistemas vegetales (Altman, 1989).

A pesar de todo ello, algunos fisiólogos vegetales tienen aún ciertas dudas para reconocer a las poliaminas como un nuevo grupo de sustancias reguladoras del crecimiento, ya que consideran que las poliaminas ejercen sus efectos a concentraciones más altas que cuando se trata de fitohormonas, y el transporte de poliaminas a larga distancia a través de la planta es todavía objeto de cierta controversia (Tiburcio *et al.*, 1990).

### **2.4.2 PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE POLIAMINAS.**

Se han descubierto otras di- y poliaminas, tanto en organismos procariotas como en eucariotas. La diamina putrescina y la triamina espermidina se encuentran prácticamente en todos los organismos vivos, por lo que podría decirse que son biológicamente ubicuas (Tiburcio *et al.*, 1993).

Los organismos procariotas poseen una mayor concentración de putrescina que de espermidina y carecen de espermina, mientras que los eucariotas poseen poca putrescina y concentraciones altas de espermidina y espermina (Tiburcio *et al.*, 1993).

La diamina cadaverina, que normalmente procede de la descarboxilación del aminoácido lisina, tiene una presencia más limitada. En los organismos vivos las poliaminas no sólo se encuentran en forma libre, si no también conjugadas, como amidas, unidas covalentemente a macromoléculas (proteínas o ácidos nucleicos) o a componentes celulares solubles, formando compuestos acetilados en las células animales, o bien cinamoil derivados en las células vegetales (Tiburcio *et al.*, 1993).

En las plantas superiores encontramos niveles altos de poliaminas en tejidos meristemáticos y en tejidos en crecimiento activo, mientras que los tejidos senescentes se caracterizan poseer niveles bajos de poliaminas. La diamina cadaverina esta mucho menos distribuida en el reino vegetal que la diamina putrescina. En las plantas superiores, la distribución de cadaverina también es restringida (Tiburcio *et al.*, 1993).

El diaminopropano es un producto de oxidación de espermidina y espermina, que se encuentra ampliamente distribuido en la mayoría de las algas eucariotas y líquenes, en plantas superiores se ha detectado en semillas de guisante, hojas de cereales y algunas especies de *Amaranthus* (Tiburcio *et al.*, 1990).

### **2.4.3 BIOSÍNTESIS DE POLIAMINAS.**

#### **2.4.3.1 SÍNTESIS DE PUTRESCINA.**

En el reino vegetal la mayoría de los estudios acerca del metabolismo de las poliaminas se ha realizado en Angiospermas. Sin embargo, generalmente se asume que, por los menos, las plantas superiores (Slocum *et al.*, 1984; Smith, 1985a; Tiburcio *et al.*, 1990) comparten con las bacterias la existencia de dos vías alternativas para la síntesis de putrescina; una vía directa, catalizada por ornitina descarboxilasa (ODC) y otra vía indirecta, a través de una serie de intermediarios, catalizada por arginina descarboxilasa (ADC) (Tiburcio *et al.*, 1993). En la Figura 7 se muestra la biosíntesis de la putrescina, la descarboxilación de arginina, catalizada por ADC, produce agmatina (Agm) que,

mediante la acción de la enzima agmatina iminohidrolasa (AIH) es hidrolizada y forma N-carbamoylputrescina (NCP). A partir de aquí pueden describirse dos vías, una de ellas, la más frecuente en la que NCP es metabolizada y produce  $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$ , además de putrescina, mediante la acción de la enzima NCP-amidohidrolasa (NCP-asa). La otra vía alternativa para la síntesis de putrescina es mediante una enzima multifuncional (Put sintasa) según la cual Agm se convierte en NCP mediante el componente agmatina iminohidrolasa (AIH) de la enzima multifuncional, y la NCP se convierte luego en putrescina y citrulina por la interacción de las actividades putrescina transcarbamoilasa (PTC) y ornitina transcarbamoilasa (OTC), componentes ambas de la putrescina sintasa (Srivenugopal y Adiga, 1981; Tiburcio *et al.*, 1993).

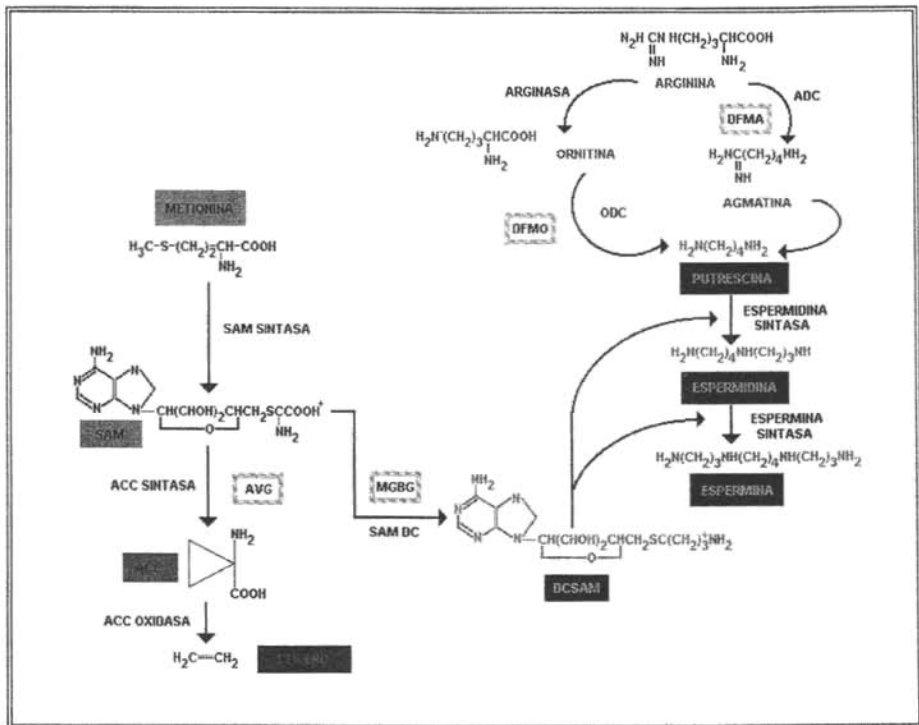


Figura 7. Ruta de la biosíntesis del etileno y las poliaminas.

Abreviaturas utilizadas: SAM, S-adenilmetionina; ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico; AVG, aminoetoxivinilglicina; MGBG, metilgloxal-bis-guanil hidrazona; SAMDC, S-adenilmetionina descarboxilasa; ADC, Arginina descarboxilasa; DFMA, DL-alfa-difluorometilarginina; ODC, ornitina descarboxilasa; DFMO, DL-alfa-difluorometilornitina.

Fuente: Kumar *et al.* (1997).

Actualmente se considera que tanto ADC como ODC pueden ser activas en tejidos vegetales y de su contribución relativa en la síntesis de putrescina depende de el tipo de tejido y del estado de desarrollo. Se ha sugerido, que la vía ODC participa en la división celular en tejidos en crecimiento activo, mientras que la vía ADC está involucrada en los procesos de extensión celular, procesos de estrés, y procesos metabólicos secundarios como la biosíntesis de alcaloides (Tiburcio *et al.*, 1993).

#### 2.4.3.2 SÍNTESIS DE ESPERMIDINA Y ESPERMINA.

La biosíntesis de espermidina en las plantas ha sido mucho menos estudiada que en otros organismos. A pesar de esto hay pruebas (Slocum *et al.*, 1984; Tiburcio *et al.*, 1990) de que en las plantas superiores espermidina y espermina son sintetizadas generalmente a partir de putrescina y metionina, como ocurre también en bacterias y levaduras. Para que la putrescina se convierta en espermidina, es necesario añadir un grupo propilamino que procede originariamente del aminoácido metionina, en el cual primero es convertido en S-adenosilmetionina (SAM) y después descarboxilado, en reacciones catalizadas por las enzimas SAM-sintasa y SAM-descarboxilasa, respectivamente. El SAM descarboxilado (dSAM) obtenido será el donador de los grupos propilamino necesarios para la síntesis de espermidina y espermina, como se muestra en la Figura 7 (Tiburcio *et al.*, 1990).

No se conoce otra reacción fisiológica en la que el SAM descarboxilado pueda actuar. Su producción es regulada y sus niveles se mantienen bajos, constituyendo, por lo tanto el factor limitante en la síntesis de espermidina y espermina (Tiburcio *et al.*, 1990). La transferencia del grupo propilamino del dSAM a putrescina en la formación de la espermidina, está catalizada por la enzima espermidina sintasa. La transferencia de otro grupo propilamino (procedente del dSAM) a la espermidina para dar espermina, se realiza mediante una segunda aminopropil transferasa, la espermina sintasa (Tiburcio *et al.*, 1993).

Algo que sucede en las plantas superiores es que el SAM puede también metabolizarse para formar etileno vía ácido 1-aminopropil-1-carboxílico (ACC). El etileno es una hormona característica de la senescencia mientras que las poliaminas tienen actividad antisenescente; Por lo tanto, SAM, además de participar en numerosas reacciones de



metilación, representa un punto de regulación fundamental en los procesos de senescencia vegetal (Tiburcio *et al.*, 1993).

#### 2.4.4 DEGRADACIÓN DE POLIAMINAS.

Los niveles intracelulares de poliaminas están regulados principalmente por procesos anabólicos, pero también intervienen procesos catabólicos como se indica en la Figura 8. Las únicas vías catabólicas que se conocen para las poliaminas en las plantas superiores son su oxidación, acompañada de la formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Smith, 1985a; Smith, 1985b).

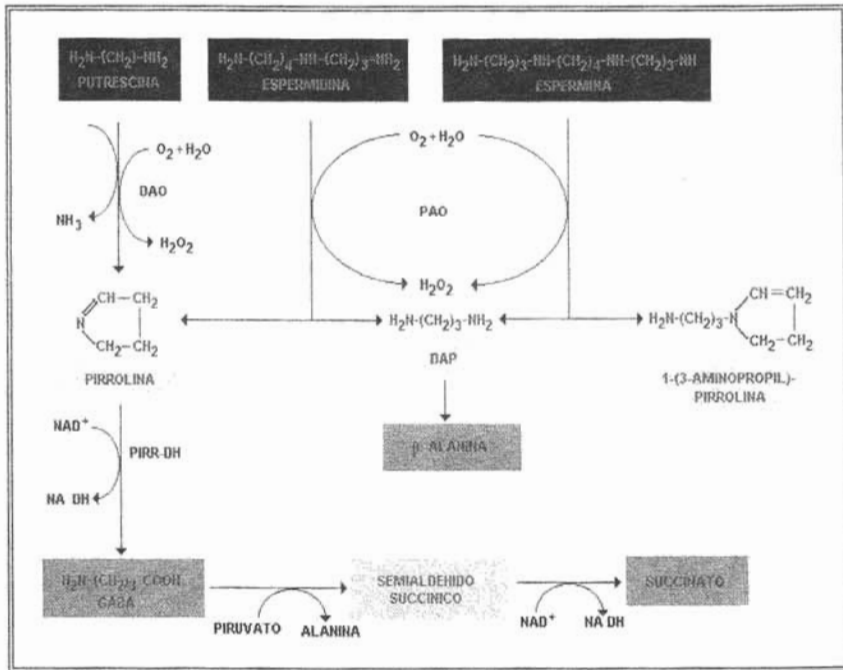


Figura 8. Degradación de poliaminas.

Abreviaturas utilizadas: DAP, diaminopropano; PAO, poliamina oxidasa; GABA, ácido γ-amino butírico; PIRR-DH, pirrolina deshidrogenasa; DAO, diaminas oxidadas.

Fuente: Tiburcio *et al.* [1993].

La putrescina puede ser oxidada para formar pirrolina en reacción catalizada por la diamina oxidasa, la espermidina y la espermina pueden oxidarse formando 1,3, diaminopropano (DAP) y pirrolina ó 1-(3-aminopropil)-pirrolina, respectivamente (Smith *et al.*, 1986), en reacciones que están catalizadas por las enzimas poliamina oxidasa (PAO). El DAP puede convertirse en  $\beta$ -alanina, mientras que la pirrolina puede ser metabolizada dando ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA) en reacción catalizada por la pirrolina deshidrogenasa (PIRR-DH) (Flores y Filner, 1985b). El GABA, posteriormente, es transaminado y oxidado a ácido succínico, que se incorpora al ciclo de Krebs. Esta vía asegura, por tanto, el reciclaje de carbono y nitrógeno a partir de putrescina y espermidina (Flores y Filner, 1985a).

Las diaminas oxidasas (DAO) que son las enzimas que oxidan las diaminas, atacan solamente a grupos amino primarios y han sido designadas como diamina oxidasas porque actúan principalmente sobre la putrescina, como sustrato. Sin embargo, las DAO pueden atacar también a los grupos amino primarios de espermidina y espermina (Tiburcio *et al.*, 1993).

Se ha sugerido que la putrescina, la espermidina y la espermina pueden actuar como activadores de la DAO, así como el ácido fítico, siendo el oxígeno esencial para la inducción de la actividad DAO. Debido a su dependencia del cobre, las DAO son inhibidas por una amplia variedad de agentes quelantes y por compuestos que poseen grupos carbonilo, especialmente la hidrazina (Tiburcio *et al.*, 1990).

A diferencia de la enzima DAO, en las gramíneas se ha demostrado la existencia de una enzima específica que actúa oxidando las poliaminas sin actuar sobre las diaminas (Smith, 1985b). Esta enzima solo ataca a grupos amino secundarios y ha sido denominada PAO, ya que la espermidina y la espermina son los únicos sustratos sobre los que actúa (Tiburcio *et al.*, 1993).

#### **2.4.5 TRANSPORTE DE POLIAMINAS.**

Normalmente, las células pueden sintetizar poliaminas, pero también disponen de mecanismos para la absorción de poliaminas externas. El transporte de las poliaminas se

realiza por un mecanismo activo, fuertemente estimulado por auxinas, y la mayoría de las poliaminas absorbidas se almacenan en las vacuolas (Bagni y Torrighani, 1992).

## **2.4.6 METABOLISMO SECUNDARIO DE LAS POLIAMINAS.**

### **2.4.6.1 POLIAMINAS CONJUGADAS.**

Las poliaminas se encuentran presentes en la naturaleza no sólo como bases libres si no también en forma conjugada. En las plantas, las amidas del ácido cinámico son las poliaminas conjugadas más comunes, pero también se pueden encontrar unidas a proteínas o como parte de alcaloides macrocíclicos (Tiburcio *et al.*, 1993).

En algunas plantas putrescina, agmatina, espermidina y espermina pueden unirse a una o dos moléculas de ácido cumárico, caféico o ferúlico, formando hidroxicinamoilamidas. Se sabe relativamente poco acerca de la biosíntesis y la significación metabólica de estos compuestos. La biosíntesis de los ácidos hidroxicinámicos se realiza según la ruta general biosintética de fenilpropanoides, que se inicia mediante la acción de la enzima fenilalanina amonio-licasa (PAL), formándose luego los ácidos 4-cumárico, caféico y ferúlico sucesivamente (Tiburcio *et al.*, 1993).

Acerca de la importancia metabólica de estos compuestos, se ha sugerido que podrían actuar como reservorio de poliaminas, y que más tarde serían liberadas, en su forma libre, para realizar sus funciones durante el crecimiento (Martin-Tanguy, 1985); Sin embargo, tampoco se puede descartar que estos compuestos posean por sí mismos una intrínseca función metabólica, ya que podrían actuar como substratos en reacciones catabólicas (Flores y Filner, 1985b) o bien, como precursores de los alcaloides derivados de putrescina (Tiburcio *et al.*, 1985).

## **2.4.7 FUNCIÓN FISIOLÓGICA DE LAS POLIAMINAS.**

Existen muchas pruebas de que el metabolismo de las poliaminas en células animales está regulado *in vivo* por hormonas u otros efectos positivos o negativos (Tabor y Tabor, 1984). En lo que a plantas se refiere, desde que se conoce el hecho de que explantos de tubérculos en reposo pueden crecer en cultivo de tejidos mediante la adición de ácido

indol-acético o poliaminas (Bagni, 1989). Numerosas investigaciones han demostrado que la administración de cualquiera de las hormonas estimulantes del crecimiento (auxinas, giberelinas o citoquininas) a tejidos específicos da como resultado un incremento de los niveles de poliaminas y de sus enzimas biosintéticas (Galston, 1983; Slocum *et al.*, 1984; Smith, 1985a; Altman, 1989).

**Pollaminas y factores ambientales.** El crecimiento y desarrollo de las plantas está bajo el control de ciclos diurnos de luz y temperatura, y dependen también de los ritmos endógenos circadianos. Puesto que las poliaminas pueden actuar aparentemente como moduladoras del crecimiento y desarrollo, no es sorprendente que algunos de estos factores también regulen su metabolismo. Se ha demostrado que la luz regula el metabolismo de las poliaminas en diferentes plantas y órganos a través de la enzima ADC (Slocum *et al.*, 1984; Tiburcio *et al.*, 1990).

**Pollaminas y estrés.** Desde el descubrimiento en la década de los años 50, de que los niveles de putrescina aumentan en plantas sometidas a condiciones de deficiencia de  $K^+$ , se ha observado posteriormente que otros tipos de estrés como el osmótico, el ácido, las altas concentraciones en  $NH_4^+$ , la exposición a contaminantes atmosféricos, tales como  $SO_2$  ó  $Cd^2$ , y las bajas temperaturas producen también el mismo fenómeno (Flores, 1990; Tiburcio *et al.*, 1990). Se ha demostrado que la regulación del metabolismo de las poliaminas por estrés se realiza principalmente a nivel de la enzima ADC (Tiburcio *et al.*, 1993).

**Pollaminas y daño por frío.** Se ha observado una acumulación de poliaminas como respuesta de los frutos a varios tipos de estrés. El tipo de estrés más estudiado es el daño por frío ('Chilling injury'). Todavía no se ha esclarecido si los cambios en las poliaminas son los responsables del estrés o si son un mecanismo de defensa frente a éste (Carbonell-Barranchina *et al.*, 2000).

Se cree que la espermidina y la espermina pueden ser capaces de proteger a la membrana durante el estrés, pero estas no se acumulan durante este proceso, en contraste la putrescina se acumula en la mayoría de los casos. Estos cambios principalmente son de putrescina y están asociados al sistema ADC. La razón de este

umento no es conocida y muchos investigadores han intentado esclarecer este fenómeno (Ormrod y Beckerson, 1986; Kramer y Wang, 1989; Kramer *et al.*, 1991).

Existen diversos trabajos donde se demuestra una relación entre el aumento de poliaminas y su respuesta al estrés por el frío en algunos frutos, por ejemplo en cítricos (McDonald y Kushad, 1986); calabacín (Wang y Ji, 1988; Kramer y Wang, 1990); y chirimoyas (Escribano y Merodio, 1994). Y algunos otros que no encuentran relación entre los cambios en los niveles de poliaminas y los síntomas de los daños por frío, como son diferentes variedades de cítricos (Yuen y Tridjaja, 1995); plátanos (Takeda *et al.*, 1997); así como también se ha encontrado acumulación de espermidina en estudios con melocotón (Valero *et al.*, 1997).

**Poliaminas y senescencia.** La aplicación exógena de poliaminas produce una inhibición o retardo de procesos de senescencia en plantas, por ejemplo avena, que se ponen de manifiesto a través de varios cambios metabólicos que incluyen un aumento inmediato de la actividad ribonucleasa, seguido por un incremento de la actividad proteasa y por una pérdida gradual de clorofila a partir de las 24 horas de incubación. De entre las poliaminas aplicadas, la espermina es la más activa seguida por la espermidina, la putrescina y la cadaverina. El tratamiento con espermina es también más eficaz que tratamientos similares con compuestos antisenescentes conocidos, tales como la quinolina y la cicloheximida (Slocum *et al.*, 1984).

Aunque hay resultados que indican que las poliaminas son agentes antisenescentes potentes, hay que ser precavido sobre todo cuando se trabaja con compuestos aplicados exógenos, ya que podrían producir efectos inespecíficos. Por ejemplo, las poliaminas aplicadas de forma exógena, de forma similar a lo que ocurre con el  $Ca^{++}$ , pueden asociarse a los lípidos de membrana produciendo una rigidificación de la misma. Este podría ser un mecanismo alternativo que cuestionaría muchas de las interpretaciones relacionadas con los efectos fisiológicos de las poliaminas endógenas durante la senescencia (Roberts *et al.*, 1986). Las poliaminas aplicadas exógenamente son capaces de unirse a varias moléculas cargadas negativamente: proteínas y fosfolípidos o las proteínas de las membranas (Tassoni *et al.*, 1996). Su principal punto de unión son las sustancias pécticas de la pared celular (Messiaen *et al.*, 1997), donde ocasionan cambios significativos en su estabilidad y fisiología. Esta capacidad de unirse

a otras moléculas se debe a su naturaleza policationica y a su pH fisiológico. Las moléculas a las que se unen las poliaminas pueden modular algunos procesos que afectan la fisiología de la post-recolección de frutos. Las concentraciones de poliaminas necesarias para ejercer un papel fisiológico están relacionadas con el estado de desarrollo y maduración del fruto (Apelbaum *et al.*, 1981).

**Poliaminas y división celular.** Varios estudios han demostrado que las poliaminas son necesarias para el crecimiento y división celular de algunos microorganismos (Tabor y Tabor, 1984; Tabor y Tabor, 1985). Así se ha observado que mutantes deficientes en poliaminas son incapaces de crecer y desarrollarse normalmente (Tiburcio *et al.*, 1993).

**Poliaminas en frutos afectados por daño mecánico.** Las poliaminas se han considerado como agentes antisenescentes y los cambios en sus concentraciones parecen estar relacionados con mecanismos de protección de células. Sin embargo, parece que estos mecanismos son específicos y diferentes para cada una de las especies vegetales (Kakkar y Rai, 1993). Se ha observado una acumulación de poliaminas como respuesta de las plantas y frutos a varios tipos de estrés: ácido (Young y Galston, 1983), salinidad (Das *et al.*, 1995), deficiencia mineral (Feng y Baker, 1993), CO<sub>2</sub> (Mathooko *et al.*, 1995), daño por frío y daño mecánico (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2000).

El daño mecánico es causado por compresión, impacto y vibración (Brusewitz *et al.*, 1991). Estos daños se producen durante los procesos de manipulación y envasado debido a presiones ocasionadas por las fuerzas de rozamiento entre los frutos y la maquinaria. El daño mecánico ocasionado está directamente relacionado con la energía de impacto, con una relación directa entre la intensidad del impacto y el daño ocasionado. El daño mecánico de los frutos seguido de un periodo de almacenamiento produce una degeneración visible del mesocarpio y endocarpio, que se acompaña de aumentos importantes en la actividad de enzimas tales como la poligalacturonasa y la polifenol oxidasa (PPO), en la velocidad de respiración y cambios en el metabolismo y expresión genética (Miller, 1992). El estrés mecánico por si mismo puede modular el metabolismo del fruto, existen otros efectos sobre la calidad del producto que tienen repercusiones económicas (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2000).

### **3. OBJETIVOS**

---

---

### **3. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente (TIAC) en la disminución de la susceptibilidad al almacenamiento a bajas temperaturas y en el contenido de poliaminas en mango variedad 'Manila'.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 1.**

Seleccionar las condiciones de los tratamientos térmicos por inmersión en agua caliente (TIAC) más efectivos para alargar la vida útil del mango.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 2.**

Evaluar el efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente (TIAC) en la fisiología (respiración), parámetros de calidad (color, firmeza, sólidos solubles, pH, acidez) y características sensoriales del mango.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 3.**

Desarrollar un método para la determinación de poliaminas por electroforesis capilar con detección indirecta que permita identificar y cuantificar su contenido en la piel y la pulpa de mango.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 4.**

Evaluar el efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente (TIAC) en los síntomas de los daños por frío y encontrar si existe relación con los cambios en los niveles de poliaminas durante la maduración del fruto.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 5.**

Evaluar el efecto de los tratamientos térmicos en los síntomas de los daños por frío y encontrar la relación con las actividades enzimáticas de la polifenol oxidasa y la peroxidasa.

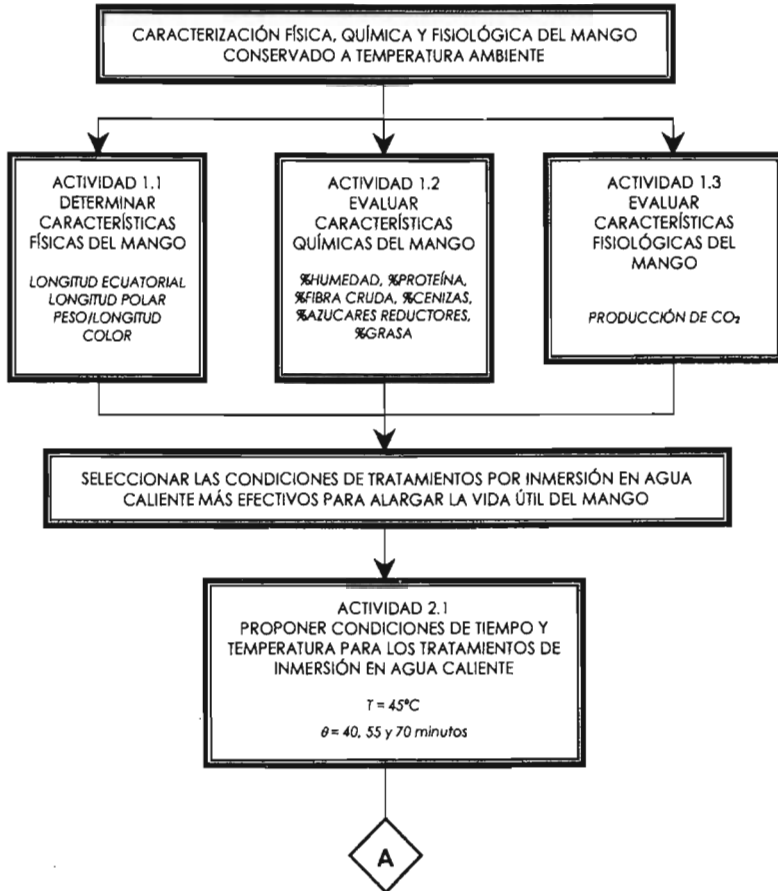


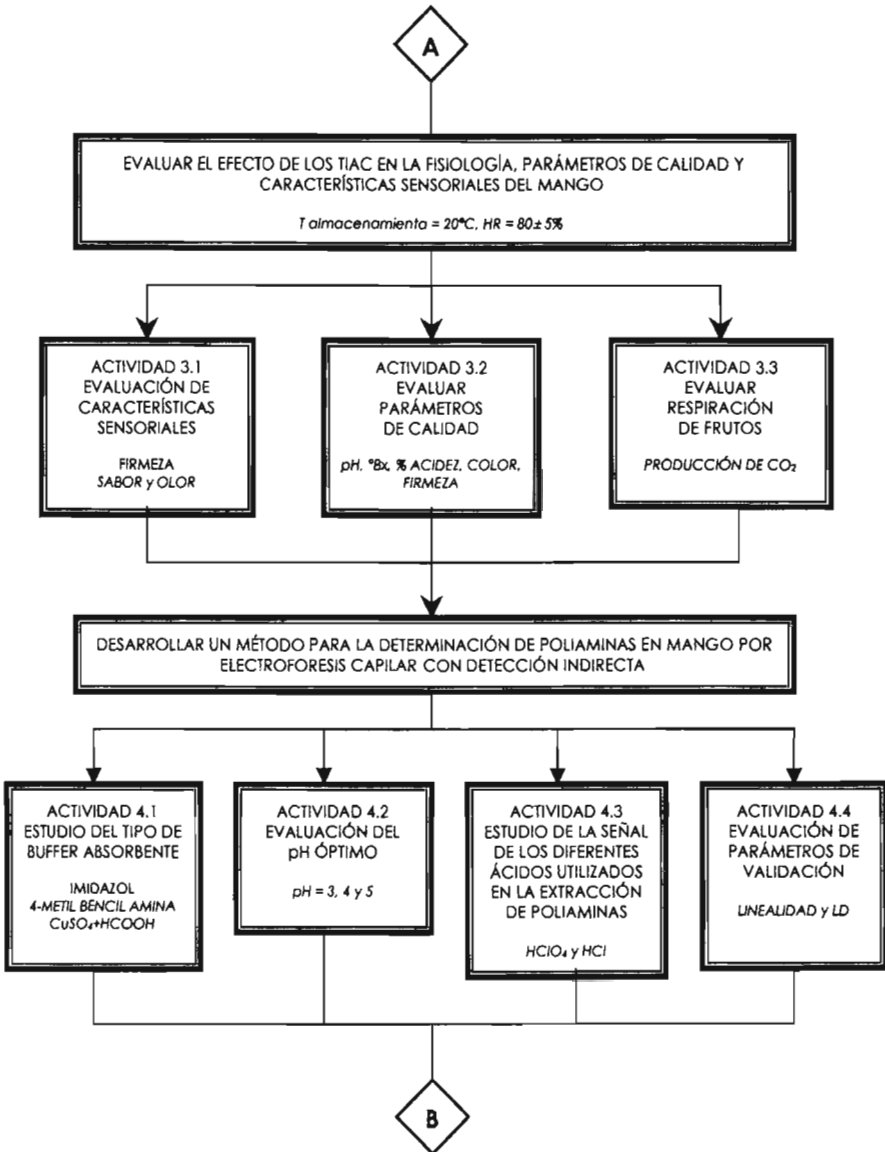
## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1. **SECUENCIA METODOLÓGICA.** Para llevar a cabo los objetivos particulares planteados se seguirá la siguiente metodología (ver cuadro metodológico).





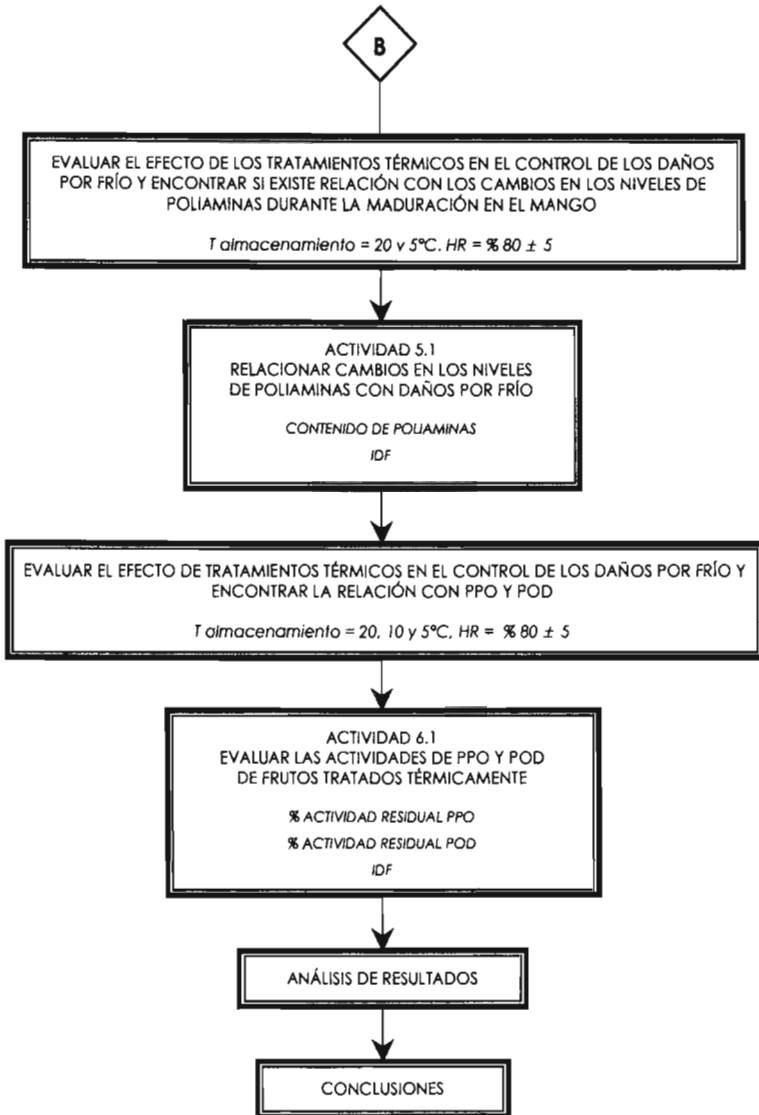


Figura 9. Cuadro Metodológico.

## 4.2 MATERIAL BIOLÓGICO.

Los frutos empleados fueron mangos (*Mangifera indica* L.) variedad 'Manila', se obtuvieron de la Central de Abastos de la Ciudad de México, los cuales procedían de los estados de Sinaloa, Michoacán, Chiapas, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, durante las temporadas de Febrero a Septiembre del 2002 y 2003. Estos frutos fueron transportados en camiones de redilas, acomodados en cajas de madera conocidos como huacales, cubiertos de papel de estraza y con tapas (Figura 10).

Las cajas seleccionadas fueron las colocadas en el centro del camión, esto con el fin de evitar que los frutos que serían utilizados presentaran una aceleración en la maduración por exposición al sol, a causa de venir en las zonas altas o laterales del transporte. Se escogieron los frutos más verdes en estadio preclimático, después de 2 ó 3 días de haber sido cosechados en las huertas.

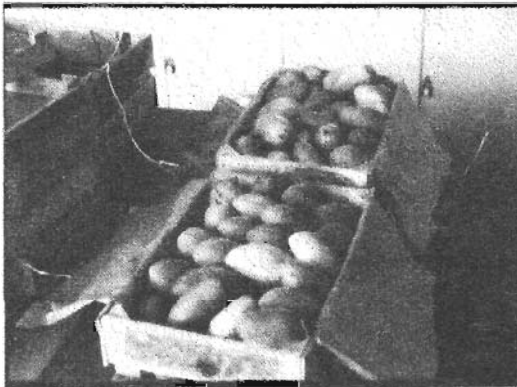


Figura 10. Frutos obtenidos para la experimentación.

## 4.3 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

Para contar con lotes homogéneos con el mismo desarrollo fisiológico, los frutos fueron seleccionados cuidadosamente al llegar al laboratorio tomando en cuenta el peso, color y las longitudes ecuatorial y polar. Todos los lotes seleccionados se encontraron dentro de los siguientes rangos establecidos para cada parámetro físico:

peso de 158-240 g, longitud ecuatorial de 17.5-20 cm, longitud polar de 12.3-14.3 cm, y en el color siempre estuvieron en  $L \leq 60$ . Se eliminaron los frutos que presentaron daños físicos o mecánicos. Una vez escogidos los frutos se procedió a realizar un lavado con agua corriente para retirar el látex de la piel de los frutos. Posteriormente, se acomodaron en una superficie plana sobre papel de estraza para dejarlos secar con ayuda de una corriente de aire, durante 1 hora (Figura 11). Se asignó un número a cada uno de los frutos para llevar un mejor control. Para la selección de frutos se establecieron rangos, en base a los datos obtenidos de longitud y peso. Se llevó a cabo la distribución de los lotes para los diferentes tratamientos de acuerdo al diseño de cada experimento.

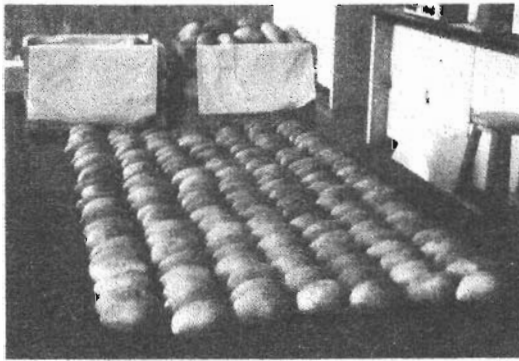


Figura 11. Selección de mangos de acuerdo a las características físicas.

#### **4.4 CARACTERIZACIÓN FÍSICA, QUÍMICA Y FISIOLÓGICA DEL MANGO CONSERVADO A TEMPERATURA AMBIENTE.**

Se evaluaron los parámetros físicos (peso, longitudes, relación peso/longitud), químicos (% azúcares, % fibra cruda, % proteína, % humedad, % grasa y % cenizas), fisiológicos (producción de  $\text{CO}_2$ ) y los de calidad (pH, acidez, color, firmeza, sólidos solubles) de frutos almacenados a temperatura ambiente, de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 4.6.

## **4.5 APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS POR INMERSIÓN EN AGUA CALIENTE (TIAC)**

### **4.5.1 PERFIL DE PENETRACIÓN DE CALOR.**

Para establecer las condiciones de tiempo de inmersión y temperatura del agua de los tratamientos térmicos en mango, se realizó un perfil de penetración de calor. Para dicha prueba se determinó tomar la temperatura en el centro del fruto con ayuda de una sonda de penetración HI 766C (Marca Hanna) y del medio de calentamiento (en este caso el agua) con ayuda de una sonda de usos generales HI 766E1 (Marca Hanna), tomando las lecturas de las temperaturas con ayuda de un termopar tipo "K" Hold HI 93532 (Marca Hanna), cada 2 minutos hasta que las temperaturas de ambos se igualaron (Figura 12). Una vez registrados los datos se realizó el perfil de penetración de calor y se llevo a cabo el ajuste a las condiciones de los tratamientos térmicos.

### **4.5.2 SELECCIÓN DE CONDICIONES DE TIEMPO DE INMERSIÓN Y TEMPERATURA.**

Se realizaron tres replicas de cada experimento para seleccionar diferentes condiciones para los tratamientos térmicos en mango 'Manila'. Se evaluó la respuesta de los frutos a estas condiciones para fijar los tiempos y temperaturas más adecuadas, ya que esta variedad de mango es muy sensible al calor y las condiciones recomendadas para las variedades 'Kent', 'Keitt' ó 'Tommy Atkins' dañan físicamente a esta variedad.

Se realizaron tratamientos de inmersión en agua caliente y con agitación constante en un baño provisto de un Termoregulador (Marca Techne, Modelo FTE-10AP) (Figura 12). Se probaron diferentes condiciones de temperatura y tiempo: 45°C y 47.5°C por 15, 20 y 30 minutos, 50 y 55°C por 3 y 5 minutos; 45°C por 40, 55 y 70 minutos. Al finalizar el tiempo de cada tratamiento los frutos se enfriaron y secaron con ayuda de una corriente de aire y sobre papel de estraza. Se descartaron aquellas condiciones de los tratamientos en los cuales los frutos presentaron daños físicos (quemaduras en la piel) inmediatos al tratamiento.

Se eligieron las condiciones de cada uno de los tratamientos (de inmersión en agua caliente) que retrasaron la maduración y que no dañaron al fruto en sus características físicas y de calidad. Cada experimento se realizó tres veces en las mismas condiciones para obtener datos confiables y reproducibles.

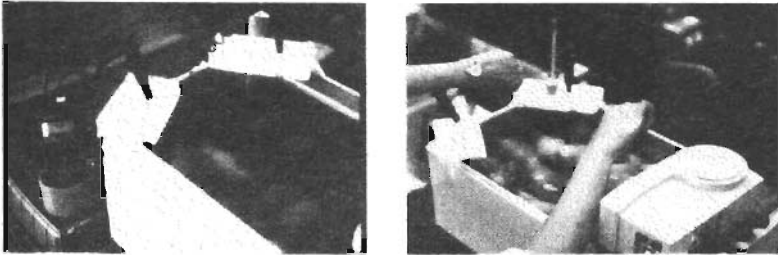


Figura 12. Aplicación de tratamientos por inmersión en agua caliente.

#### 4.5.3 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE INMERSIÓN EN AGUA CALIENTE EN LOS PARÁMETROS DE CALIDAD, FISIOLÓGICOS Y SENSORIALES DEL MANGO.

Una vez que se realizó la selección de las mejores condiciones de tiempo de inmersión y temperatura del agua se procedió a estudiar el efecto de estos tratamientos en los parámetros de calidad (pH, acidez, firmeza, color, sólidos solubles) durante los diferentes estadios del proceso de maduración del mango: preclimaterio (E1), inicio de climaterio (E2), máximo climaterio (E3) y postclimaterio (E4) y en los fisiológicos (producción de  $\text{CO}_2$ ). La respiración se evaluó todos los días para conocer el comportamiento del fruto y de esta manera poder contar con muestras en los diferentes estadios de la maduración.

Al final del proceso de maduración, es decir cuando los frutos llegaron a la madurez comercial, se realizó la evaluación sensorial como se indica en el apartada 4.7 para conocer el efecto de dichos tratamientos sobre los atributos de sabor, olor y firmeza .

Los frutos fueron sometidos a los diferentes condiciones de tratamientos y posteriormente fueron almacenados a  $20^\circ\text{C}$ . Cada lote fue de 30 frutos y los experimentos fueron realizados por triplicado.



#### **4.5.4 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS EN LA DISMINUCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL MANGO AL ALMACENAMIENTO A BAJAS TEMPERATURAS.**

Para realizar el estudio de los daños producidos por bajas temperaturas, los frutos seleccionados con características homogéneas de color, peso y diámetro, se dividieron en 12 grupos cada uno con 30 frutos colocados al azar, y se distribuyeron por lote y tratamiento. Se aplicaron dos temperaturas de refrigeración, 10°C que es la temperatura mínima en la cual no se producen daños por el frío (temperatura crítica) y una temperatura que causa daño por el frío en el fruto, 5°C. De los 12 grupos, un lote se almacenó a 20°C (control) y los otros a 10°C y 5°C. En el caso de los lotes sometidos a 5°C, se colocaron en recipientes abiertos durante 25 días en una cámara de refrigeración. El experimento se realizó tres veces en las mismas condiciones con una temperatura de almacenamiento de 5°C  $\pm$  2°C y 80  $\pm$  5 %HR.

Las muestras se dividieron en tres réplicas de 30 frutos para cada condición de tiempo y temperatura para determinar los IDF y en dos réplicas de 30 frutos para evaluar los cambios en el contenido de poliaminas, las actividades de PPO y POD, así como tres réplicas de 30 frutos para evaluar los cambios en los parámetros de calidad (pH, acidez, sólidos solubles, color y firmeza). El experimento se realizó tres veces en las mismas condiciones.

En cada una de las condiciones de temperatura se procedió a valorar la respiración periódicamente y se tomaron muestras en diferentes estadios del proceso de maduración: pre-climaterio (E1), inicio del climaterio (E2), máximo climaterio (E3) y post-climaterio (E4). Se evaluaron el contenido de poliaminas y las actividades enzimáticas de la PPO y la POD, así como la pérdida de peso, el índice de daño por el frío y los parámetros de calidad (pH, acidez, sólidos solubles, color y firmeza).

#### **4.6 MÉTODOS ANALÍTICOS.**

**4.6.1 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.** Para conocer las características químicas del mango variedad 'Manila', se realizó un Análisis Químico Proximal.

- **DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.** El contenido de humedad se realizó por el método de secado en estufa de acuerdo al método descrito por el AOAC (1990). El cual se basa en la medición de la pérdida de humedad de la muestra, debido a la evaporación del agua al someter al alimento a una temperatura cercana a la de ebullición (80°C). El contenido de humedad se expresa en porcentaje.
- **DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS.** La determinación de carbohidratos se realizó por la técnica de LANE y EYNON (Pearson, 1998). La cual se basa en la oxidación-reducción del ión cúprico (Cu<sup>++</sup>) a ión cuproso (Cu<sup>+</sup>) o agentes oxidantes suaves, que reaccionan con las aldosas de los azúcares reductores en presencia de un indicador. Los resultados se expresaron en g/100 g de muestra.
- **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA.** Se realizó por el método Microkjeldhal (AOAC 1990). Se basa en la determinación de materia nitrogenada total, que incluye al nitrógeno no proteico como al proteico. El cálculo se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula: % N<sub>2</sub> x Factor (6.25) = % proteínas.
- **DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA.** Esta determinación se realizó por el método de Kennedy-Wendy (Pearson, 1998). Esta técnica se fundamenta en la determinación de los materiales insolubles (Ligninas, celulosas y hemicelulosas) presentes en el fruto, mediante la realización de unas hidrólisis en medio ácido y alcalino. Los resultados se expresaron en g/100 g de muestra.
- **DETERMINACIÓN DE CENIZAS.** Se realizó por el método de incineración de acuerdo al método descrito por el AOAC (1990). El método se basa en la obtención del residuo inorgánico que queda después de la incineración de la materia orgánica a 550°C. Los resultados se expresaron en g/100 g de muestra.
- **DETERMINACIÓN DE GRASA.** Se realizó por el método de Soxhlet (AOAC, 1990) el cual se basa en la extracción de la grasa de la muestra anhidra por medio de un disolvente. Los resultados se expresaron en g/100 g de muestra.

#### 4.6.2 PARÁMETROS DE CALIDAD.

- DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES, ACIDEZ Y pH.** Se pesaron 10 g de pulpa y se homogenizan con 100 ml de agua destilada, se filtran con ayuda de un embudo provisto de papel filtro y del filtrado obtenido se midió el pH a temperatura ambiente con un potenciómetro (HANNA Instrument, Modelo Checker). La acidez se determinó del filtrado obtenido por titulación directa con hidróxido de sodio 0.1 N. Los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico (AOAC, 1990). El contenido de sólidos solubles (Figura 13) se determinó por lectura directa colocando una gota del jugo del fruto sobre el prisma de medición la ventana, mediante un refractómetro de mano (Marca Atago, Modelo N-1E) (0-32%) a 20°C. Los resultados se expresaron en °Brix.

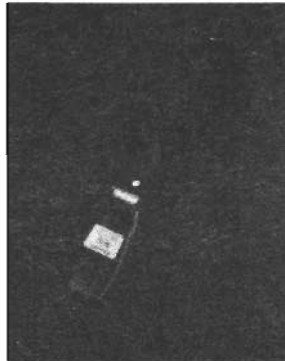


Figura 13. Determinación de °Bx por Refractometría.

- DETERMINACIÓN DE COLOR.** La determinación del color se llevó a cabo con un colorímetro Minolta, Modelo CR-300 (Figura 14), por el sistema Hunter Lab que representa la cromaticidad en coordenadas rectangulares. Los valores 'a' en abscisas se mueven desde los valores negativos para el verde a valores positivos para el rojo, los valores 'b' en ordenadas van desde el azul al amarillo y el parámetro 'L' representa la luminosidad desde la reflexión nula (L=0) a reflexión difusa perfecta (L=100). El instrumento fue estandarizado por medio de una baldosa blanca de cerámica. Las medidas de color fueron realizadas en la piel en la zona ecuatorial del fruto, en 3 réplicas para cada tratamiento. Los valores L, a y

b se utilizaron para calcular el tono (ángulo de Hue) a partir de la ecuación  $Hue = \arctan(b/a)$  donde: 0=rojo-púrpura, 90=amarillo, 180=azulado-verde y 270=azul. El croma que indica la intensidad de color o saturación de color se calculó mediante la ecuación  $C^* = (a^2 + b^2)^{1/2}$  (McGuire, 1992).



Figura 14. Determinación de color en el fruto.

- DETERMINACIÓN DE FIRMEZA.** La firmeza se determinó sobre una de las caras en la zona media de cada fruto y se evaluó como la fuerza necesaria para que la puntera se introduzca en la pulpa del fruto. Se utilizó un penetrómetro manual (Marca EFFEGI, Modelo FT 327), provisto con una puntera de 8 mm de diámetro (Figura 15). Los resultados se expresaron como  $[Kg/cm^2]$ .

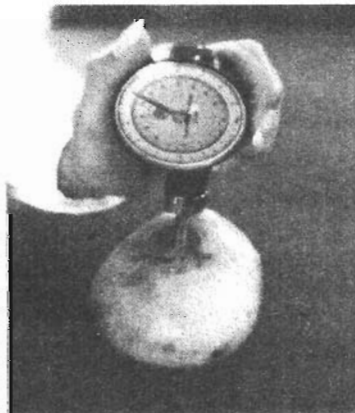


Figura 15. Determinación de firmeza en el fruto.

- **DETERMINACIÓN DE PÉRDIDA DE PESO.** Se realizó mediante la diferencia entre pesos, tomando como base el peso inicial de cada uno de los frutos menos el peso del fruto al sacar las muestras en cada estadio. El resultado se expresó como porcentaje de pérdida de peso durante el almacenamiento.
- **ÍNDICE DE DAÑO POR EL FRÍO.** Los síntomas de daños por el frío en los frutos se evaluaron visualmente de acuerdo a la siguiente escala: 0= no dañado; 1= daño ligero; 2= daño moderado y 3= daño severo.  

$$IDF = \frac{\sum (\text{nivel de daño} \times \text{No. De frutos de este nivel})}{\text{No. de frutos totales}}$$
 (González- Aguilar *et al.*, 1997)

#### 4.6.3 PARÁMETROS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS.

- **RESPIRACIÓN.** La respiración se valoró en función de la producción de CO<sub>2</sub>, para su cuantificación se conecta la salida del frasco de ventilación conteniendo la muestra a un analizador de gas por infrarrojos Marca Nitec (Figura 16). Los resultados se expresaron en mg CO<sub>2</sub> kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

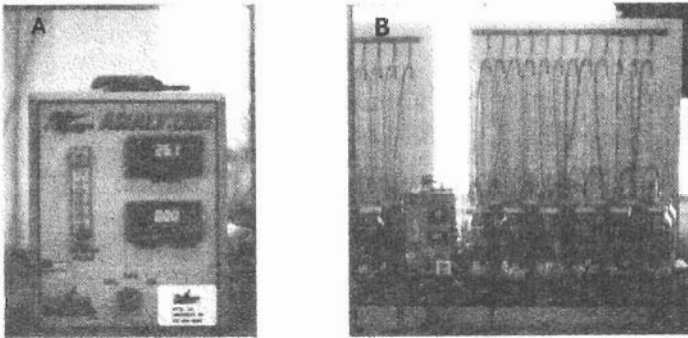


Figura 16. Analizador de CO<sub>2</sub> (A) y Sistema de ventilación o canalizador de flujos para medición de la respiración (B).

- **ACTIVIDADES DE PPO Y POD.**

### **Obtención de extractos crudos de ppo y pod.**

Las actividades enzimáticas se determinaron de acuerdo al método descrito por Cano *et al.* (1997) con ligeras modificaciones. Se pesan 200 mg de piel o pulpa del fruto, se homogenizaron en un mortero con la adición de nitrógeno líquido. La muestra se transfirió a un tubo de microcentrifuga. Se adicionó 1 ml de buffer fosfato 0.2 M (pH 7.0). Después se centrifugaron a 14 000 rpm durante 15 min. Se tomó el sobrenadante y se descartó el precipitado. Se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación de las actividades enzimáticas de la PPO y la PDO.

Polifenol oxidasa (PPO). La actividad enzimática se determinó por la medición del aumento de la velocidad de la absorbancia a 420 nm y  $25^{\circ}\text{C}$  en un espectrofotómetro Termo Spectronic, modelo Genesis 10 UV (Figura 17). La mezcla de reacción contenía 1.45 ml de buffer fosfato 10 mM (pH 7.0)(J.T.Baker), con 0.07 M de Dopamina (Sigma) y 100  $\mu\text{L}$  de extracto enzimático. La actividad enzimática se calculó con base en la pendiente lineal de la curva a 420 nm contra el tiempo, se expresa como  $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ mg}$  proteína.

Peroxidasa (POD). La actividad enzimática se determinó por la medición del aumento de la velocidad de la absorbancia a 485 nm y  $25^{\circ}\text{C}$  en un espectrofotómetro (Marca Termo Spectronic, Modelo Genesis 10 UV). La mezcla de reacción contenía 1.35 ml de buffer fosfato 0.05 M (pH 7.0)(J.T.Baker), 50  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (15 ml/l), 100  $\mu\text{l}$  de *p*-fenilendiamina (10 mg/ml) (Sigma), 100  $\mu\text{l}$  de extracto enzimático. La actividad enzimática se calculó con base en la pendiente lineal de la curva a 485 nm contra el tiempo, se expresa como  $\Delta A_{485} \text{ min}^{-1} \text{ mg}$  proteína.

Para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos en las actividades de la PPO y POD, los resultados se expresaron en actividades residuales, es decir, la relación de actividad de los frutos tratados con respecto a los frutos control en porcentaje.



Figura 17. Espectrofotómetro utilizado para determinación de actividades enzimáticas.

Determinación de Proteína. La cantidad de proteína en los extractos se realizó por el método de Lowry *et al.* (1951) con albúmina sérica bovina (Sigma) como estándar. Los valores de concentración de proteína se determinaron por interpolación gráfica en un curva patrón obtenida a 720 nm. Se expresa en mg/ml.

**4.7 ANÁLISIS SENSORIAL.** Se evaluaron las características sensoriales de los mangos después de cada uno de los tratamientos térmicos. Se contó con un grupo de 16 panelistas semi-entrenados, cuya selección se realizó en base a la habilidad para detectar sabores básicos, utilizando pruebas de diferencia de umbrales para establecer los rangos de percepción del grupo seleccionado. En la tabla 6 se muestran las concentraciones utilizadas para esta prueba. Debido a la naturaleza del producto a evaluar (mango), sólo se consideraron tres de los cuatro sabores básicos para desarrollar esta prueba descriptiva: dulce, ácido y amargo.

Tabla 6. Concentración de las soluciones acuosas empleadas en la prueba de sabor.

| Sabor  | Sustancia     | Concentración Umbral (%) | Concentración 2 (%) | Concentración 3 (%) |
|--------|---------------|--------------------------|---------------------|---------------------|
| Dulce  | Sacarosa      | 0.5                      | 2.0                 | 5.0                 |
| Ácido  | Ácido cítrico | 0.035                    | 0.07                | 0.14                |
| Amargo | Cafeína       | 0.015                    | 0.06                | 0.15                |

Fuente: Información elaborada a partir de Anzaldúa, (1994); Belico, (2000)

Continuando con las pruebas descriptivas, se realizó el adiestramiento para diferenciar aromas, utilizándose las sustancias que se indican en la tabla 7.

Tabla 7. Sustancias empleadas como muestra en la prueba de aroma.

| <b>SUSTANCIA</b> | <b>AROMA</b> |
|------------------|--------------|
| Acetato isoamilo | Frutas       |
| Diacetilo        | Nata         |
| Eucalipto        | Eucalipto    |
| B-ionona         | Frambuesa    |

Para evaluar la firmeza, se realizaron pruebas de dureza, granulosis y jugosidad utilizando diferentes frutos que presentaron cada una de las características arriba mencionadas.

Una vez conformado y entrenado el grupo de semi-panelistas, se aplicó una prueba de atributos en el mango (Dethmers, 1981). Evaluándose la firmeza, el sabor y el aroma en una escala de 1 a 5 como se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Características sensoriales a evaluar del mango.

| <b>ESCALA</b> | <b>FIRMEZA</b>       | <b>SABOR</b>         | <b>AROMA</b>             |
|---------------|----------------------|----------------------|--------------------------|
| 5             | Extremadamente firme | Extremadamente dulce | Extremadamente aromático |
| 4             | Ligeramente firme    | Muy dulce            | Muy aromático            |
| 3             | Firme                | Dulce                | Aromático                |
| 2             | Ligeramente blando   | Ligeramente dulce    | Ligeramente aromático    |
| 1             | Blando               | Insípido             | Sin aroma                |

#### **4.8 DESARROLLO DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE POLIAMINAS POR ELECTROFORESIS CAPILAR.**

La determinación de poliaminas se realizó por electroforesis capilar (EC) con detección indirecta (Ver fundamentos del método en el Anexo A). Para contar con un método confiable en la determinación de las poliaminas en mango fue necesario llevar a cabo la puesta a punto y desarrollo de este método (Castillo *et al.*, 2004).



### a. Reactivos.

Se utilizó como buffer una solución de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) 4 mM (J.T.Baker) con la adición de ácido fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ) 4 mM a pH 3.0 (J.T.Baker). Los patrones utilizados fueron putrescina dihidroclorada, espermidina trihidroclorada, espermina tetrahidroclorada (Sigma). Para las extracciones de poliaminas se utilizó ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) 0.2 N. Se utilizó una solución de hidróxido de sodio 0.1 N para lavado.

### b. Equipo.

El equipo de Electroforesis Capilar utilizado fue un sistema P/ACE™ MDQ, Beckman Coulter (Fullerton, CA), equipado con un detector de arreglo de diodos DAD, realizándose la detección de forma indirecta a una longitud de onda de 200 nm. Todas las separaciones se llevaron a cabo utilizando una columna capilar de sílice fundida de 61 cm de longitud total, 50.5 cm de longitud al detector y 50  $\mu\text{m}$  de diámetro interno (Figura 18).

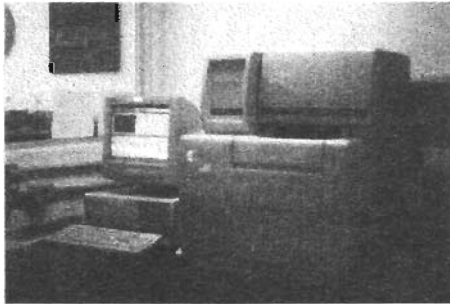


Figura 18. Equipo de Electroforesis Capilar utilizado para determinación de poliaminas.

### c. Preparación de patrones.

Solución Stock. 100 mg/l de cada poliamina en 0.2 N ácido perclórico. Para la preparación de la solución intermedia de 50 mg/l, se tomaron 5 ml de la solución stock (100 mg/l) de cada poliamina y se llevaron a un aforo de 100 ml con ácido perclórico 0.2 N.

#### **d. Extracción de poliaminas.**

Para las extracciones de poliaminas en la pulpa y piel del fruto, se utilizó el método de Carbonell y Navarro (1989) con ligeras modificaciones. Se pesaron 300 mg de muestra en papel aluminio, se sumergieron en un recipiente térmico que contenía nitrógeno líquido (con el fin de congelar las muestras inmediatamente y así evitar el deterioro de las mismas). Para la preparación de las muestras, éstas se tomaron con unas pinzas del recipiente donde se encontraban congeladas y se colocaron en un mortero. Con una espátula se retiró el papel aluminio y se homogenizaron adicionando nitrógeno líquido, hasta obtener un polvo fino. Se transfirió la muestra a un tubo de microcentrifuga adicionándole 1 ml de ácido perclórico 0.2 N, agitando con la ayuda de un vortex por un lapso de 2 minutos. Posteriormente, se dejaron en un baño de hielo durante 30 minutos para favorecer la extracción y después se centrifugaron por 30 minutos a 13 000 rpm en una microcentrífuga (Marca Hermle). Finalmente, se tomó el sobrenadante y se filtró a través de membranas de nitrocelulosa 0.45  $\mu\text{m}$  (Sigma-Aldrich). El mismo procedimiento fue utilizado para la extracción de las poliaminas de las muestras de piel y pulpa.

#### **e. Preparación de la muestra.**

Una vez obtenidos los extractos de los frutos se tomaron 100  $\mu\text{l}$  de las muestras de pulpa y se transfirieron a un microvial con la adición de 100  $\mu\text{l}$  de ácido perclórico 0.2 N. Las soluciones anteriores se homogenizaron y se colocaron en los porta microviales colocándoles su correspondiente tapa quedando listas para su inyección. En el caso de las muestras de piel se siguió el mismo procedimiento pero la dilución fue de 10  $\mu\text{l}$  de muestra con la adición de 240  $\mu\text{l}$  de ácido perclórico 0.2 N.

#### **f. Condiciones de trabajo.**

Para la medición de las muestras se desarrolló un método utilizando detección indirecta UV a una longitud de onda de 200 nm, a una temperatura de 15°C, y usando un voltaje de 20 KV para la separación. La inyección de la muestra fue bajo presión de 1.0 psi durante 4 segundos.

### **g. Preacondicionamiento del capilar.**

El capilar de sílice fundida se preconditionó realizando los siguientes lavados: lavado con agua desionizada aplicando presión (20 psi) durante 5 minutos a 25°C, después se realizó otro lavado con NaOH 0.1 N a 25°C aplicando presión (20 psi) durante 10 minutos, se vuelve a realizar un lavado con NaOH 0.1 N bajo las mismas condiciones pero ahora a 45°C. se repite el lavado con agua desionizada con las mismas condiciones, y por último se hace otro lavado con el buffer de corrida aplicando presión (20 psi) durante 5 minutos a 25°C, con el cual se asegura el equilibrio de la columna.

### **h. Metodología para la separación de las poliaminas de las muestras problema.**

Para la determinación de las poliaminas de las muestras problema de las pulpas y pieles se siguió el procedimiento que se describe a continuación:

- 1) Lavado del capilar con agua desionizada a 20 psi por 1 minutos
- 2) Lavado del capilar con NaOH 0.1 N a 20 psi, por 3 minutos
- 3) Lavado del capilar con agua desionizada a 20 psi por 1 minutos
- 4) Lavado del capilar con buffer de corrida a 20 psi por 5 minutos
- 5) Inyección de la muestra 1.0 psi por 4 segundos.
- 6) Separación de muestra con la aplicación de 20 kV durante 12 minutos

La detección se llevó a cabo a 200 nm con el detector de arreglo de diodos. La corriente obtenida para cada medición fue de aproximadamente 30  $\mu$ A. El reemplazo de los buffers de corrida se realizó cada 3 mediciones, ya que de esta forma se aseguraba la misma composición de esta solución ya que es bien sabido que puede cambiar cuando es usada por largo tiempo debido a la llamada depleción del buffer (migración de especies iónicas del buffer).

Para mantener en óptimas condiciones el capilar y evitar una posible adsorción de las poliaminas en las paredes de la columna, se realizó un "lavado agresivo" después de cada 5 corridas con NaOH a 40°C, de esta manera se pudieron obtener señales muy

reproducibles tanto de las muestras de mango como de los estándares de poliaminas.

#### **4.8.1 Optimización del método para determinar poliaminas por Electroforesis Capilar.**

Para la optimización del método fueron evaluados los siguientes parámetros: tipo de buffer, concentración y pH de corrida; voltaje de separación y tipo de ácido utilizado en la extracción de poliaminas. Para la identificación de cada una de ellas se determinó su orden de elusión utilizando tanto una mezcla, como los estándares por separado (50 ppm para todos los casos) y se corrieron bajo las mismas condiciones.

Este método fue evaluado en términos de linealidad y sensibilidad. Entendiéndose como linealidad a la habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado (Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, 2002). Se estableció para cada poliaminas utilizando diferentes concentraciones, y se construyeron las curvas de calibración para la putrescina y espermina de 5 a 100 ppm, mientras que para la espermidina 5 a 155 ppm. Realizándose una regresión lineal por mínimos cuadrados para cada curva.

Para determinar la sensibilidad del método, la cual se define como: la capacidad de un método analítico de registrar ligeras variaciones de la concentración analítica (Castro *et al.*, 1989). Se determinó en función del límite de detección (LD) que es la cantidad mas baja de muestra que se puede detectar pero no necesariamente cuantificar como un valor exacto en función de la relación utilizando el criterio de señal/ruido = 2 (Esquivel, 2004).

El método anteriormente descrito fue utilizado para el análisis de poliaminas en piel y pulpa de mango 'Manila' sometidos a tratamientos hidrotérmicos.

#### 4.9 CARACTERIZACIÓN DE LA CÁMARA DE REFRIGERACIÓN.

Para llevar a cabo el estudio del efecto del almacenamiento a bajas temperaturas, se realizó previamente una caracterización de la cámara de refrigeración (Ojeda, Modelo CDP-10128, No. de serie: 5286 50117-LL)(Figura 19).

Para proceder a la caracterización de la cámara de refrigeración, primero se realizó el ajuste de la temperatura a 5°C, por medio del termostato, se estabilizó durante 30 minutos la cámara, y posteriormente se seccionaron las 3 paredes de la cámara en secciones iguales, en cada una de ellas se ubicaron 9 puntos a la misma distancia, para obtener un total de 27 puntos diferentes, en esos puntos se registraron lecturas de la temperatura (°C) por medio de un termopar tipo "K" Hold HI 93532 (Marca Hanna) provisto de una sonda de usos generales HI 766E1 (Marca Hanna), la humedad relativa (%HR) se registró por medio de un higrómetro Termo-Higro (Marca Sper Scientific), y la velocidad del aire (m/seg) por medio de un anemómetro Turbo Meter™ (Marca David Instruments), estas lecturas se tomaron por triplicado, en diferentes momentos, esto fue con el fin de asegurar que las condiciones de trabajo fueran las mismas en todos los puntos de la cámara.

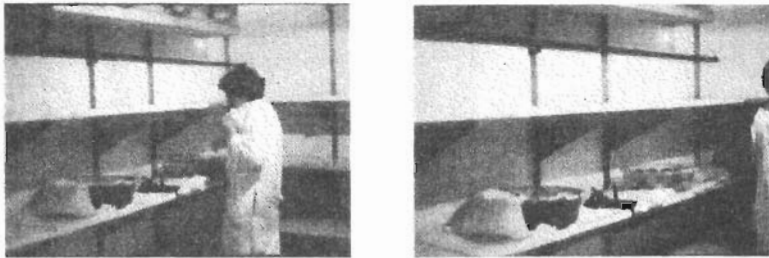


Figura 19. Caracterización de la cámara de refrigeración.

**4.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.** Los resultados obtenidos se analizaron con ayuda del programa estadístico SPSS (Programa estadístico para Ciencias Sociales). Se realizaron análisis de varianza y para establecer si existió diferencia significativa entre las medias de los diferentes tratamientos térmicos aplicados a los frutos se realizaron pruebas de rango múltiple (Tukey, SNK, DMS y Duncan), para cada uno de los experimentos realizados.

Para evaluar el efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente sobre los parámetros de calidad (pH, % acidez, sólidos solubles, color, firmeza) se realizó un análisis de varianza que permitió determinar si existió diferencia significativa entre la media de los valores obtenidos en las diferentes muestras.

La relación entre el índice de daño por frío y el contenido de poliaminas en mangos tratados térmicamente, se determinó mediante una regresión lineal que permitió analizar el grado de asociación que existió entre las series de datos obtenidos. De igual manera, para establecer el efecto del tiempo de tratamiento térmico sobre el contenido de poliaminas se analizaron estos datos por medio de una regresión lineal.

Para conocer la linealidad del método desarrollado por electroforesis capilar, se realizó una regresión lineal que permitió saber que tipo de línea describió mejor el comportamiento de la serie de datos obtenidos, además de obtener el coeficiente de correlación que ayudó a analizar el nivel de relación existente entre las concentraciones utilizadas y las áreas obtenidas bajo la curva.

Para las pruebas sensoriales, los resultados obtenidos se analizaron a través de un análisis de varianza, ya que es una técnica estadística que permitió estudiar si existió diferencia significativa entre la media de las calificaciones asignadas por los jueces a más de dos muestras y posteriormente se aplicaron pruebas de rango múltiple de DUNCAN (Pedrero y Pangborn, 1989).

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Caracterización física, química, y fisiológica del mango 'Manila' conservado a temperatura ambiente.

#### 5.1.1 Caracterización física del mango.

Para conocer al material en estudio fue necesario realizar una caracterización física del mismo, en donde se midieron sus longitudes polar y ecuatorial, peso, y la relación peso / longitud. Estos atributos ayudaron a conocer el grado de madurez del fruto y de esta manera seleccionar lotes completamente homogéneos con el mismo estado fisiológico.

En la tabla 9 se pueden observar las características físicas de los mango variedad 'Manila' con los que se trabajó en el presente estudio.

Tabla 9. Características físicas del mango

| PARÁMETRO           | PROMEDIO       |
|---------------------|----------------|
| PESO                | 199.05 ± 41.07 |
| LONGITUD ECUATORIAL | 18.79 ± 1.28   |
| LONGITUD POLAR      | 13.28 ± 1.04   |
| PESO / LONGITUD     | 14.86 ± 2.08   |
| COLOR               | Verde uniforme |
| FORMA               | Oblonga        |

Los resultados muestran la media de nueve réplicas ± desviación estándar (n = 1134)

El mango 'Manila' es una variedad que pertenece al grupo Mulgova, y de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-FF-058-SCFI-1999 (Secretaría de Economía, 1999) los frutos del estudio cumplieron con las especificaciones mínimas para ser clasificados de primera categoría ya que el tamaño mínimo para mangos de este grupo en todas sus variedades, es de 100 gramos. En base a la norma del Codex para el Mango Stan 184-1993 (Codex Alimentarius, 1993), el calibre se determina por el peso de la fruta, y el mango 'Manila' utilizado corresponde al calibre A (200-350-gramos).

El tamaño es un importante criterio de calidad, que puede ser fácilmente medido, ya que mediante este parámetro las frutas son clasificadas, facilitando su comercialización, mientras que la forma, tamaño y color están relacionados con el índice de cosecha



como en el caso del mango, en el que la fruta ya redondeada por relleno de los lados y que además presenta hinchamiento de "hombros", es una fruta que ya está en madurez fisiológica y que por lo tanto aunque externamente está verde, va a madurar después de ser cosechada (SIM-CNP, 2002).

### 5.1.2 Caracterización química y fisicoquímica del mango.

Se procedió a caracterizar al mango variedad 'Manila' mediante un análisis químico para determinar cuales son sus componentes mayoritarios, de acuerdo a las técnicas mencionadas en el apartado de materiales y métodos. En la tabla 10 se muestra la composición química del mango 'Manila' en estado de maduración comercial.

Tabla 10. Composición Química del mango

| COMPONENTE                       | g/100 g muestra |
|----------------------------------|-----------------|
| HUMEDAD <sup>a</sup>             | 83.83 ± 0.61    |
| CENIZAS <sup>b</sup>             | 0.62 ± 0.067    |
| AZÚCARES REDUCTORES <sup>c</sup> | 14.07 ± 1.77    |
| PROTEÍNA <sup>d</sup>            | 0.69 ± 0.10     |
| FIBRA CRUDA <sup>e</sup>         | 0.25 ± 0.01     |
| GRASA <sup>f</sup>               | 0.34 ± 0.15     |

Los datos muestran la media de 3 réplicas ± desviación estándar.

<sup>a</sup> Humedad por el método de secado en estufa; <sup>b</sup> Cenizas por el método de incineración de Klemm; <sup>c</sup> Azúcares reductores totales por el método de Lane y Eynon; <sup>d</sup> Proteína por el método de Microkjeldhal; <sup>e</sup> Fibra cruda por el método de Kennedy-Wendy; <sup>f</sup> Grasa por el método de Soxhlet.

De los resultados obtenidos de este análisis se pudo observar que el mango es una fruta con un elevado contenido de agua, su principal componente. También es rico en carbohidratos, cuantitativamente es el segundo componente en importancia, los cuales son fuente de energía, ya que predominan azúcares simples (entre los que destacan la glucosa, fructosa y sacarosa).

Los frutos del mango constituyen un valioso suplemento dietético, pues es muy rico en vitaminas A y C, minerales y anti-oxidantes; siendo bajos en calorías, grasas y sodio. Con todo esto, el valor calórico de este fruto es moderadamente bajo de 62-64 calorías/100 g de pulpa.

Cabe señalar que la variedad 'Manila' presenta un bajo contenido de fibra, inferior al de otras variedades comercializadas en México como son: 'Haden', 'Kent', 'Keitt', 'Tomy Atkins', etc. Además, presentó pequeñas cantidades de proteína y de lípidos.

Tabla 11. Características fisicoquímicas del mango.

| <b>Parámetros de calidad</b>  |              |
|-------------------------------|--------------|
| pH                            | 5.75 ± 0.51  |
| Sólidos solubles (°Bx)        | 15.42 ± 1.28 |
| Acidez (% Ac. Cítrico)        | 0.12 ± 0.03  |
| Color                         |              |
| L                             | 92.7 ± 4.60  |
| a                             | 10.72 ± 0.55 |
| b                             | 28.78 ± 2.52 |
| Firmeza (Kg/cm <sup>2</sup> ) | 2.51 ± 0.44  |

Los datos muestran la media de 3 réplicas ± desviación estándar.

Los parámetros de calidad (pH, sólidos solubles, firmeza, acidez, color) de los frutos son de gran importancia ya que nos permiten evaluar las características relacionadas con el color, firmeza y sabor, que afectarán la aceptación del producto. En la Tabla 11 se muestran los parámetros de calidad del mango 'Manila'.

Esta fruta contiene ácidos (cítrico y málico) y otras sustancias aromáticas que junto al gran contenido de agua de la fruta hace que ésta sea refrescante. El sabor vendrá determinado por su contenido en ácidos, azúcares y otras sustancias aromáticas.

El color y sabor del mango, características que lo hacen apetecible, además de sus conocidas bondades nutritivas y digestivas, han provocado un aumento considerable en su consumo en fresco en los últimos años. El mango 'Manila' a diferencia de otras variedades presenta un color verde en estado inmaduro y cambia a un color amarillo en estado de madurez comercial. Por lo que, el parámetro de luminosidad (L) presenta valores aproximados a 100 cuando el fruto es apto para el consumo y lo hace ser muy atractivo al consumidor.

La firmeza es otro de los parámetros de calidad que tienen gran importancia, ya que nos permitirá conocer el momento más adecuado para el consumo, y esta característica está relacionada con el proceso de maduración, y los cambios en la degradación de la pared celular.

### 5.1.3 Caracterización fisiológica del mango.

La respiración en los frutos climatéricos es la principal característica desde el punto de vista fisiológico, ya que al momento de ser cosechados, los mangos siguen realizando procesos fisiológicos propios de organismos vivos.

La respiración es el proceso por el cual el oxígeno atmosférico es aprovechado para metabolizar compuestos de almacenamiento (azúcares y almidón) para formar diversos productos como el CO<sub>2</sub>, agua y energía. Es por esto que es importante conocer la tasa de respiración del fruto, ya que implica muchas reacciones enzimáticas y la velocidad con que estas reacciones transcurren depende de la temperatura. El mango es un fruto climatérico que presenta cambios en la tasa respiratoria durante la maduración.

En la figura 20 se presenta la gráfica correspondiente a la evaluación de la respiración de mangos 'Manila' expresado como producción de CO<sub>2</sub>, en los que se observó, una etapa preclimaterio, en la cual la producción de CO<sub>2</sub> alcanzó 28.40 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, al segundo día se presentó el inicio del climaterio (61.617 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), y en el séptimo día se alcanzó el máximo climaterio con 130.335 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, para finalmente llegar al postclimaterio al octavo día con 103.074 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

Estos resultados indicaron que los mangos 'Manila', presentaron un comportamiento climatérico, ya que aumentaron los niveles de CO<sub>2</sub> en la medida que transcurrió el tiempo, presentando un incremento paulatino de la respiración. En los frutos climatéricos este aumento en la tasa respiratoria va acompañado de la producción autocatalítica de etileno, lo cual acelera las reacciones metabólicas del fruto favoreciéndose una serie de actividades bioquímicas que conducen a la maduración y/o senescencia de los productos, manifestándose a través de cambios de color, pérdida de firmeza, pérdida de peso, cambios en el aroma, degradación de azúcares, entre otros. En el presente trabajo no se realizó la determinación de la producción de etileno, pero

bibliográficamente se reporta la presencia de pequeñas cantidades de esta fitohormona cuando se alcanza el máximo climaterio respiratorio.

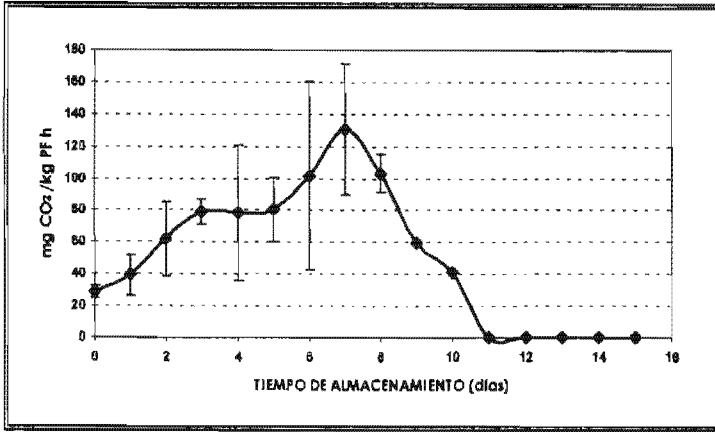


Figura 20. Cambios en la tasa de respiración de frutos almacenados a 20°C. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

Trabajos de Kader (2002), menciona niveles de CO<sub>2</sub> en un rango de 35 a 80 ml CO<sub>2</sub>/Kg h, similares a los registrados en el presente trabajo. Cabe mencionar, que depende de la variedad del fruto, estado fisiológico y/o momento de la cosecha encontraremos diferentes cambios en la producción de CO<sub>2</sub>, y en el momento de alcanzar el máximo climaterio.

### 5.2 Selección de condiciones de tiempo y temperatura para los tratamientos térmicos.

Para poder seleccionar los tratamientos térmicos más efectivos en el control del daño por frío en mangos 'Manila', se evaluaron las diferentes condiciones de tiempo de inmersión y temperatura del agua. Para evaluar el efecto de los tratamientos se propusieron las siguientes condiciones: 45°C y 47.5°C por 15, 20 y 30 minutos, 50°C y 55°C por 3 y 5 minutos y posteriormente almacenados a 20°C.

Este primer experimento se realizó para conocer el comportamiento del fruto, apeándonos a las condiciones usadas en la norma para exportación de mangos en

donde se indica la temperatura de  $46.1^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , según el plan de trabajo para el tratamiento y certificación de mangos mexicanos (USDA\_APHIS-IS y SAGARPA-DGSV, 2002). El tiempo se establece de acuerdo al peso del mango; así los mangos del tipo Francis y otros de forma similar (alargados y aplanados) de 570 gramos o menos el tratamiento será durante 75 minutos, y de 375 gramos o menos durante 65 minutos. Para otras variedades se deben aplicar tratamiento de 90 minutos para mangos de 700 gramos o menos y de 75 minutos para mangos de 500 gramos o menos.

En el caso de los mangos de las variedades indostano ('Haden', 'Kent', 'Keltt', 'Tommy Atkins', 'Irwin', 'Zill', 'Sensation', 'Van Dycke', 'Vichis', 'Oro', etc) los tratamientos hidrotérmicos se realizan con el objetivo de controlar la mosca de la fruta *A. Ludens*, por lo que los tratamientos son sumamente drásticos.

En el caso del mango 'Manila', es una variedad que se dedica básicamente a consumo nacional, como se puede observar en el Pliego de condiciones del mango (PC-005-2002), a través de la marca oficial 'México Calidad Suprema', en el cual ni siquiera es mencionado en comparación con el 'Ataúlfo', 'Diplomático', 'Criollo', etc; los cuales pertenecen a la variedad Mulgova (Secretaría de Economía, 2002).

En el presente trabajo, se aplicaron tratamientos térmicos con el fin de controlar el desorden fisiológico denominado "daño por frío", por lo que se propusieron condiciones de los tratamientos menos drásticas.

En la figura 21 se presentan los cambios en la respiración de los mangos 'Manila' tratados hidrotérmicamente. Los resultados muestran que los tratamientos a 50 y 55 °C por 3 y 5 minutos fueron los más efectivos para retrasar el inicio del climaterio respiratorio. Los mangos sometidos a estos tratamientos presentaron una respiración máxima de 180 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y alcanzan el máximo climaterio 3 días después que los frutos control.

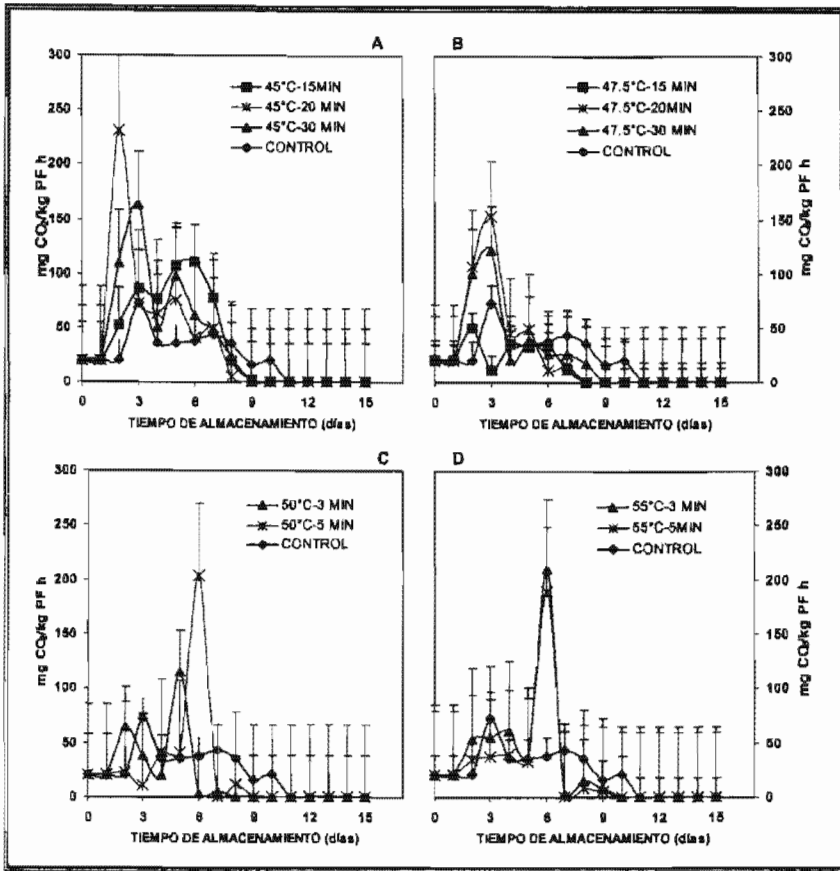


Figura 21. Tasa respiratoria de mangos 'Manila' sometidos a tratamientos por inmersión en agua caliente: (A) 45°C por 15, 20, 30 minutos, (B) 47.5°C por 15, 20, 30 minutos, (C) 50°C por 3 y 5 minutos y (D) 55°C por 3 y 5 minutos.

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

La aplicación de tratamientos térmicos (inmersión en agua, aire, irradiación) han sido efectivos para mantener la calidad de frutos y vegetales (Lurie *et al.*, 1997; González-Aguilar *et al.*, 1997). Estos tratamientos regulan muchos procesos bioquímicos y fisiológicos, entre ellos la biosíntesis de etileno y la respiración.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de los tratamientos hidrotérmicos en la tasa respiratoria, encontrándose un aumento o disminución en la producción de CO<sub>2</sub>, este comportamiento sugiere que las enzimas respiratorias (succino deshidrogenasa y citocromo oxidasa) podrían sufrir una inhibición o activación provocando un desacoplamiento en la fosforilación oxidativa como lo indican trabajos de Eaks (1980).

En la tabla 12 se muestran los parámetros de calidad al final del almacenamiento de los frutos tratados térmicamente y de los frutos control. Los tratamientos no afectaron a los parámetros de calidad del mango, contrario a lo que se ha reportado en otros frutos (Lurie y Klein, 1992; García *et al.*, 1995; Lurie y Klein, 1990) en donde se vieron afectados el pH, acidez y/o firmeza. En nuestro estudio no se presentó diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) en el pH y acidez, solamente se observó una disminución de la pérdida de peso en los frutos sometidos a tratamientos a 45 y 47.5°C por 15, 20 y 30 minutos.

Tabla 12. Parámetros de calidad de mangos 'Manila' tratados térmicamente al final del proceso de maduración.

| Parámetros de calidad  | 45°C   |        |        | 47.5°C |        |        | 50°C   |         | 55°C   |        | 20°C    |
|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|
|                        | 15 min | 20 min | 30 min | 15 min | 20 min | 30 min | 3 min  | 5 min   | 3 min  | 5 min  | Control |
| pH                     | 4.08a  | 4.15a  | 4.15a  | 4.36a  | 4.33a  | 4.34a  | 4.11a  | 4.00a   | 4.11a  | 4.40a  | 4.18a   |
| Sólidos solubles (°Bx) | 8.98a  | 8.48a  | 9.83b  | 8.48a  | 9.22b  | 10.47c | 8.30a  | 8.80a   | 8.50a  | 10.50c | 10.40c  |
| Acidez (% Ac. Cítrico) | 0.302a | 0.294a | 0.300a | 0.293a | 0.286a | 0.294a | 0.306a | 0.304a  | 0.307a | 0.300a | 0.300a  |
| Pérdida de peso (%)    | 6.48a  | 10.04b | 10.46b | 6.75a  | 11.99b | 13.93c | 17.44d | 12.00bc | 22.87e | 16.75d | 16.83d  |

Valores seguidos de letras iguales indican no diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ).

A pesar de que en las condiciones de tiempos cortos (50 y 55°C por 3 y 5 min) se observó un retraso en el inicio del climaterio, se eligió la temperatura de 45°C por ser esta condición la que provocó menor pérdida de peso, así mismo alargaron la vida útil del fruto y no afectaron sus parámetros de calidad.

### 5.2.1 Perfil de penetración de calor.

Los frutos de mango 'Manila' utilizados para establecer los tiempos de exposición a los tratamientos, presentaron un rango de peso entre 200 a 250 g. Estos frutos fueron

sumergidos en agua caliente (45°C) para evaluar el tiempo requerido para que el centro del fruto alcanzara la temperatura del medio de inmersión. Se utilizó un termopar de penetración el cual fue insertado dentro de la pulpa sin tocar la semilla. La temperatura de la pulpa se fue incrementando conforme aumentaba el tiempo de exposición del fruto al tratamiento hasta igualarse con la temperatura del agua. Las temperaturas del fruto y del agua fueron monitoreadas cada 2 minutos por un período de 30, para establecer la relación que existe entre el peso del fruto y el tiempo necesario para igualarse su temperatura con el medio de calentamiento, lo cual nos permitió establecer el perfil de penetración de calor del mango. Este perfil nos ayudó a estimar el tiempo de preacondicionamiento del fruto antes de que el centro llegará a la temperatura indicada para el tratamiento.

Se observó que para un fruto de 225 gramos, el tiempo requerido para que la pulpa alcanzara la temperatura del agua fue de 30 minutos (Figura 22), utilizándose un diferencial de temperatura de  $\pm 0.2^\circ\text{C}$ , este diferencial se observó desde los 30 minutos, el tiempo restante fue el necesario para que la pulpa del fruto mantuviera la temperatura deseada [45°C]. A mayor tiempo de inmersión, la temperatura del agua y la del fruto alcanzaron un equilibrio.

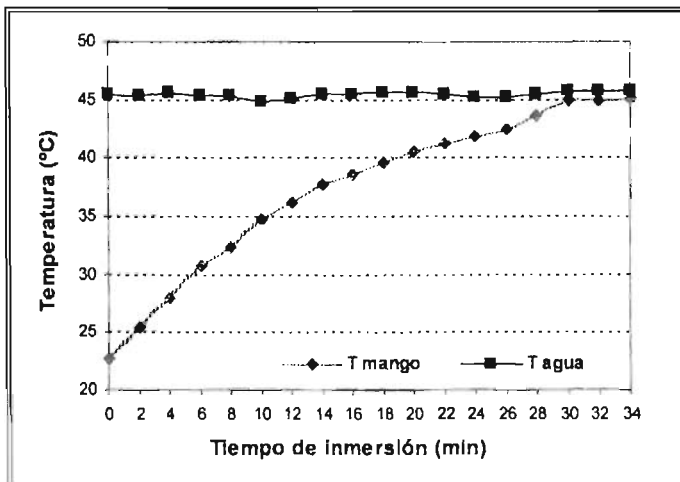


Figura 22. Perfil de penetración de calor del mango 'Manila'.



Posteriormente en base a resultados se propusieron condiciones de 45°C pero con tiempos superiores a los evaluados al inicio en un segundo experimento (45°C por 40, 55 y 70 minutos), las cuales tuvieron un efecto más significativo sobre los frutos, ya que estos presentaron una mejor respuesta en la respiración, y estas condiciones no afectaron los parámetros de calidad y alargaron la vida útil de los frutos.

En la Figura 23 se presentan los cambios en la respiración de los mangos 'Manila' tratados hidrotérmicamente con las nuevas condiciones. Los resultados muestran que el tratamiento a 45 °C por 55 minutos fue el más efectivo para retrasar el inicio del climaterio respiratorio. Los mangos sometidos a 45°C por 40 minutos presentaron una respiración máxima de 62.23 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y un máximo climaterio al octavo día de maduración al igual que los frutos control, pero estos presentaron una respiración de 42.21 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> lo cual nos indica que su respuesta fue menor a los frutos tratados térmicamente. Se puede sugerir que los frutos tratados hidrotérmicamente presentaron mayores niveles CO<sub>2</sub>, comparados con los frutos control.

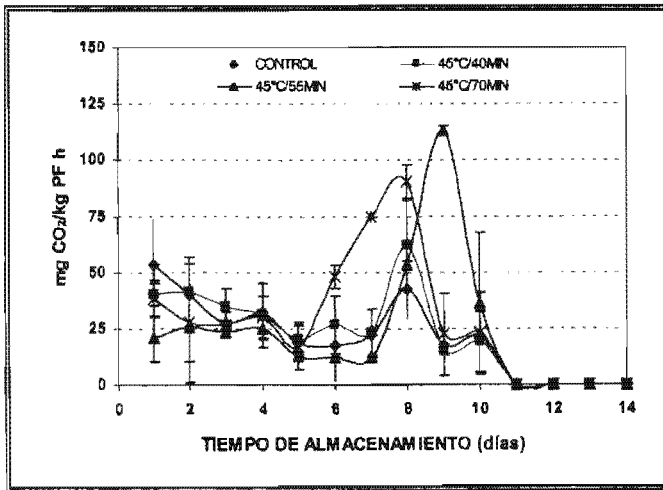


Figura 23. Tasa respiratoria de mangos 'Manila' sometidos a tratamientos hidrotérmicos a diferentes condiciones de temperatura y tiempo y madurados a 20°C.

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En la tabla 13 se muestran los parámetros de calidad al final del almacenamiento de los frutos tratados térmicamente y de los frutos control. Aquí también podemos observar que los tratamientos a 45°C no afectaron a los parámetros de calidad del mango 'Manila', como se ha mencionaba en los experimentos anteriores. Solamente se registró un ligero efecto en los sólidos solubles, ya que los frutos control alcanzaron 19°Bx, mientras que los frutos tratados no llegaron a ese nivel.

Tabla 13. Parámetros de calidad de mangos 'Manila' tratados térmicamente (45°C por 40, 55 y 70 minutos) al final del proceso de maduración.

| Parámetros de calidad         | 45°C           |                |                | Control 20°C   |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                               | 40 min         | 55 min         | 70 min         |                |
| pH                            | 5.62 ± 0.08 a  | 5.73 ± 0.21 a  | 5.98 ± 0.11 a  | 5.74 ± 0.14 a  |
| Sólidos solubles (°Bx)        | 17.6 ± 0.84 a  | 18.53 ± 0.41 a | 16.93 ± 0.90 a | 19.67 ± 0.57 a |
| Acidez (% Ac. Cítrico)        | 0.80 ± 0.18 a  | 0.58 ± 0.14 a  | 0.63 ± 0.22 a  | 0.65 ± 0.07 a  |
| Pérdida de peso (%)           | 3.28 ± 0.40 ab | 4.12 ± 0.64 c  | 3.87 ± 0.68 bc | 3.04 ± 0.42 a  |
| Firmeza (Kg/cm <sup>2</sup> ) | 7.33 ± 0.68 ab | 6.45 ± 0.49 ab | 10.3 ± 0.42 b  | 7.37 ± 0.80 a  |

Los datos muestran la media de 3 réplicas ± desviación estándar. Letras iguales en cada parámetro indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos ( $P \geq 0.05$ ).

### 5.3 Evaluar el efecto de tratamientos de inmersión en agua caliente en los parámetros de calidad, fisiológicos y sensoriales del mango.

#### 5.3.1 Parámetros de calidad.

La maduración de frutos, es el proceso fisiológico que sigue al crecimiento y desarrollo. La fisiología de la maduración envuelve numerosas actividades, causando pérdida de peso y volumen en el fruto, cambios en gravedad específica, color de la piel y la pulpa, disminución en la firmeza, seguido por una serie de cambios en la composición química, tal como la disminución en acidez, almidón y sólidos insolubles en alcohol y un incremento en sólidos solubles totales, azúcares, carotenoides y compuestos que forman el aroma (Doreyappa-Gowda y Huddar, 2001).

Los parámetros de calidad están relacionados con el valor comercial de los frutos y dependerán principalmente de su sabor, apariencia y textura. En el sabor intervienen de

forma importante los azúcares, los ácidos orgánicos, compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonas, flavononas) y compuestos volátiles (alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, acetales y éteres). Los cambios durante la maduración se verán reflejados en los siguientes parámetros de calidad: los sólidos solubles, la acidez y el pH de los frutos, por lo que cambios en alguno de estos parámetros provocarán modificaciones de los otros. A continuación se muestran los cambios en los parámetros relacionados con el sabor del mango.

### 5.3.1.1 Sólidos Solubles.

El contenido de azúcares de mangos ha sido usualmente evaluado en términos de contenido de sólidos solubles, o de azúcares reductores y no reductores (Medlicott y Thompson, 1985). La glucosa, fructosa y sacarosa se encuentran presentes en concentraciones similares en mangos maduros, y la sacarosa ha mostrado ser la predominante durante toda la maduración (Krishnamurthy *et al.*, 1960).

En la figura 24A se presenta el efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente en los sólidos solubles de mangos 'Manila' almacenados a 20°C. En los frutos control (sin tratamiento) durante el preclimaterio los sólidos solubles se encontraron en 14 °Bx, posteriormente cuando inicia el climaterio los niveles aumentan ligeramente, hasta 15 °Bx aproximadamente, y en el máximo climaterio llegan a valores de 16 °Bx, y se mantienen así durante el postclimaterio, este comportamiento se debe a que durante la maduración de los frutos los sólidos solubles aumentan, sobre todo los azúcares, a expensas de la hidrólisis de carbohidratos poliméricos como el almidón. Este comportamiento se presentó de la misma forma en los frutos tratados hidrotérmicamente, observándose niveles ligeramente mayores en el inicio del climaterio en los tratamientos de 45°C por 55 y 70 minutos. Sin embargo al final del almacenamiento los niveles de sólidos solubles son similares. Durante las diferentes etapas de maduración no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ), únicamente en el preclimaterio se observó diferencia significativa debido al estado fisiológico inicial del mango.

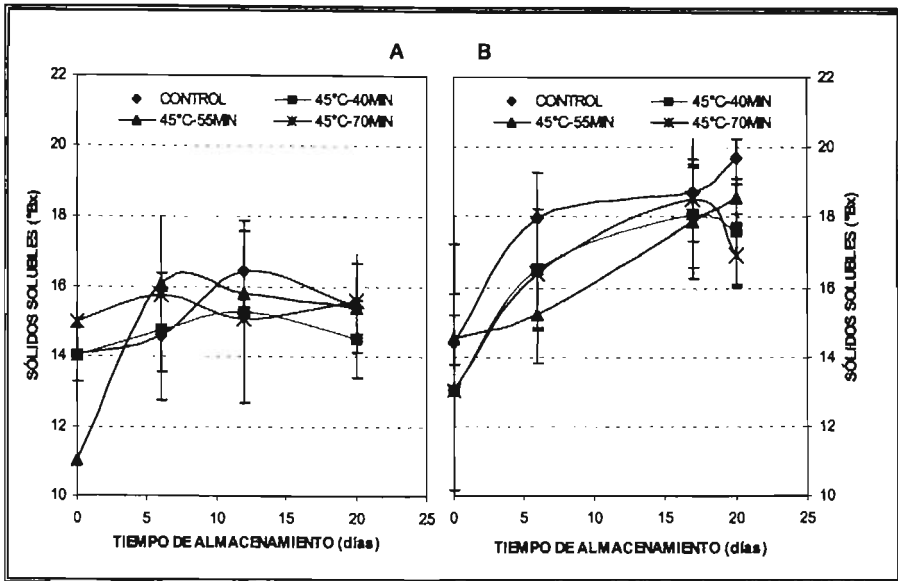


Figura 24. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en los sólidos solubles de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En el caso de los frutos sometidos a tratamiento hidrotérmico pero almacenados a 5°C (Figura 24B), el comportamiento no fue similar a los frutos almacenados a 20°C, debido a que los frutos control aumentaron de 14 °Bx hasta 20 °Bx desde la etapa del preclimaterio hasta el postclimaterio. En el caso de los frutos tratados a 45°C por 40, 55 y 70 minutos se pudo observar que presentaron niveles de 13 °Bx en el preclimaterio y aumentaron hasta 17 °Bx en el postclimaterio, observándose que los frutos con tratamiento hidrotérmico presentaron niveles ligeramente inferiores durante los 20 días de almacenamiento. Esto indica que el tratamiento y la temperatura de almacenamiento afectó la degradación o hidrólisis de los carbohidratos complejos a azúcares sencillos. Se encontró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los frutos control y los tratados a 45°C por 55 minutos al inicio del climaterio ya que se inhibió la maduración de los frutos tratados, mientras que al final de la maduración el tratamientos de 45°C por 70 minutos presentaron niveles inferiores de sólidos solubles que el resto de los frutos. Los resultados demuestran que el tratamiento hidrotérmico no afectó la formación de

azúcares, no así la temperatura de almacenamiento que influyó en el comportamiento del fruto.

Diferentes autores reportaron en otras variedades de mango resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo en donde los sólidos solubles presentaron un aumento al final de la maduración (Medlicott y Thompson, 1985; Doreyappa-Gowda y Huddar, 2001; Medlicott *et al.*, 1986b; Tripathi, 1980; Morga *et al.*, 1979; De León y De Lima, 1968; Agnihortri *et al.*, 1963). Por otra parte, en mangos almacenados a bajas temperaturas los resultados de este trabajo difieren con los reportados en otras variedades de mango en donde el contenido de sólidos solubles no alcanzó los niveles de los frutos almacenados a 20°C (Ledderman *et al.*, 1997).

Al comparar los resultados del presente trabajo se encontró que difieren con los obtenidos por otros autores al aplicar tratamientos hidrotérmicos, ya que reportaron un aumento en el contenido de sólidos solubles en los frutos tratados (Zambrano y Materano 1999; Nyanjage *et al.*, 2001).

En otros trabajos reportados utilizando diferentes tecnologías postcosecha demuestran un efecto en los sólidos solubles, en donde la variedad del mango y el tipo de tratamiento determinarán la respuesta, por lo que es difícil predecir un comportamiento al aplicar estas tecnologías (González-Aguilar *et al.*, 2001b; Krishnamurthy y Joshi, 1989; Zambrano *et al.*, 1997).

### **5.3.1.2 Acidez.**

La naturaleza de los ácidos orgánicos en el mango ha sido poco investigada. Nagy y Shaw (1980) señalaron que los principales ácidos que contribuyen a la acidez del fruto son los ácidos cítrico y málico. Se ha demostrado que los ácidos predominantes en mango son el ácido cítrico con pequeñas cantidades de ácido succínico y málico, y tartárico con pequeñas cantidades de cítrico (Sarker y Muhsi, 1981). La presencia de estos ácidos y los azúcares simples representan a los componentes más importantes en el desarrollo del sabor del fruto, por lo que aumentos en los sólidos solubles durante la maduración se verán acompañados con una disminución en la acidez del fruto, ya que

los niveles de ácidos orgánicos desciende debido a su utilización como sustrato respiratorio.

En la figura 25A se presenta el efecto de los tratamientos hidrotérmicos sobre la acidez de mango 'Manila'. Se puede observar que los valores disminuyen conforme transcurre la maduración. La tendencia es igual tanto para frutos control como para los tratados a 45°C por 40, 55 y 70 minutos almacenados a 20°C. Para el caso de los frutos almacenados a 5°C (Figura 25B) la acidez de los frutos disminuye durante la maduración, pero no tan drásticamente como a 20°C, esto se observó tanto en los frutos control como en los tratados con agua caliente, con un ligero aumento al final de la maduración.

En otros trabajos realizados en mangos, se encontró que la acidez titulable disminuyó (Medlicott y Thompson, 1985), este comportamiento concuerda con nuestros resultados en donde se encontró una disminución del porcentaje de acidez de 4 a 5 veces al final del almacenamiento. Estadísticamente se encontró que en los mangos 'Manila' almacenados a 20°C durante el inicio del climaterio, si hay diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos de 45°C por 40 y 55 minutos debido al estado fisiológico de los frutos, en el máximo climaterio (12° día) se observó un retraso en la maduración de los frutos tratados a 45°C por 70 minutos con respecto a los otros tratamientos y los frutos control, encontrándose diferencia significativa. Mientras que en los frutos almacenados a 5°C sólo se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en el máximo climaterio (17° día) comparando los frutos control y el tratamiento de 45°C por 70 minutos debido a que hubo un retraso de la maduración por la temperatura de almacenamiento.

A diferencia de los resultados encontrados en el presente trabajo, otros autores reportaron que al aplicar tratamientos térmicos y almacenamiento a bajas temperaturas la acidez titulable de pulpa fue significativamente baja en los frutos no tratados que en los tratados. Los mangos dañados fueron más ácidos que los no dañados, estos resultados si concuerdan con el presente trabajo en frutos almacenados a 5°C (Veloz *et al.*, 1977).

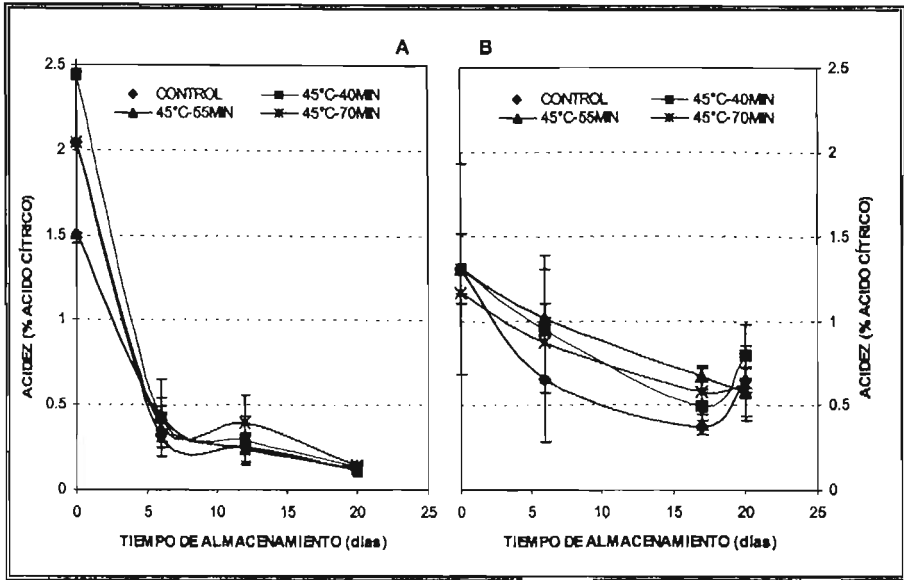


Figura 25. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la acidez de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

Por otra parte, utilizando otras tecnologías postcosecha se ha reportado que el recubrimiento de mangos 'Palmer' y 'Keitt' con ceras artificiales afectaron la acidez titulable, esto indica que es necesario realizar una evaluación de este parámetro posterior a la aplicación de cualquier tratamiento (Zambrano *et al.*, 1997).

Cabe señalar, que de acuerdo al tipo de mango se ha encontrado la presencia de diferentes ácidos orgánicos como lo demuestran los trabajos en mango 'Keitt', 'Badami', 'Alphonso' y 'Tommy Atkins', sin embargo para este estudio solo interesaba los cambios en la acidez y por lo tanto no se realizó un estudio de los ácidos orgánicos presentes (Medlicott y Thompson, 1985; Shashirekha y Patwardhan, 1976; Modi y Reddy, 1967; Medlicott *et al.*, 1986b).

### 5.3.1.3 pH.

El pH de un alimento es uno de los principales factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el procesado, el almacenaje y la distribución (Von der Becke, 1999). Los cambios en el pH se ven acompañados de una disminución de la acidez en el mango, ambos parámetros de calidad afectarán el sabor del fruto.

En la figura 26A se puede observar que el pH aumentó durante las diferentes etapas de maduración en todos los tratamientos hidrotérmicos, así como en el control. En frutos almacenados a 20°C se encontró que en la etapa de preclimaterio se observaron valores de pH=3 y después aumentaron a pH=5 en el inicio del climaterio, en el máximo climaterio es mínimo el aumento que se registró alcanzando un pH=5.4, posteriormente alcanzó un valor de pH=6 en el postclimaterio. En el análisis estadístico si se observó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) al inicio del climaterio debido al estado fisiológico de los frutos, y no se encontró diferencia significativa por el tratamiento, pero sí por el tiempo de almacenamiento.

En el caso de los mangos tratados hidrotérmicamente almacenados a 5°C (Figura 26B), en la etapa preclimaterica se inició con un valor de pH=5, aumentando ligeramente en el inicio del climaterio (5° día) a pH=5.6 y registrándose en el máximo climaterio (17° día) valores de pH=6, ya para el final de la maduración, no se registraron cambios considerables en los valores de pH, obteniéndose valores de pH=5.7, en todos los tratamientos, así como en el control. De acuerdo a los resultados obtenidos estadísticamente, podemos decir que si hubo efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) por el tiempo de almacenamiento y el tratamiento al final del proceso de maduración.

En trabajos con otras variedades de mangos se encontró que el pH se incrementó considerablemente durante la maduración, esto podría atribuirse a la disminución de la acidez (Baqui et al., 1977). Estos resultados concuerdan con lo obtenido en el presente trabajo relacionado con los cambios en el pH con respecto al estadio de maduración.



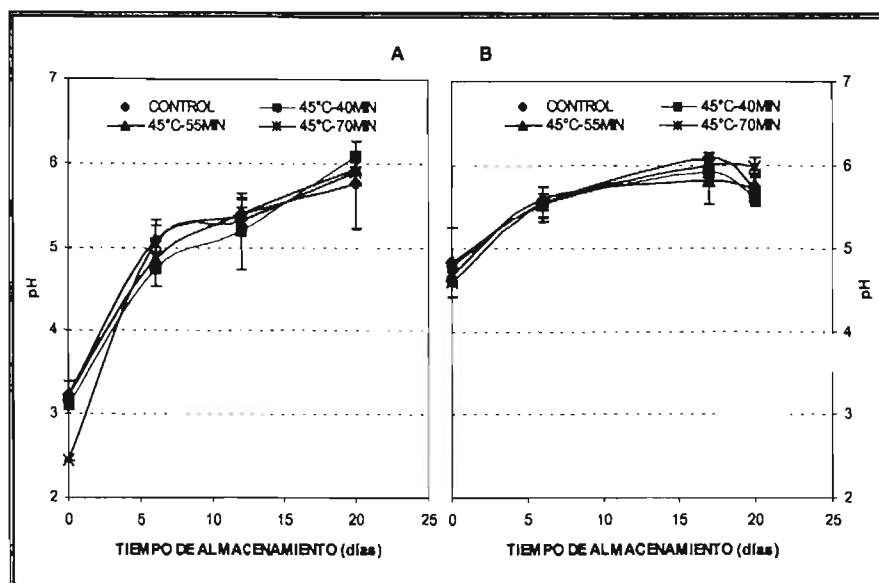


Figura 26. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el pH de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

#### 5.3.1.4. Firmeza.

Durante la maduración de los frutos se producen cambios o alteraciones en la firmeza debido al proceso de ablandamiento en las paredes celulares. Desde el punto de vista bioquímico, este proceso es atribuible a tres factores: la pérdida de turgencia que sigue a la erosión de las paredes y al descenso del contenido de azúcares neutros, la ruptura de las conexiones intracelulares que incluyen la disolución de la lámina media y a los ajustes en la composición y anatomía del fruto (Gross y Sams, 1984; Poovaiah et al., 1988; y Huber y Lee, 1986; citados por Ramos, 1999).

Entre algunos de los atributos que contribuyen a la calidad del mango, la apariencia y firmeza pueden ser de los más importantes (Lizada, 1993). Progresivamente la pérdida de la firmeza o el ablandamiento de los frutos de mango es una consecuencia de la maduración normal y envuelve un número de enzimas (Lazan y Ali, 1993). En otros frutos el ablandamiento ha sido primeramente atribuido a la despolimerización y solubilización de poliuronidos por acción de hidrolasas de la pared celular (Huber, 1983).

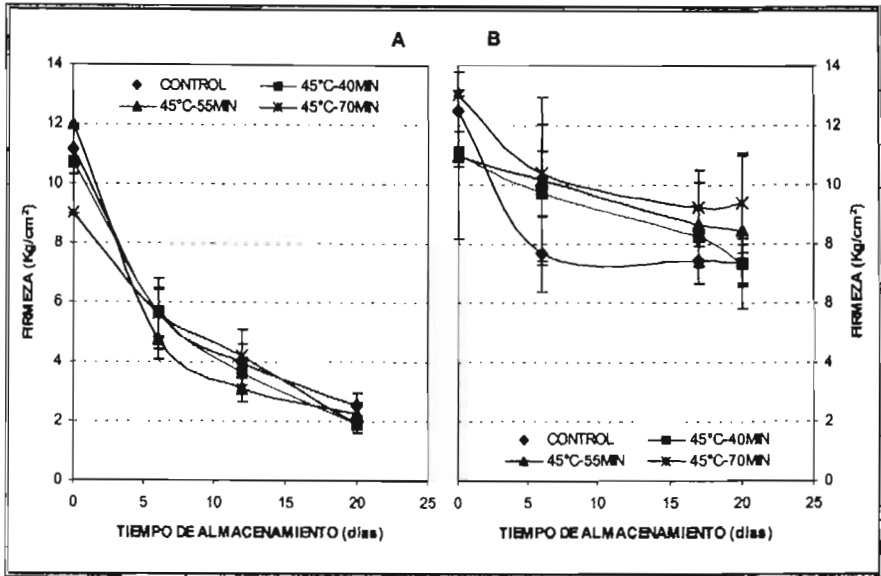


Figura 27. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la firmeza de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En la figura 27A se muestra el efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente en la firmeza de mangos 'Manila' almacenados a 20°C. En los frutos control durante el preclimaterio la firmeza se encontró en 11 kg/cm<sup>2</sup>, cuando inició el climaterio (6º día) disminuyó drásticamente hasta 5.6 kg/cm<sup>2</sup>, y en el máximo climaterio (12º día) llegan a valores de 4 kg/cm<sup>2</sup> aproximadamente, para posteriormente disminuir hasta 2.51 kg/cm<sup>2</sup> durante el postclimaterio (20º día), a pesar de ello, estos frutos son los que presentaron un valor mayor sobre los frutos tratados. Esta tendencia fue muy similar en los frutos tratados hidrotérmicamente, a 45°C por 40 y 55 minutos, e inclusive para 45°C por 70

minutos, pero este tratamiento inició con 9 kg/cm<sup>2</sup>, lo cual hace suponer que el tratamiento afectó significativamente a la firmeza. Lo cual nos indicó que al inicio del climaterio si hay diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos de 45°C por 55 y 70 minutos, en el máximo climaterio también se encontró diferencia significativa entre los tratamientos de 55 y 70 minutos, y al final de la maduración la diferencia significativa fue entre el control y 45°C por 70 minutos.

En el caso de los frutos sometidos a tratamientos hidrotérmicos pero almacenados a 5°C (Figura 27B), el comportamiento no fue similar, ni tan drástico como los frutos almacenados a 20°C, debido a que los frutos control iniciaron en 12.5 kg/cm<sup>2</sup>, en el inicio del climaterio (6° día) presentaron una disminución hasta 7.65 kg/cm<sup>2</sup> y posteriormente llegaron a 7.43 kg/cm<sup>2</sup> en el máximo climaterio (17° día) para finalmente llegar a 7.36 kg/cm<sup>2</sup> en el postclimaterio (20° día). No así en el caso de los frutos tratados a 45°C por 40, 55 y 70 minutos, se pudo observar que presentaron niveles de 12 kg/cm<sup>2</sup> aproximadamente, en el preclimaterio (0 día) y solo disminuyeron hasta 10 kg/cm<sup>2</sup> en el inicio del climaterio (6° día), en el máximo climaterio (17° día) llegaron a 8 kg/cm<sup>2</sup>, y ya al final del almacenamiento alcanzaron niveles de 7 kg/cm<sup>2</sup>, en el caso de los tratamientos de 45°C por 40 minutos y se mantuvieron los valores anteriores para los frutos con tratamiento a 55 y 70 minutos. Estadísticamente hubo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre los diferentes estadios de los frutos y se observó un efecto por el tratamiento ya que los frutos control no presentaron un cambio como los frutos tratados, ni como los frutos almacenados a 20°C. Se puede observar que la temperatura de 5°C afectó notablemente en la firmeza de los frutos ya que inhibió todos los cambios conducentes al ablandamiento del fruto. Este comportamiento puede explicarse ya que las bajas temperaturas inhiben la acción de pectinesterasa (PE) y poligalacturonasa (PG).

Estos cambios en la firmeza son de gran importancia ya que al aplicar un tratamiento postcosecha, se deberá evaluar su efecto en este parámetro, ya que está involucrado con el índice de maduración, en donde se relacionan los cambios en el aroma y en la firmeza al tacto, los cuales son provocados por cambios estructurales tales como: cambios en el grosor de la pared celular, permeabilidad del plasmalema y la cantidad de espacios intercelulares que contribuyen al ablandamiento de los tejidos (Laguado *et al.*, 1999). Existen numerosos trabajos que estudian los cambios en el ablandamiento de los frutos durante la maduración, los cuales se relacionan cambios en la estructura de la

pared celular, en la composición, en la solubilidad de sustancias pécticas y hemicelulósicas (Nelmes y Preston, 1968; Laguado *et al.*, 1999; Huber, 1983; Seymour y Gross, 1996).

En trabajos con diferentes variedades de mango, se ha demostrado que la firmeza fue afectada mucho más que cualquier otro parámetro durante la maduración, resultados que coinciden con los del presente trabajo (Doreyappa-Gowda y Huddar, 2001). Sin embargo, los resultados del presente trabajo difieren del comportamiento de otras variedades de mango al aplicar bajas temperaturas ya que no se encontraron diferencias significativas en frutos control y frutos almacenados a 5°C y transferidos a 21°C (McCollum *et al.*, 1993).

#### **5.3.1.5 Pérdida de peso.**

La maduración también necesita el mantenimiento del contenido original de agua de los tejidos (Pottí, 2000b). El agua es el compuesto más abundante en los productos perecederos (más del 70% del peso fresco), y es el que más rápido se pierde durante la respiración. Desde el punto de vista de postcosecha, el déficit de presión de vapor de agua es la medida más importante, pues mide la diferencia en la presión del vapor de agua al interior de un producto almacenado y su entorno (Manrique, 2002).

La principal causa de deterioro de un producto en almacenamiento es la debida a la pérdida de agua. La mayoría de los productos frescos presentan contenidos de agua superiores al 85% y esta se pierde principalmente en estado de vapor (y no en estado líquido), a través de rutas primarias tales como heridas, estomas y cutícula, fenómeno conocido como transpiración. El agua libre se encuentra en células estrechamente unidas entre sí y se mueve a través de espacios intracelulares interconectados, donde el agua se vaporiza y satura el ambiente intercelular (humedad relativa superior al 95%); por ende, lo que se tiene es vapor de agua saturado. La mayor concentración de vapor de agua está localizada en el producto y esta concentración a su vez, depende enteramente de la temperatura; de allí que entre más diferencia de temperatura exista entre el producto y el aire circundante, mayor será el gradiente de concentración de vapor de agua y por lo tanto, la posibilidad de pérdida de agua (SIM-CNP, 2001).

En la figura 28A observamos la pérdida de peso en mangos 'Manila' sometidos a tratamientos hidrotérmicos, almacenados a 20°C. Se observó un efecto por estadio en la pérdida de peso de los frutos. En los primeros estadios (E2) se observó una pérdida de 7%, y al llegar al máximo climaterio (E3) se llegaron a niveles entre el 10 y 15%, registrándose la menor pérdida en los frutos sin tratamiento. Al final del almacenamiento, no se presentó diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre los frutos tratados térmicamente (aproximadamente 20%), esto se debe a la pérdida de humedad, al haber transformaciones en compuestos del fruto, como son los carbohidratos, los cuales provocan modificación de la firmeza, y vuelven más susceptible al fruto al ataque de patógenos, este comportamiento también pudo deberse a que los mangos que permanecieron a 20°C, intercambiaron agua con el medio ambiente debido a la transpiración del fruto, provocando la pérdida de humedad. Sin embargo, los frutos tratados hidrotérmicamente en todas las condiciones presentaron un porcentaje de pérdida en un rango de 18-20% aproximadamente.

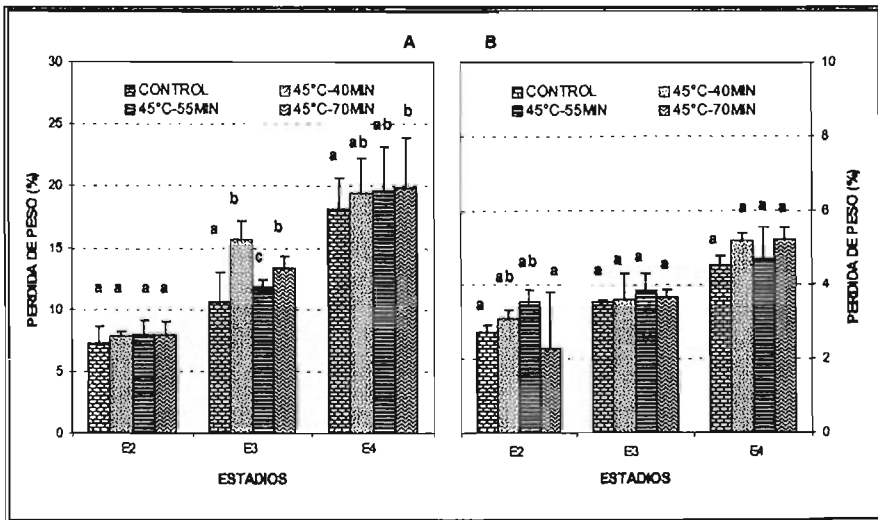


Figura 28. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la pérdida de peso de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B), durante los diferentes estadios de la maduración: E2 inicio del climaterio, E3 máximo climaterio, E4 postclimaterio.

Letras diferentes en cada estadio indican diferencia significativa entre tratamientos ( $P \geq 0.05$ ).

En los frutos tratados hidrotérmicamente, almacenados a 5°C (Figura 28B), se observó que los frutos presentaron una pérdida cinco veces menor que los frutos almacenados a 20°C a lo largo de los diferentes estadios de maduración. Al comparar los porcentajes de pérdida de peso de los frutos control con los tratados no se encontró un efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) por el tratamiento térmico, tampoco se registro un efecto por el estadio de maduración.

Al comparar los resultados del presente trabajo con los reportados para otras variedades de mango se encontró un comportamiento similar, ya que los mangos completamente maduros tuvieron la mayor pérdida de masa fresca (Mohammed y Brecht, 2002).

Otros trabajos demuestran que la aplicación de diferentes tecnologías postcosecha (tratamientos hormonales o aplicación de ceras) aplicadas a otras variedades de mangos, provocaron una reducción de la pérdida de peso, comportamiento que difiere al aplicar tratamientos hidrotérmicos (Ueda *et al.*, 1991; Zambrano *et al.*, 1997).

En el presente trabajo la pérdida de peso de los frutos fue atribuida a otros factores como las condiciones de almacenamiento, ya que los tratamientos térmicos no provocaron un efecto importante como ocurre en otros trabajos en donde una mala aplicación de estos tratamientos pueden inducir a grandes pérdidas de peso en los frutos.

#### **5.3.1.6 Color.**

El color en los vegetales es debido a diversos pigmentos, como la clorofila, que da el color verde, las antocianinas que imprimen el rojo y morado, y los carotenos, que se identifican con el amarillo y el anaranjado. La expresión del color está relacionada con todos los cambios en los parámetros de calidad, entre ellos: cambios en la composición, en el aroma, disminución en la firmeza, incremento en la susceptibilidad a enfermedades y la respiración. Los cambios de color ocurren por una combinación de diferentes factores. En primer lugar, durante la maduración el contenido de enzimas que se encargan de degradar a la clorofila se incrementa; segundo, los pigmentos amarillos, que permanecen enmascarados por la clorofila (ya que se encuentran sintetizados) se hacen evidentes; tercero, los pigmentos rojos se producen al existir un estímulo por luz.

especialmente en las zonas donde el fruto está expuesto. Por otro lado, el consumidor también relaciona la presencia de color con el desarrollo de atributos deseables (conversión de almidones en azúcares, reducción de la acidez, reducción de la firmeza) como dulzura y suavidad (SIM-CNP, 2002).

Durante la maduración de los frutos, uno de los cambios más evidentes es la pérdida del color verde de la clorofila, debido a que este pigmento se degrada, y su degradación provoca el desenmascaramiento de pigmentos subyacentes y la síntesis de otros pigmentos nuevos, apareciendo coloraciones características de cada fruto como amarillentas, debido a los carotenoides, o rojizas debido a antocianinas. Sin embargo, aunque los cambios de color son una característica común de la maduración, no es una característica universal, ya que existen frutos que solo alteran ligeramente su color a medida que avanza su maduración (Azcon-Bieto y Talon, 1993; Aina, 1990). La temperatura, composición química de la atmósfera, el tiempo de almacenamiento, la luz y el pH son factores que determinan la degradación de la clorofila durante la senescencia y el almacenamiento (Ramos, 1999).

Dentro de los parámetros de calidad se estudió el color de la piel de los frutos tratados hidrotérmicamente. Se evaluaron la luminosidad (L), el tono (hue) y el croma (C) durante el proceso de maduración a 20 y 5°C. La luminosidad va desde la reflexión nula (L=0) a reflexión difusa perfecta (L=100). En frutos almacenados a 20°C se observó que durante el preclimaterio los valores de L fueron aproximadamente de 60, tanto para los frutos control como para los frutos tratados. En el inicio del climaterio (6° día) aumentó hasta 68, alcanzando en el 12° día que coincide con el máximo climaterio un valor de L=95, para los frutos control y tratados hidrotérmicamente. En la etapa de postclimaterio se encontró un ligero aumento del valor de L (Figura 29A). Estadísticamente no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre los frutos tratados hidrotérmicamente y los frutos control durante las diferentes etapas de maduración.

Estos cambios en el color también están asociados los cambios en el aroma y en la firmeza al tacto, dado por los cambios estructurales tales como: cambios en el grosor de la pared celular, de permeabilidad, y la cantidad de espacios intercelulares que contribuyen al ablandamiento de los tejidos (Laguado *et al.*, 1999).

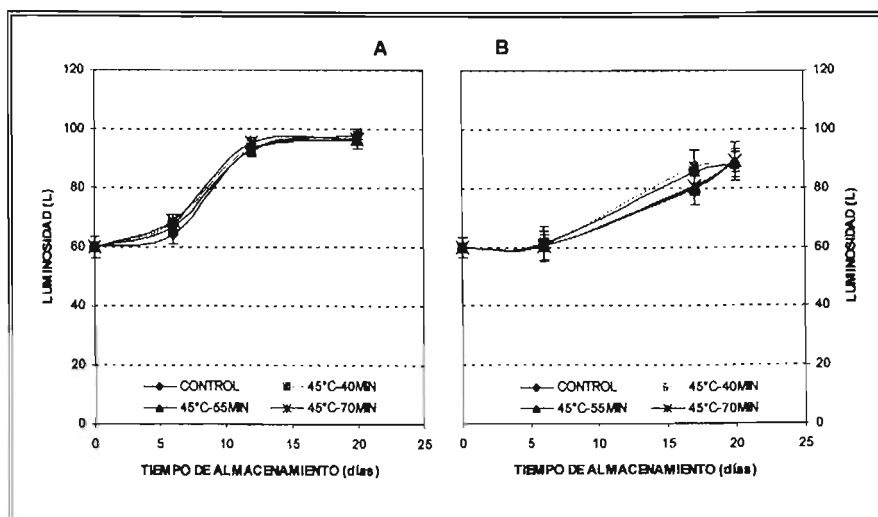


Figura 29. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la luminosidad de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En la figura 29B se muestran los valores de luminosidad en mangos 'Manila' tratados hidrotérmicamente y almacenados a 5°C. Se observó que la luminosidad (L) presentó valores de 60 en toda la etapa del preclimaterio, no encontrándose diferencia entre los frutos control y los tratados. Después se incrementó la luminosidad conforme avanzó la maduración del fruto alcanzando valores alrededor de L=87, una vez terminado el período de almacenamiento, estos valores también se mantuvieron igual tanto en los mangos tratados, como en el control. Como se pudo observar, la luminosidad no se afectó por los tratamientos térmicos, aunque en los mangos almacenados a 5°C se registró que los valores finales de L fueron inferiores a los frutos almacenados a 20°C. Tampoco se encontró diferencia significativa [ $P \geq 0.05$ ] entre los frutos tratados hidrotérmicamente y los frutos control durante las diferentes etapas de la maduración.

Otro componente del color fue el tono ( $^{\circ}\text{Hue}$ ), en donde  $^{\circ}\text{Hue}=0$  equivale a color rojo púrpura,  $^{\circ}\text{Hue}=90$  amarillo,  $^{\circ}\text{Hue}=180$  azul-verde y  $^{\circ}\text{Hue}=270$  azul. Como se puede observar en la figura 30A, los mangos 'Manila' almacenados a 20°C presentaron en toda



la etapa del preclimaterio valores de °Hue=65, y en el 6° día aumentaron a °Hue=78 y se observó un ligero aumento a °Hue=84 para todos los casos lo cual coincide con el máximo climaterio. En el postclimaterio disminuyeron ligeramente estos valores debido posiblemente a la presencia de manchas negras en la piel. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre los valores obtenidos para los frutos control y los frutos tratados hidrotérmicamente. Durante la maduración ocurren cambios en el color, que va desde el verde al amarillo, lo que se debe al anabolismo de los pigmentos en los organelos celulares, tales como las flavonas, las antocianinas y los carotenoides que proporcionan al fruto los colores secundarios, sobre una base de color primario, generalmente verde o amarillo, determinada por la presencia de la clorofila o de xantofila.

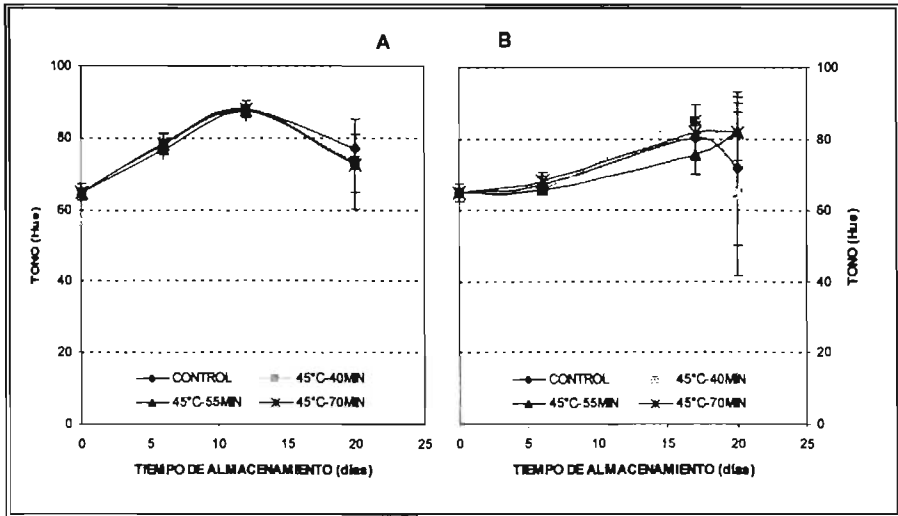


Figura 30. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el tono de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En la figura 30B se muestran los valores de tono en los frutos tratados y almacenados a 5°C. Se observaron en la etapa del preclimaterio valores de 65 para todos los frutos sometidos a las diferentes condiciones de tratamiento y el control, a partir del 17° día el tono aumentó mínimamente alcanzando valores de °Hue=80 y al final del

almacenamiento se observó un ligero descenso principalmente del control y los frutos tratados a 45°C por 40 minutos. De los resultados se puede observar que los tratamientos térmicos no afectaron el tono del fruto, sin embargo, al compararlos con los frutos almacenados a 5°C se pudo pensar que estos tratamientos de 45°C por 55 y 70 minutos ayudaron a mantener el tono en los frutos. Estadísticamente se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) solamente al final del almacenamiento entre los frutos control y los tratados térmicamente.

Por último el croma indica la intensidad de color, este fue evaluado en los mangos 'Manila' tratados hidrotérmicamente y control. En los frutos almacenados a 20°C (Figura 31A), se encontraron valores aproximadamente de  $C=40$  en la etapa del preclimaterio, y en el 6° día hubo un incremento a  $C=50$ , para posteriormente disminuir a valores de  $C=48$  aproximadamente, y llegar al final del almacenamiento a  $C=53$ . Los frutos almacenados a 5°C (Figura 31B), tuvieron un comportamiento similar, iniciaron con  $C=40$  durante los primeros 6 días se mantuvieron estos valores, y a partir del 12° día empezaron a aumentar hasta alcanzar los valores de los frutos almacenados a 20°C. De los resultados se puede mencionar que no hubo un efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ) por los tratamientos térmicos y que el croma no se afectó por las bajas temperaturas de almacenamiento.

Los resultados del presente trabajo difieren de trabajos con otras variedades de mango en donde el parámetro luminosidad se mantuvo más o menos constante y luego decreció al inicio de la senescencia. Sin embargo, en el caso del croma se ha reportado un comportamiento similar al presente trabajo en las variedades 'Palmer' y 'Keitt'. Este parámetro debe ser cuidadosamente evaluado según la variedad del mango que se estudie, ya que en el caso de la variedad 'Manila', los cambios en el color coinciden con los cambios en los otros parámetros de calidad, a diferencia de las variedades 'Keitt' y 'Palmer' (Medlicott *et al.*, 1986a).

Al aplicar los tratamientos térmicos no se encontró un efecto significativo a diferencia de trabajos en donde se reporta que el tratamiento con calor mostró un efecto significativo en la luminosidad, el tono y la intensidad de mangos 'Palmer' (Zambrano y Materano, 1999).

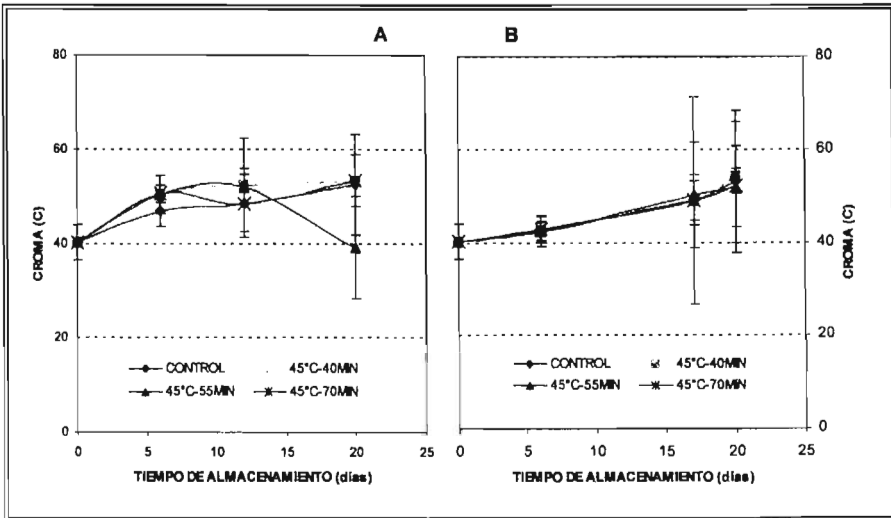


Figura 31. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el cromá de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

El metabolismo de los pigmentos y de ahí el desarrollo del color se ha demostrado ser dependiente de la temperatura en un sin número de frutas. Hatton *et al.* (1968) encontraron que las variedades 'Florida' maduran a 26.2-32.2°C y frecuentemente poseen un moteado en la piel indicando una inhibición del desverdecimiento, aunque esto no ocurre en mangos 'Keitt' o 'Kent' a 26.7°C. Similares resultados fueron mostrados por Medicott *et al.* (1986a), donde el desverdecimiento de 'Tommy Atkins' fue inhibido a 37°C, mientras que no hubo efecto mostrado en mangos 'Kent' o 'Haden'. Así el efecto de la temperatura en el metabolismo de pigmentos en mango también parece ser dependiente de la variedad (Medicott *et al.*, 1986a).

Mohammed y Brecht (2002), reportaron que en mangos 'Tommy Atkins' el color de la superficie de la epidermis cambió apreciablemente después de 18 días a 5°C, resultados que coinciden con lo encontrado en el presente trabajo.

En otros trabajos se reportó que hubo un retraso en el desarrollo de color en mangos 'Kent' no tratados con metil jasmonato, posiblemente como una consecuencia de la temperatura de daño (5°C) usada. Ha sido observado que el anormal fracaso en la maduración puede ocurrir en mangos después de la exposición a temperaturas de daño por frío (Paull, 1990b). Frutos tratados con metil jasmonato desarrollaron colores rojo y amarillo más intensos y conservaron en general la calidad comparados con el control. El almacenamiento en frío mas el periodo de vida de anaquel suprimió el desarrollo de color (a y b) en los mangos comparados con aquellos almacenados a 20°C [González-Aguilar et al., 2001a]. Este comportamiento concuerda con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

### 5.3.2 Parámetros fisiológicos.

#### 5.3.2.1 Respiración.

La respiración es el proceso por el cual el oxígeno atmosférico es aprovechado para metabolizar compuestos de almacenamiento (azúcares y almidón) para formar diversos productos derivados como: CO<sub>2</sub>, agua y energía (calor). La respiración involucra 3 procesos metabólicos vitales íntimamente ligados: glicólisis, ciclo de Krebs y el sistema del citocromo (o transporte de electrones) (Manrique, 2002).

La actividad fisiológica en frutas recolectadas puede ser esencial para el logro de la madurez o puede concluir a un deterioro de la calidad. La senescencia implica la desorganización progresiva de los procesos metabólicos de la célula. El mantenimiento de la integridad de las células y de su metabolismo requiere un suministro constante de energía procedente de la respiración (Pottf, 2000a).

La velocidad de respiración, medida por la producción de dióxido de carbono o por el consumo de oxígeno, es una buena media de la velocidad de metabolismo y sirve para predecir el almacenamiento de frutas. En la figura 32A podemos observar los cambios de respiración a lo largo del almacenamiento en mangos 'Manila' tratados hidrotérmicamente a diferentes condiciones y almacenados a 20°C. En los frutos control, se observó que durante el preclimaterio la producción de CO<sub>2</sub> fue de aproximadamente 25 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, y es hasta el 8º día que se presenta el máximo climaterio, alcanzando valores alrededor de 42.21 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, en el noveno día llega al

postclimaterio al disminuir la respiración. Los frutos sometidos a los tratamientos de 45°C por 40 y 55 minutos, presentaron un comportamiento similar a los frutos control, pero con valores mas altos en el máximo climaterio, de 62.23 y 112.9 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente. Los frutos sometidos a tratamientos de 45°C por 55 minutos presentaron un retraso en el inicio del climaterio. En el caso de los frutos tratados con 45°C por 70 minutos, los niveles de CO<sub>2</sub> alcanzaron valores de 90.18 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en el máximo climaterio, presentando un adelanto de un día en alcanzar el máximo climaterio comparándolos con los frutos control.

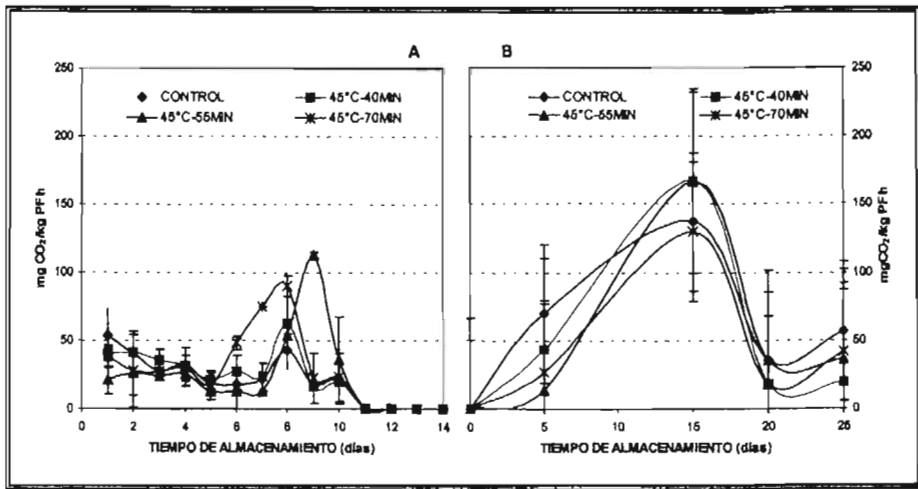


Figura 32. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la respiración de mangos 'Manila' almacenados a 20°C (A) y a 5°C (B).

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En el caso de los mangos 'Manila' tratados hidrotérmicamente, almacenados a 5°C (Figura 32B), los frutos control y tratados con todas las condiciones comenzaron su maduración muy lentamente y al quinto día se presentó el inicio del climaterio con un aumento en la respiración alcanzando valores alrededor de 69 y 43 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, para los frutos control y tratados a 45°C por 40 minutos, pero no así para los tratamientos de 55 y 70 minutos porque los valores fueron mucho menores. En el día quince, los mangos alcanzaron el máximo climaterio con valores aproximados de 137 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> para los frutos control y de 167 mg CO<sub>2</sub> Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> para los de 45°C por 40 y 55 minutos, en cambio fue mas bajo el valor registrado para los de 70 minutos (130 mg CO<sub>2</sub>

Kg PF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) y finalmente se observó un descenso en la respiración al final del almacenamiento. Sólo cuando va a efectuarse la maduración, la tasa de respiración asciende hasta el pico climaterico y luego declina de manera lenta. Se debe reconocer que aunque en el máximo período climaterico la velocidad del proceso sea notable con relación al nivel de la respiración en postcosecha, por lo general es sólo unas cuantas veces mayor que la del fruto maduro, y es muy pequeña en comparación con la que registra un fruto joven.

Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con los de otros autores, se encontraron resultados similares en donde la producción de CO<sub>2</sub> fue superior en los frutos almacenados a 5°C y transferidos a 20°C con respecto a los frutos almacenados solamente a 20°C, esto concuerda con trabajos con mangos 'Keitt' y 'Tommy Atkins' en donde la producción de CO<sub>2</sub> aumentó después del almacenamiento a bajas temperaturas (Mohammed y Brecht, 2002; Burg y Burg, 1962; Veloz *et al.*, 1977; McCollum *et al.*, 1993).

Por otra parte, en el presente trabajo se encontró que los tratamientos térmicos si afectaron la magnitud de la respiración y no se logró un retraso en el día en el que alcanzaba el máximo climaterico, como se esperaba. Al contrario se presentó un incremento en la cantidad de CO<sub>2</sub> producido en los mangos tratados y almacenados a 20°C, y en los almacenados a 5°C los niveles de CO<sub>2</sub> fueron superiores que los almacenados a 20°C, suponiendo una aceleración de la respiración por el estrés que presentó el fruto ante el almacenamiento a bajas temperaturas.

### 5.3.3 Evaluación sensorial.

La sensación de firmeza y sabor son una combinación de sensaciones derivadas desde los labios, la lengua, las paredes de la boca y los dientes, ya que cada área es sensible a pequeñas diferencias de presión y responde a atributos de los productos. En el sabor entran en juego dos factores: sabor y aroma. Durante la madurez, se dan cambios de composición relacionados con el sabor, firmeza y apariencia final. Entre estos cambios está la degradación de almidones en azúcares simples (por medio de enzimas amilolíticas); el fruto sabe más dulce. Por otro lado, la acidez disminuye porque los ácidos (málico, cítrico, ascórbico, pirúvico) son degradados y la fruta es menos ácida,

esta acidez o proporción de acidez no combinada con cationes es un parámetro bastante objetivo de la acidez que se percibe por el gusto. También los taninos y fenoles disminuyen (estas sustancias evitan que el fruto sea dañado antes de la madurez al no ser "agradables" para insectos, hongos y otros), con lo cual el fruto baja sus defensas pero también intervienen en el sabor de los frutos y lo hace más agradable; son responsables del amargor y la astringencia de muchos frutos y forman parte de los pigmentos. Aunado a lo anterior, varias enzimas actúan sobre las pectinas (que dan rigidez a los tejidos), con lo que se debilita la pared celular y la fruta se hace más suave (SIM-CNP, 2002).

El sabor de la fruta se basa principalmente en el balance entre azúcares y ácidos orgánicos, y numerosos compuestos del aroma (Medlicott y Thompson, 1985). Por lo que se realizó un análisis sensorial de los mangos 'Manila' control y tratados a 45°C por 40, 55 y 70 minutos, almacenados a 20°C y completamente maduros, para conocer si dichos tratamientos afectaban sus propiedades sensoriales. Los resultados de la pruebas de atributos aplicadas a los panelistas se reportan en la tabla 14.

Los panelistas evaluaron los atributos de aroma, firmeza y sabor siguiendo una escala de evaluación de 1-5. Los frutos control fueron evaluados como frutos aromáticos (3.42) y dulces (3.33), con respecto a los frutos tratados térmicamente que muestran valores ligeramente menores y podrían describirse como ligeramente aromáticos y dulces, lo que haría suponer que es debido a los tratamientos que se provocaron estos cambios. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ), ni en sabor ni en aroma. Respecto a la firmeza, el panel calificó a los frutos tratados a 45°C por 40 minutos ligeramente más altos que a los frutos control y que los otros dos tratamientos. El análisis estadístico no muestra diferencias significativas entre las muestras ( $P \geq 0.05$ ).

Tabla 14. Análisis sensorial de pulpa de mango 'Manila' almacenado a 20°C.

| CARACTERÍSTICA | CONTROL       | 45°C/40MIN    | 45°C/55MIN     | 45°C/70MIN     |
|----------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| AROMA          | 3.42 ± 0.73 a | 2.45 ± 0.95 b | 3.06 ± 1.19 ab | 2.72 ± 1.02 ab |
| FIRMEZA        | 1.84 ± 1.20 a | 1.89 ± 0.85 a | 1.85 ± 1.26 a  | 1.71 ± 1.06 a  |
| SABOR          | 3.33 ± 0.81 a | 2.80 ± 1.03 a | 2.93 ± 1.02 a  | 2.82 ± 1.09 a  |

Letras iguales en cada atributo indican que no existe diferencia significativa entre tratamientos ( $P \geq 0.05$ ).

#### 5.4 Desarrollo del método analítico para determinar poliaminas en mangos por electroforésls capilar.

Las poliaminas son pequeñas moléculas, cuya estructura se observa en la figura 33. Las poliaminas contienen una gran cantidad de grupos amino los cuales por sus características básicas pueden protonarse formando cationes cuando se encuentran disueltos en un medio con bajo pH. De la estructura también podemos observar que estos compuestos no poseen grupos cromóforos que pudieran generar la absorción de luz ultravioleta o visible. Por esta razón no podemos realizar la detección de estos compuestos utilizando la absorción directa, de tal forma que para poder detectarlos se debe utilizar la absorción indirecta.

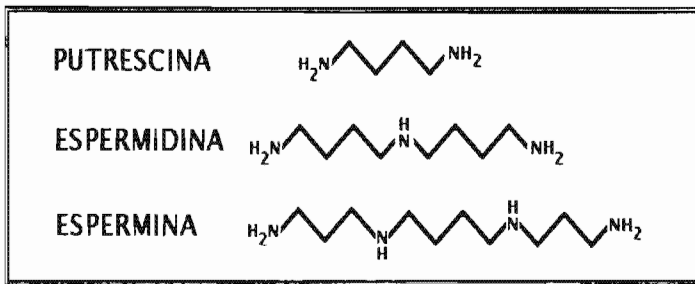


Figura 33. Estructura molecular de las poliaminas: Putrescina, Espermidina y Espermina.

En la absorción indirecta el buffer de corrida utilizado durante la determinación es el que debe absorber, a fin de que las poliaminas sean detectadas por el detrimento de la absorción a su paso por el detector, lo cual se ilustra en la figura 34.

##### 5.4.1 Influencia del tipo de buffer para la detección indirecta.

Para llevar a cabo la detección indirecta se realizó el estudio de tres diferentes buffers que poseen absorción en el UV. El primero se preparó de una solución de imidazol 5 mM, pH 3.0, el segundo fue una solución de 4-metil bencil amina 5 mM, pH 3.0 y el tercero fue una solución de sulfato de cobre 4 mM con la adición de ácido fórmico 4 mM, pH 3.0. Los espectros de absorción de estas soluciones buffer pueden observarse en la figura 35, todos ellos poseen una absorción considerable en el rango de UV alrededor de 200 a 230 nm. El buffer de imidazol y el de sulfato de cobre con ácido fórmico poseen un solo



máximo de absorción a 206 y 200 nm, respectivamente, mientras que la 4-metil bencil amina tiene dos máximos a 200 y 211 nm y un hombro a 216 nm. Los electroferogramas obtenidos en la medición de una solución de poliaminas estándar con cada uno de estos 3 buffers como electrolito soporte, pueden verse en la figura 36.

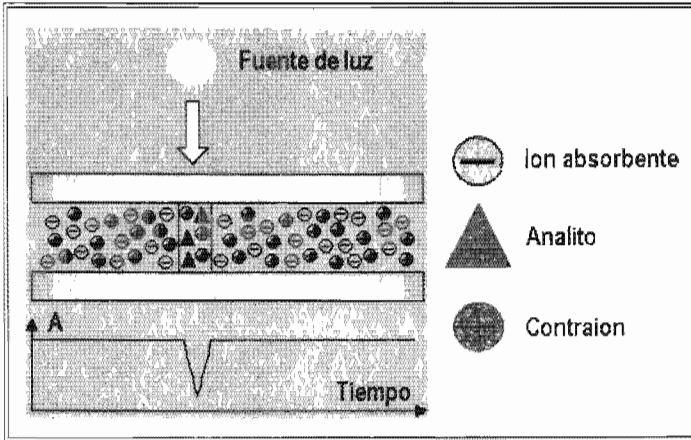


Figura 34. Esquema de cómo se lleva a cabo la detección indirecta.

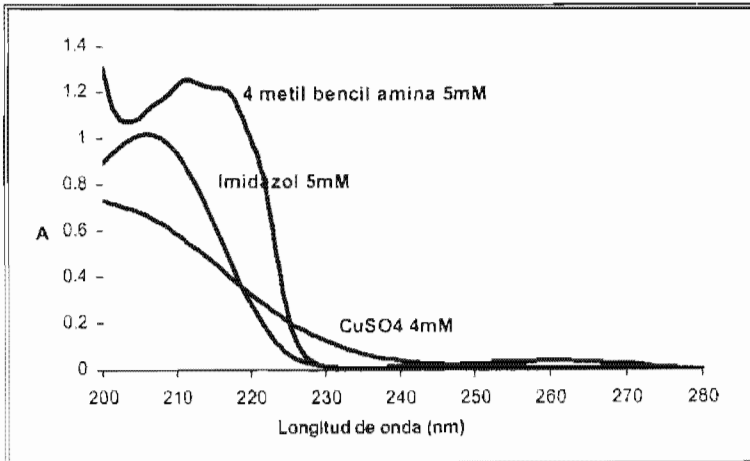


Figura 35. Espectros de absorción de los buffers estudiados para ser utilizados en la detección indirecta de poliaminas.

Se puede observar en la figura 36 claras señales de las poliaminas cuando se utilizaron tanto el buffer de imidazol como la solución de cobre. En cambio, cuando se corrió el de 4-metil bencil amina, se observó una gran variación en la línea base sin señales evidentes de los analitos, por lo que el buffer seleccionado resultó ser el sulfato de cobre con la adición de ácido fórmico ( $\lambda_{\text{óptima}}=200 \text{ nm}$ ) ya que permitió ver claramente la señal de las poliaminas sin que existiera una variación considerable de ruido de la línea base.

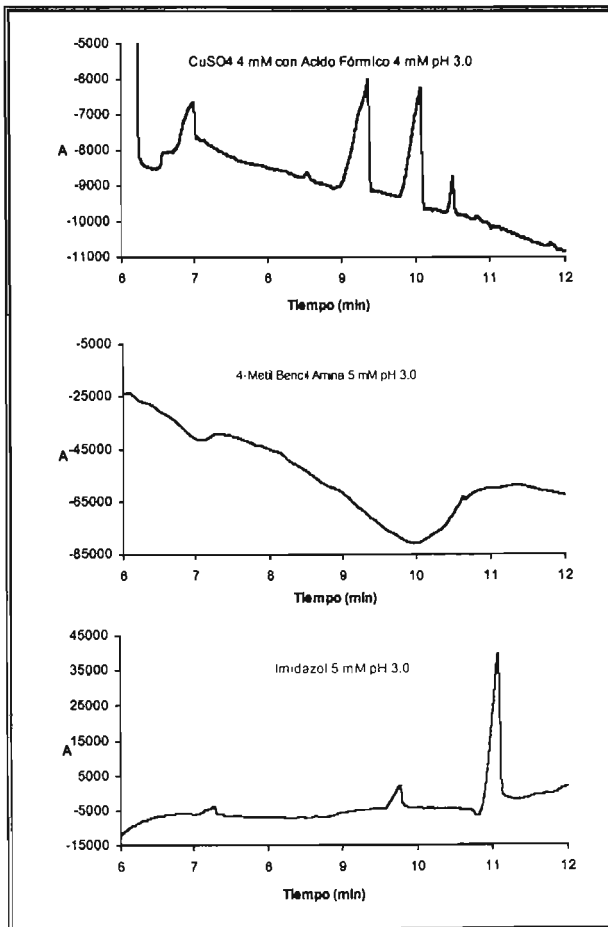


Figura 36. Electroferogramas obtenidos en la medición de una mezcla de poliaminas estándar utilizando diferentes buffers para la detección indirecta. Longitud de onda de detección 200 nm.

### 5.4.2 Influencia del pH del buffer.

Se realizó un estudio de la influencia del pH en la separación de las poliaminas utilizando el buffer de sulfato de cobre con ácido fórmico, como sabemos las poliaminas son compuesto básicos pues poseen grupos amino en su estructura, por lo que el estudio se realizó a valores de pH ácidos (3 a 6) con el fin de tener a los analitos en su forma catiónica (cargados positivamente). Los electroferogramas de este estudio se pueden observar en la figura 37.

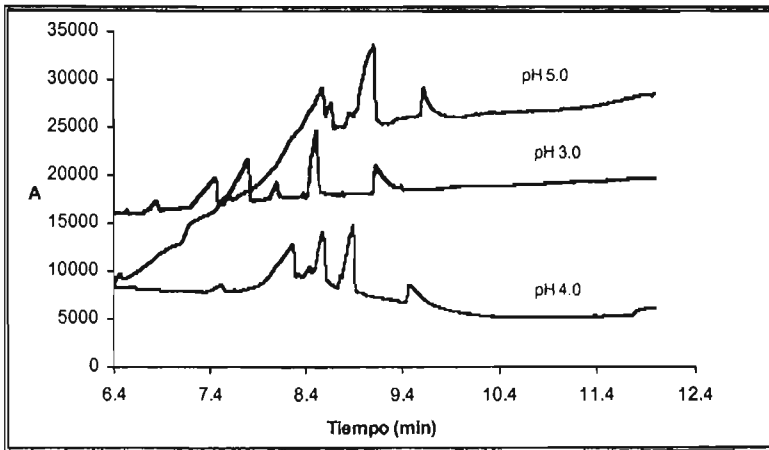


Figura 37. Electroferogramas de la influencia del pH en la separación de las poliaminas.

En la figura 37 se muestra que tanto la resolución como la forma de los picos de los analitos mejoró con la disminución del pH, ya que a pH's mayores los picos tienden a traslaparse. Esto puede deberse al aumento en la movilidad de los analitos conforme disminuye el pH ya que se aumenta la fracción de la especie cargada. Lo que se confirmó con la disminución del tiempo de migración de las poliaminas con la disminución del pH.

Para la asignación del orden de elusión de las poliaminas se corrieron tanto la mezcla de estas, como cada uno de los estándares por separado (50 ppm para todos los casos) bajo las mismas condiciones. En la figura 38 se puede observar que la putrescina presentó el tiempo de elusión más pequeño, lo cual es comprensible ya que es la

molécula con menor peso molecular, seguida de la espermina, mientras que la última en eluir es la espermidina. Se esperaba que la espermidina por ser la segunda más ligera fuese la segunda en eluir pero no ocurrió así, ya que eluyó primero la espermina, esto sugiere alguna posible interacción de la espermidina con los constituyentes del buffer.

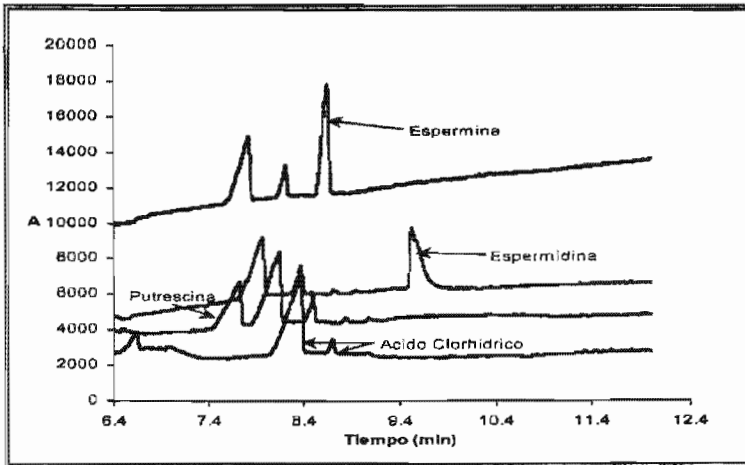


Figura 38. Electroferogramas para la confirmación del orden de elusión de las poliaminas. Condiciones Buffer de sulfato de cobre mas ácido fórmico 4mM pH 3.0, 10 KV, 25°C, inyección 1 psi por 4 seg.

### 5.4.3 Influencia del voltaje de separación.

Para seleccionar el voltaje de separación se realizaron experimentos con la variación de este parámetro, los cuales pueden verse en la figura 39. Los voltajes de separación fueron variados en 10, 20 y 30 KV, encontrándose que a muy altos voltajes los analitos no logran resolverse adecuadamente, mientras que a muy bajos voltajes el tiempo de análisis se incrementó considerablemente hasta mas de 15 minutos, por lo que se seleccionó un voltaje medio de 20 KV donde los analitos logran resolverse con un tiempo de análisis aceptable.

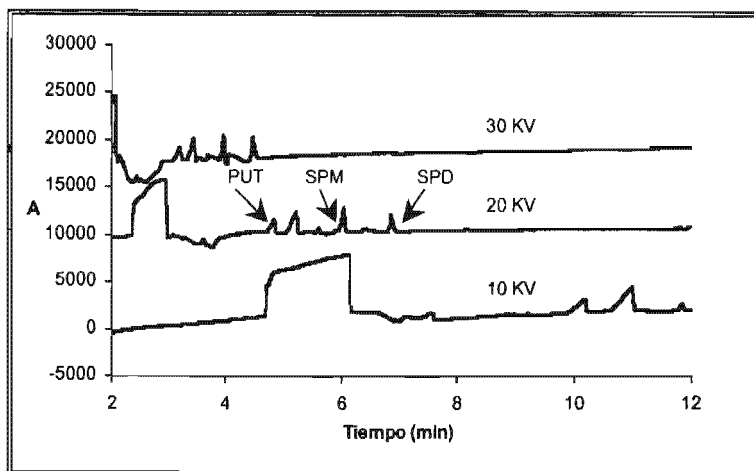


Figura 39. Electroferogramas de la influencia del voltaje en la separación de poliaminas.

#### 5.4.4 Influencia del tipo de ácido utilizado en la preparación de la muestra.

Todas las soluciones estándar anteriores se prepararon en ácido clorhídrico 0.1 N, pero para la extracciones de las muestras de mango 'Manila' se utilizó ácido perclórico 0.2 N, ya que en estudios anteriores se encontró que es el mejor disolvente para la extracción de poliaminas. El electroferograma de la mezcla de estándares de poliaminas en ácido perclórico se muestra en la figura 40.

Podemos observar en la figura 40 que los tiempos de migración para cada una de las poliaminas varían dependiendo del ácido que se utilizó para la dilución, utilizándose el doble de concentración de ácido perclórico (0.2 N) en comparación al ácido clorhídrico (0.1 N). También puede notarse que a pesar de que ambas muestras tienen concentraciones comparables la señal de los analitos fue mayor cuando se utilizó ácido perclórico. Debe hacerse notar que el orden de elusión de la espermina y la espermidina varía dependiendo del tipo de ácido en que se prepare la muestra lo cual se muestra en la figura 40, esto nos sugiere que existe alguna posible interacción de estas poliaminas con algún componente del buffer. Se encontraron estudios reportados en la literatura afirmando que las soluciones de ácidos fuertes son buenos disolutores de las poliaminas,

siendo el mejor el ácido perclórico. Por lo anterior, se eligió el ácido perclórico como disolvente ideal para la extracción y determinación de las poliaminas.

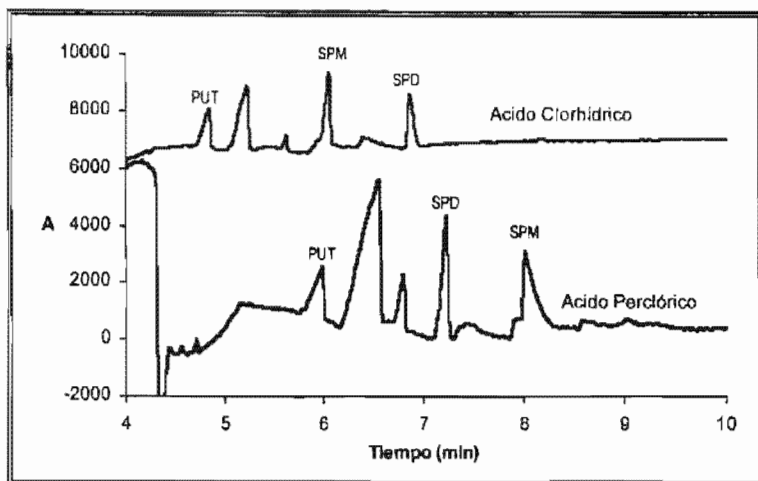


Figura 40. Electroferograma de los estándares de poliaminas en diferentes ácidos (clorhídrico y perclórico).

En la tabla 15, se muestran los diferentes parámetros estudiados para la optimización del método para la determinación de poliaminas.

Para realizar la cuantificación de las diferentes poliaminas se construyeron las curvas de calibración para cada una de ellas que van desde 5 hasta 100 ppm para putrescina y espermina, mientras que para espermidina de 5 hasta 155 ppm. En la tabla 16 podemos observar los parámetros obtenidos de la regresión lineal por mínimos cuadrados para cada una de las curvas de calibración.

Tabla 15. Resumen de las condiciones finales encontradas para el monitoreo de las PA's en mangos 'Manila' por EC.

| PARÁMETRO                | CONDICIÓN   |
|--------------------------|---|
| Buffer de Corrida        | CuSO <sub>4</sub> + CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>    |
| Concentración            | 4 mM  |
| pH                       | 3.0   |
| Capilar                  | Sílice fundida  |
| Longitud total           | 61 cm   |
| Longitud al detector     | 50.1 cm   |
| φ <sub>interno</sub>     | 0.5 μm  |
| Temperatura muestra      | 15°C  |
| Voltaje de separación    | 20 KV   |
| Corriente                | Aprox. 30 μA  |
| Detección                | λ=200 nm  |
| Soluciones de lavado     | NaOH (0.1 N)<br>Agua desionizada<br>Buffer de corrida |
| Lavado del capilar       |   |
| 1. Con agua desionizada  | 20 psi por 1 min                                      |
| 2. Con NaOH 0.1N         | 20 psi por 3 min                                      |
| 3. Con agua desionizada  | 20 psi por 1 min                                      |
| 4. Con buffer de corrida | 20 psi por 1 min                                      |
| Inyección de la muestra  | 1 psi por 4 seg                                       |
| Separación de la muestra | 20 KV por 12 min                                      |

φ = Diámetro interno

Tabla 16. Parámetros estadísticos de las curvas de linealidad de cada poliamina.

| Poliamina   | m      | b       | R <sup>2</sup> | LD     |
|-------------|--------|---------|----------------|--------|
| Putrescina  | 596.11 | 1686.20 | 0.9946         | 10 ppm |
| Espermidina | 406.15 | 1840.10 | 0.9992         | 5 ppm  |
| Espermina   | 374.16 | 695.91  | 0.9807         | 5 ppm  |

m = pendiente, b = ordenada al origen, R<sup>2</sup>= coeficiente de determinación, LD = límite de detección (señal/ruido = 2).

Se realizaron algunas mediciones preliminares de las muestras de pulpa y piel de mango 'Manila'. La preparación de la muestra se realizó como fue descrito en la sección 4.8 de materiales y métodos. En el caso de las muestras de pulpa al hacer un análisis directo de la extracción de las poliaminas con ácido perclórico se observaron

señales muy grandes, una de las cuales es debida a la espermidina, y las restantes al ácido perclórico. Con el fin de que, la señal de la espermidina pudiera interpolarse en la curva de calibración se realizaron diferentes diluciones de la muestra problema de pulpa adicionándole ácido perclórico los resultados pueden verse en la figura 41. Se decidió utilizar la dilución de 1:1 en pulpa ya que el área de pico de la espermidina pudo ser interpolado aproximadamente a la mitad de la curva de calibración.

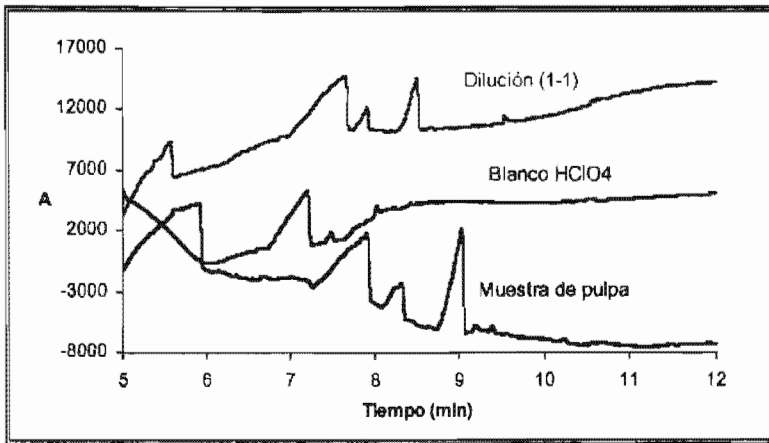


Figura 41. Electroferogramas del análisis de pulpa de mango 'Manila' a diferentes diluciones.

En el caso de pruebas preliminares para piel de mango se realizó una medición directa después del pretratamiento indicado en la sección 4.8 de materiales y métodos. El electroferograma obtenido presentó unas señales muy grandes (Figura 42), una de las cuales es debida a la espermidina y el resto corresponde al ácido perclórico. Se realizaron diluciones adicionando ácido perclórico, con el fin de obtener una área del pico de espermidina que se pudo interpolar en la curva de calibración. Se seleccionó una dilución 1:25 por presentar una área que se puede interpolar aproximadamente a la mitad de la curva de calibración.



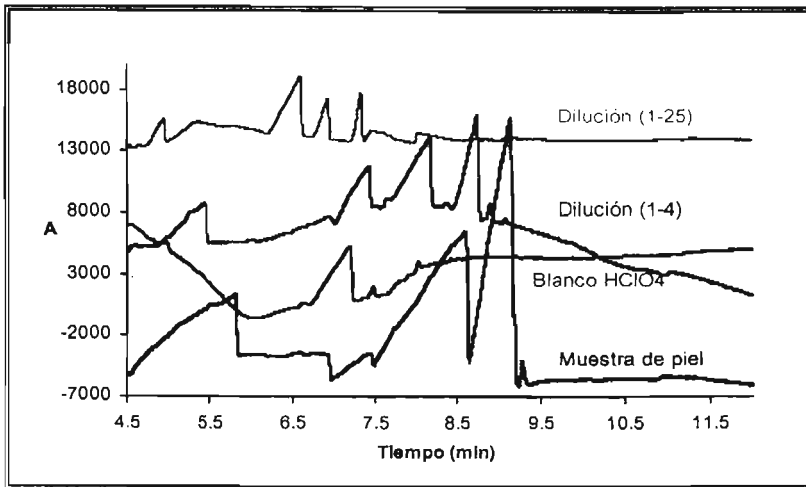


Figura 42. Electroferogramas del análisis de piel de mango 'Manila' a diferentes diluciones.

Construida ya la curva de calibración (Figura 43) y sabiendo que a las muestras de pulpa se les tuvo que realizar una dilución 1:1 mientras que a las de piel una dilución de 1:25, se procedió al análisis de las muestras de mango.

Los resultados se obtuvieron después de su interpolación en la curva de calibración.

La interpretación de la variación de los niveles de espermidina por estadio y por tratamiento llevado a cabo, serán discutidos ampliamente en el apartado 5.5, con el fin de dar mas énfasis a los resultados de la evaluación de los daños por frío en los frutos y su relación con los niveles de poliaminas.

En la última sección concluiremos a cerca de los objetivos planteados en el desarrollo de la metodología para el análisis de poliaminas en mangos utilizando el método indirecto por EC.

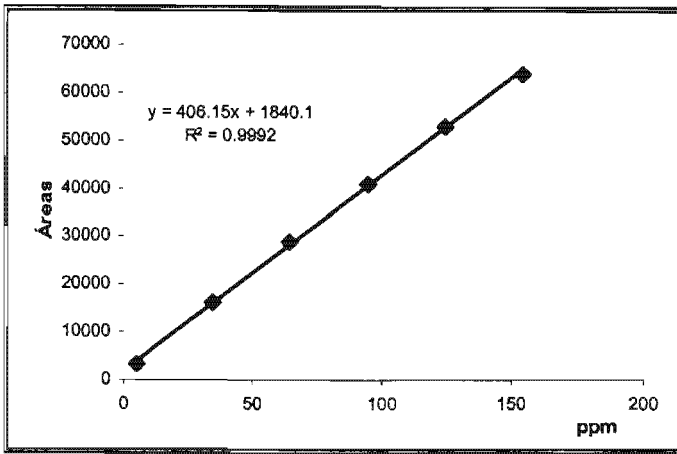


Figura 43. Gráfico de la curva de calibración obtenida para la determinación indirecta de SPD en medio Ácido Perclórico.

### 5.5 Efecto de los tratamientos de inmersión en agua caliente en los niveles de poliaminas y su relación con los daños por frío en mango 'Manila'.

Los mangos, como otros frutos tropicales, son sensibles al almacenamiento a bajas temperaturas. Estos frutos son susceptibles a un gran número de desórdenes fisiológicos como los daños por frío. El mango presenta los síntomas de este desorden cuando se almacenan o transportan a la temperatura comercial de refrigeración utilizada para la mayoría de los frutos.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de los tratamientos hidrotérmicos o de inmersión en agua caliente en la disminución de la susceptibilidad a bajas temperaturas de mango variedad 'Manila'. Los frutos fueron sometidos a tratamientos por inmersión en agua caliente a 45°C durante 40, 55 y 70 minutos y posteriormente almacenados a 5°C. Estos frutos fueron almacenados durante 25 días a baja temperatura y se evaluó el índice de daños por frío conforme lo descrito en la metodología experimental.

En la figura 44 se muestra el índice de daños por frío de los frutos sometidos a los diferentes tratamientos térmicos. El índice de daños por frío fue aumentando conforme

transcurrió el tiempo de almacenamiento de 5 a 25 días. Los frutos que presentaron un mayor índice a lo largo del tiempo de almacenamiento fueron los frutos control, es decir los frutos que no fueron sometidos a ningún tratamiento.

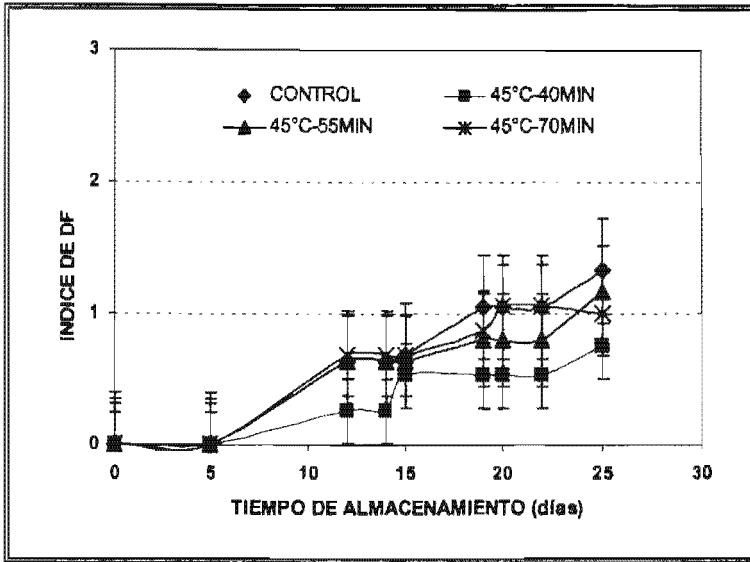


Figura 44. Efecto de los tratamientos por inmersión en agua caliente en el índice de daño por frío en mangos 'Manila' almacenados a 5°C.

La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En los primeros cinco días de almacenamiento no se presentaron síntomas de daños por frío en ninguno de los frutos, sin embargo a los quince días, los frutos tratados a 45°C por 40 minutos mostraron síntomas menores a los frutos control con un índice de 0.26, en cambio los frutos tratados por 55 y 70 minutos obtuvieron el mismo valor que los frutos control IDF=0.68. Posteriormente a los 20 días de almacenamiento los frutos control y los tratados por 70 minutos obtuvieron un índice de 1.0, un poco menor fue el índice de los tratados por 55 minutos (IDF=0.8) y los de 40 minutos presentaron la mitad del valor con respecto al control. Al final del almacenamiento (25 días) en los frutos control se obtuvo un IDF=1.33 y el tratamiento por 40 minutos se mantuvo por debajo del control con un índice de 0.75, no así los frutos tratados por 55 y 70 minutos en donde los daños por frío

que se presentaron fueron muy similares en cuanto a características con respecto a los frutos control y los índices que se obtuvieron fueron de 1.16 y 1.0, respectivamente.

En la figura 45 se observan los lotes de frutos sometidos a las diferentes condiciones de tratamiento por inmersión en agua caliente (45°C por 40, 55 y 70 min) en los diferentes estadios del proceso de maduración (inmediato al TIAAC, después de 15, 25 y 35 días). Los frutos inmediatamente después del tratamiento no presentaron daños en ninguna de las condiciones evaluadas (Figura 45A), mientras que a los 15 días se observó que los mangos tratados durante 40 minutos presentaron menores síntomas de daños por frío a diferencia de los frutos sometidos a tratamientos de 55 y 70 minutos los cuales, presentaron síntomas similares a los frutos sin tratamiento (Figura 45B). Estos síntomas se caracterizaron por: falta de brillo, zonas oscuras en la piel, desarrollo pobre de color ó zonas con decoloraciones, un ligero picado en la superficie, etc.

Después de 25 días de almacenamiento los frutos más dañados fueron los controles, al igual que estos los frutos tratados por 55 y 70 minutos presentaron daños casi con la misma intensidad como por ejemplo las zonas oscuras en la superficie, en cambio los frutos tratados por 40 minutos se mantuvieron con mejores características, sin embargo si se percibió un aumento en los síntomas en comparación a los 15 días de almacenamiento (Figura 45C). Finalmente a los 35 días se observó que los frutos control y los tratados por 55 y 70 minutos ya comenzaron su maduración pero también aumentó la susceptibilidad al ataque fúngico, debido a los cambios que sufre la pared celular y modificarse su estabilidad (Figura 45D), y los frutos tratados por 40 minutos no presentaron esta tendencia ya que aumentaron su resistencia a los daños por frío.

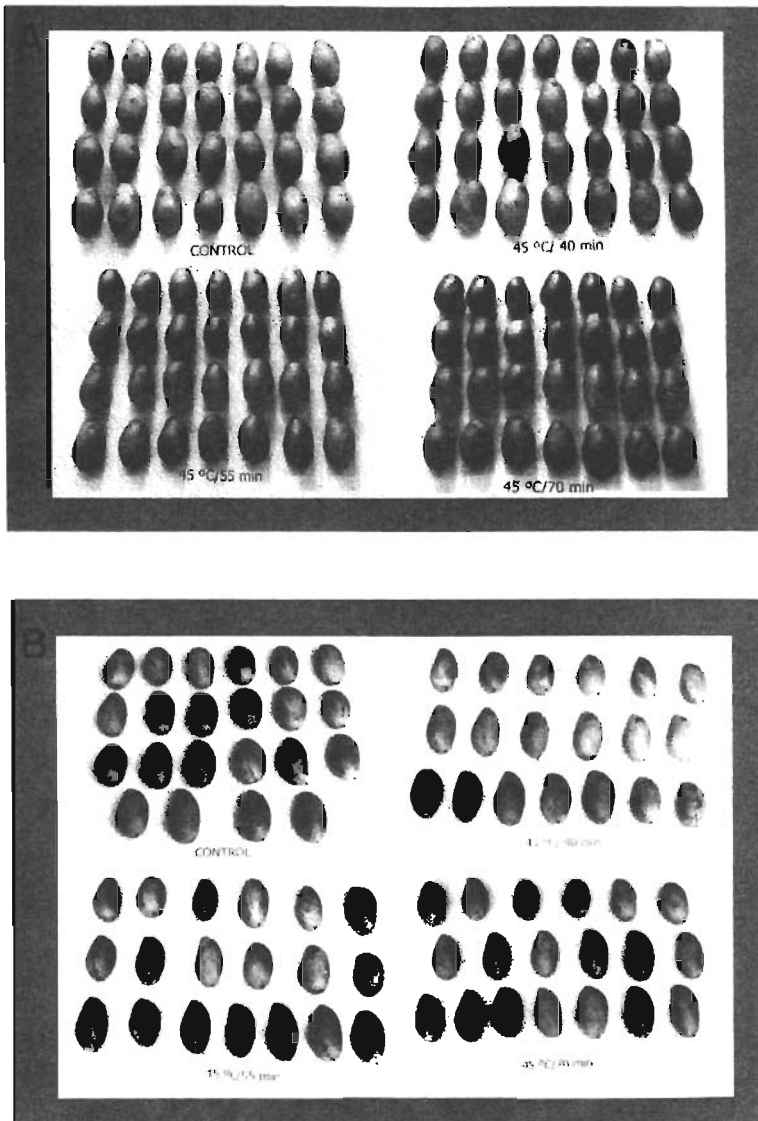


Figura 45. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en mangos 'Manila': A) inmediato al TIAC, B) 15 días almacenados a 5°C.

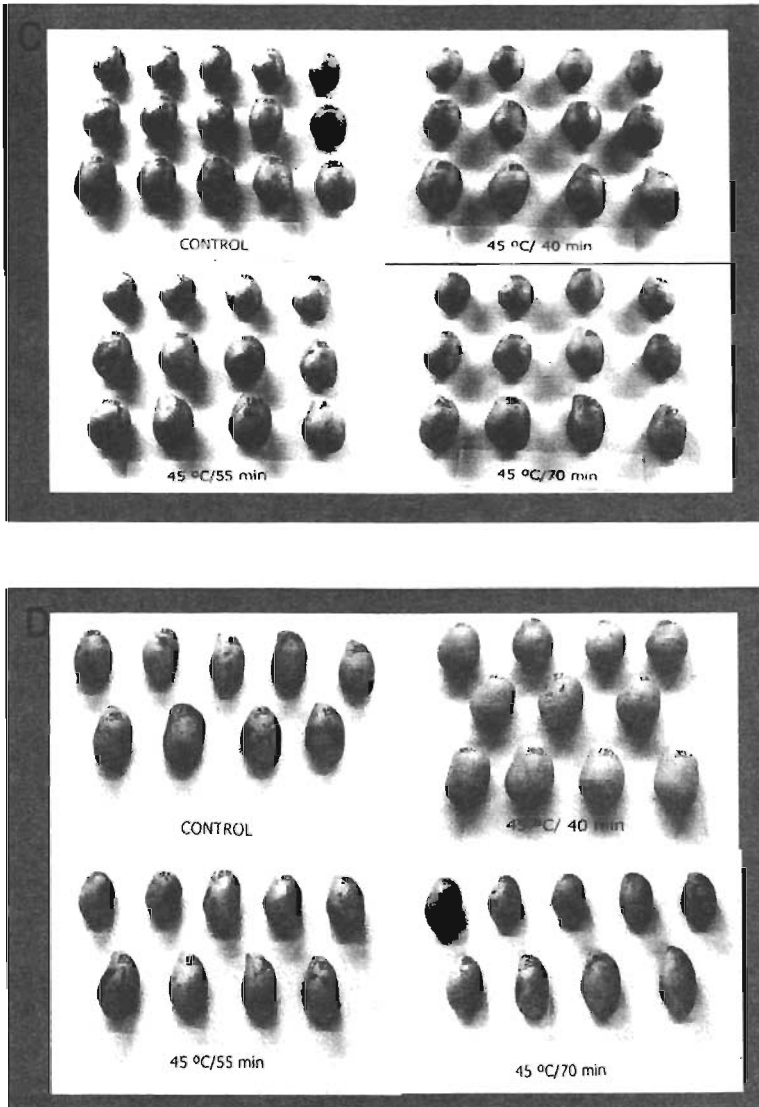


Figura 45. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en mangos 'Manila': C) 25 días y D) 35 días almacenados a 5°C.

De los resultados anteriores se puede inferir que los mangos 'Manila' presentaron síntomas de daños por frío cuando fueron almacenados a 5°C por 25 días. La temperatura crítica de almacenamiento dependerá de la variedad del mango, ya que cada variedad presenta diferente tolerancia al frío. Esto lo demuestran trabajos de Medicott *et al.* (1990) que observaron la presencia de síntomas de daño por frío en mangos 'Tommy Atkins' después de 21 días a 10°C. Otros reportes indicaron que temperaturas por debajo de los 13°C por un periodo de 10 días produce síntomas de daño por frío en mangos 'Kent' totalmente maduros (Saucedo-Veloz *et al.*, 1977). Esto nos indica que otro de los factores importantes en la susceptibilidad al almacenamiento a bajas temperaturas es el estado de madurez del fruto.

Por otra parte, se puede mencionar que los tratamientos por inmersión en agua caliente a 45°C por 40 minutos resultaron efectivos para disminuir los daños por frío en mango 'Manila', a diferencia de los reportado por otros autores en donde no se encontraron diferencias entre mangos 'Zhiua' tratados a 55°C por 3 y 5 minutos y frutos no tratados, durante su almacenamiento a 2°C, sin embargo al trasladarlos a 20°C el daño externo se manifestó en los frutos control (Zhu *et al.*, 2003).

Otro aspecto relevante es que los síntomas de los daños por frío se presentaron solamente en la piel, no encontrándose efecto en el interior de los frutos. Estos resultados fueron similares a los observados en otros frutos como el rambutan, en donde la piel fue la que presentó el mayor daño (O'Hare, 1995).

La larga duración de tratamientos con agua caliente pueden causar daños por calor, aunque los daños por calor y los daños por frío, no pueden ser visualmente diferenciados (Zhu *et al.*, 2003). Por ejemplo en aguacate, los daños por calor y frío, no tuvieron diferencias visuales (Woolf *et al.*, 1995). Sin embargo, los efectos de los tratamientos térmicos aplicados al mango tuvieron un efecto sobre la tolerancia a los daños por frío, que se vieron reflejados en la disminución del picado de la superficie, sobre todo en los mangos tratados por 45°C por 40 min. Estos resultados se asemejan a los reportados por McCollum *et al.* (1993), en donde obtuvieron también disminución en el picado de la corteza y la decoloración de mango 'Keitt', aunque sus tratamientos fueron aplicados en pre-almacenamiento con calor y posteriormente almacenados a bajas temperaturas.

Se puede mencionar que el efecto benéfico de estos tratamientos se han reportado en diversos frutos como: pepino (McCollum y McDonald, 1993), mandarina (González-Aguilar *et al.*, 1997), naranja (Schirra *et al.*, 1998), toronja (El-Shiekh, 1996) y tomate (Lurie y Klein, 1991). El agua caliente a menudo es usada para desinfección de mangos contra parásitos ó insectos y así satisfacer las exigencias de cuarentena de algunos mercados y para el control de enfermedades postcosecha con efectos variables sobre la calidad de fruta (Johnson y Coates, 1993; Nyanjage *et al.*, 1998; Baez-Sanudo, 1997). Los frutos adquieren la tolerancia al frío después del tratamiento térmico (Lurie y Klein, 1991; Salveit, 1991). En nuestro estudio confirmamos que, estos tratamientos ayudaron a reducir los daños por el frío en mango. La eficiencia del tratamiento dependió de la temperatura y del tiempo de exposición. Los tratamientos a 45°C por 40 minutos resultaron ser los más efectivos. Mientras que a temperatura de 45°C por 55 y 70 minutos los frutos presentaron daños externos.

Cabe mencionar que, además de todos los efectos que puedan tener los TIAC en la fisiología del fruto, una ventaja adicional es que se pueden implementar fácilmente ya que pueden incorporarse al sistema de empaçado normal, siendo uno de los tratamientos más seguros para la salud del consumidor y el ambiente. Estos tratamientos son económicos porque se requieren tiempos cortos para el proceso y por lo tanto el consumo de energía es más bajo que en otros tratamientos. En mango y en otros frutos tropicales pueden ser efectivos para reducir la susceptibilidad a los daños por frío.

Sin embargo, a pesar de la gran aplicación de los TIAC en diversos frutos, las bases fisiológicas de sus efectos para reducir los síntomas de daños por frío no han sido elucidadas. Se sugiere que la disminución de los daños por frío puede ser resultado de cambios en los niveles de poliaminas (PA's), ya que pueden proteger a la membrana de la peroxidación (Kramer y Wang, 1989; Faust y Wang, 1993). Las alteraciones en la biosíntesis de PAs en respuesta a varios tipos de estrés incluyendo estrés por frío han sido reportados (McDonald y Kushad, 1986; Wang, 1987). Sin embargo, existe gran controversia en el papel que juegan las PAs en la reducción de los daños por frío. En algunos frutos, como calabacín la reducción de los daños por el frío estuvo correlacionada con altos niveles de espermidina (SPD) y espermina (SPM) en la piel (Kramer y Wang, 1990). En toronja tratados con TIAC se encontró una acumulación de putrescina (PUT) (Rodov *et al.*, 1995). Sin embargo, en mandarina (González-Aguilar *et*



*et al.*, 1997) se encontró que tratamientos térmicos fueron efectivos para reducir los daños por frío, pero el aumento en la tolerancia al frío inducida por el tratamiento térmico no estuvo relacionada con los cambios en los niveles de PAs. Mientras que, los niveles endógenos de putrescina aumentaron en limón, flavedo de pomelo, jugo de uva y en el pericarpio de la pimienta, pero no hubo diferencias significativas en los niveles de espermidina y espermina cuando se almacenaron a temperaturas de frío (Mc Donald y Kushad, 1986).

Además de los tratamientos por inmersión en agua caliente se han utilizado otras tecnologías postcosecha para reducir síntomas de daño por frío, tal como el acondicionamiento a bajas temperaturas, tratamientos térmicos, pretratamiento con atmósferas controladas, que en su momento aumentan los niveles endógenos de PAs. Sin embargo, no está claro si los aumentos en los niveles de PAs son un mecanismo de protección contra los daños por frío o si ellos son una respuesta del tejido a este estrés (González-Aguilar *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2001; Serrano *et al.*, 1996; Serrano *et al.*, 1997; Serrano *et al.*, 1998).

Las PAs en su forma libre han sido reportadas como agentes antisenescencia, tanto en su aplicación endógena como de exógena, los principales efectos en frutas han sido retraso en cambios de color, aumento en firmeza de la fruta, retrasó en emisiones de etileno y tasa de respiración, aumento en la resistencia mecánica y reducción de síntomas de frío (Valero *et al.*, 1999). En frutas, el objetivo principal de la aplicación exógena es la interacción con las sustancias pécticas de la pared celular causando cambios de estabilidad (Pandey *et al.*, 2000).

En el presente estudio con mangos 'Manila' se detectó únicamente a la SPD, tanto en la piel como en la pulpa, utilizando la técnica de electroforesis capilar. A diferencia de otros frutos en donde se han detectado principalmente PUT y en menor medida SPM (Ullah y Singh, 2004; Nair y Singh, 2004; Kondo *et al.*, 2001). Esta diferencia puede deberse a la sensibilidad del método utilizado ya que fue desarrollado para concentraciones altas de estas poliaminas como se puede observar en el apartado anterior.

En el mango 'Manila' se detectó SPD en rangos aproximadamente de 100 nmol/mg PF en pulpa y de 700 nmol/mg PF en la piel. Los niveles de esta poliamina cambiaron a lo

largo del proceso de maduración (Figura 46 y 47). En el preclimaterio en la piel de los mangos almacenados a 20°C, se encontraron niveles de SPD de 300 nmol/mg PF, posteriormente en el inicio del climaterio aumentan a 550 nmol/mg PF y se mantuvieron en el máximo climaterio, para en el postclimaterio disminuir hasta los 450 nmol/g PF, encontrándose diferencia significativa entre ellos ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 46B). En el caso de la pulpa, se encontró que en el preclimaterio sólo se llegó a niveles de 120 nmol/mg PF, para el inicio del climaterio estos niveles disminuyeron a 95 nmol/mg PF y volvieron a aumentar a 145 nmol/mg PF en el máximo climaterio, finalmente en el postclimaterio bajaron hasta 108 nmol/mg PF, en el análisis estadístico realizado si se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre los estadios (Figura 46A).

Los cambios en los niveles de poliaminas se han registrado en diversos trabajos, no solamente durante la maduración sino durante el desarrollo y crecimiento del fruto. Las concentraciones de PAs son altas en etapas tempranas de desarrollo en uvas (Shiozaki *et al.*, 2000), albaricoques (Paksasorn *et al.*, 1995), y aguacates (Cutting *et al.*, 1990), manzana (Biasi *et al.*, 1988), tomate (Morilla *et al.*, 1996), y durazno (Kushad, 1998). Sin embargo, las concentraciones de PAs en frutos de tomate 'Liberty' (Saftner y Baldi, 1990), chirimoya (Escribano y Merodio, 1994) y rambutan (Kondo *et al.*, 2001) se incrementaron hacia la maduración, lo que sugiere que las PAs cambian y su papel puede variar entre las variedades de frutas. En cambio, en ciruela variedad 'Golden Japan', que presenta un proceso de maduración no climatérico muestra un incremento de PAs conforme avanza la maduración, en comparación con la variedad 'Santa Rosa' la cual muestra un patrón climatérico de maduración (Zuzunaga *et al.*, 2001). Así de esta manera se puede suponer que la variación en la tendencia de la biosíntesis de PAs y sus niveles endógenos no sólo existe en diferentes especies, pero también dentro de las especies y con diferentes tipos de tejido y estados de desarrollo (Ullah y Singh, 2004).

En rambutan, la PUT fue la mayor poliamina tanto en piel como en pulpa en dos variedades de fruto, aunque la SPD y SPM no tuvieron claramente cambios entre piel y pulpa (Kondo *et al.*, 2001); En berenjena, un rápido incremento en el peso y volumen de la fruta coincide con una concentración máxima de PAs (Rodríguez *et al.*, 1999)

Algunos estudios reportan a la PUT como la poliamina dominante en tomate (Morilla *et al.*, 1996) y uva (Shiozaki *et al.*, 2000). Ullah y Singh (2004), estimaron altos niveles de SPM y

SPD en el tejido del pericarpio en mangos 'Kensington Pride' y 'Glen' respectivamente, varios tipos de PAs parecen ser específicas de las especies, sin embargo la concentración individual puede variar de acuerdo con el tipo de tejido y estado de crecimiento. El incremento de PAs libres en piel y pulpa durante la maduración de frutos de mango es similar al de las mandarinas (Nathan *et al.*, 1984), chirimoya (Escribano y Merodio, 1994) y rambutans (Kondo *et al.*, 2001).

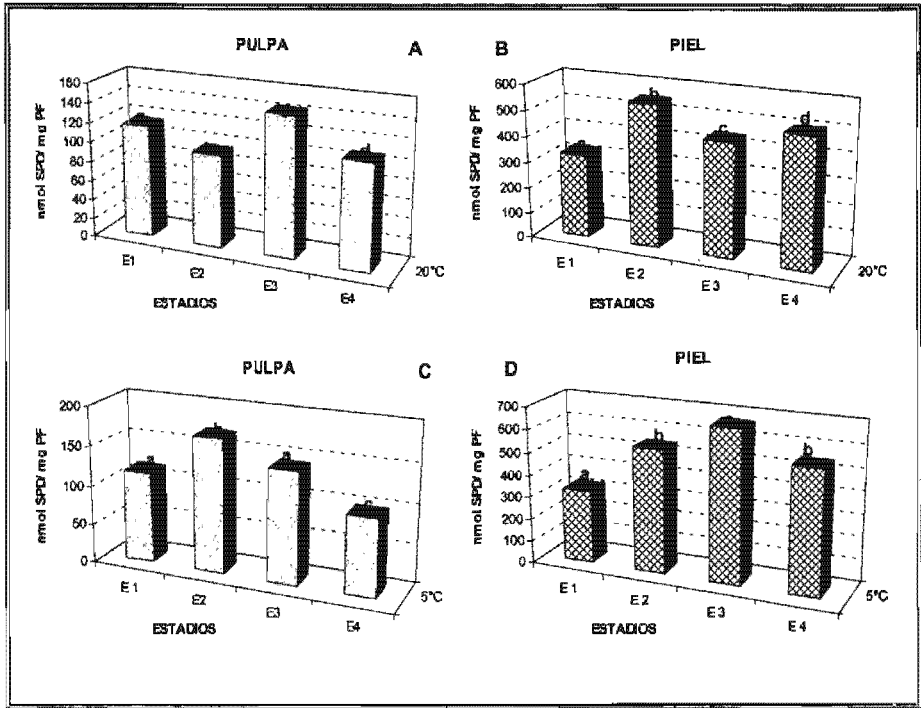


Figura 46. Contenido de SPD en pulpa y piel de mangos 'Manila' durante los diferentes estadios de el proceso de maduración a 20°C (A y B) y 5°C (C y D).

Letras diferentes en cada estadio indican diferencia significativa entre ellos ( $P \leq 0.05$ ).

En la figura 46C y 46D se observa que mangos 'Manila' almacenados a condiciones de estrés por frío (5°C) mostraron un ligero aumento en los niveles de SPD en la piel durante los diferentes estadios de la maduración, encontrándose diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) durante los diferentes estadios, al igual que en la pulpa de este fruto, se encontró

diferencia significativa en los diferentes estadios. Al comparar los niveles de esta PA durante el máximo climaterio y el postclimaterio, se observaron que los niveles de SPD fueron de 142 nmol/mg PF y 98 nmol/mg PF mientras que en los frutos almacenados a 20°C, los niveles fueron de 145 nmol/mg PF y 108 nmol/mg PF, respectivamente, esto indicó que la temperatura de almacenamiento no tiene efecto en los niveles de poliaminas.

Por otra parte, en el presente estudio se encontró que el estrés por frío y los TIAC incrementaron los niveles de PAs, por lo que para determinar si las PAs estaban involucradas en la inducción de la tolerancia al frío o si el aumento en sus niveles fue solamente una respuesta ante el estrés térmico, se estudió el efecto de tiempos y temperaturas de TIAC en la inducción de poliaminas.

En la figura 47, se muestra el contenido de SPD en la pulpa y la piel de mangos inmediato al tratamiento térmico y después de 25 días almacenados a 20 y 5°C. Se puede observar que en el caso del contenido de SPD en la pulpa de mangos tratados térmicamente (Figura 47A), se observó una disminución inmediato al TIAC, comparados con los frutos sin tratamiento. Después de 25 días almacenados a 20°C ó 5°C, se observó una ligera disminución en los frutos almacenados a 20°C, y una tendencia similar en los frutos almacenados a temperatura de daño por frío. En el análisis estadístico se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre los diferentes tratamientos con respecto al control, tanto en el inmediato al tratamiento, como en los frutos almacenados durante 25 días a 20°C, ya que en los frutos almacenados durante 25 días 5°C solo se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los frutos tratados a 45°C por 70 minutos.

El contenido de SPD en la piel de los mangos tratados térmicamente fue en aumento en los frutos tratados bajo las diferentes condiciones con respecto al fruto control. Después de 25 días de almacenamiento a 20°C, los niveles de SPD en los frutos sin tratamiento presentaron niveles inferiores con respecto a los frutos tratados hidrotérmicamente en todas las condiciones propuestas (Figura 47B), y en los frutos almacenados durante 25 días a 5°C tuvieron el mismo comportamiento. Sin embargo, no se encontró una relación entre los cambios sufridos en los contenidos de SPD y los daños por frío. Al igual que en la pulpa solo se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre los frutos tratados

térmicamente y los frutos control inmediato al tratamiento y los almacenados durante 25 días a 20°C, no así después del almacenamiento durante 25 días 5°C.

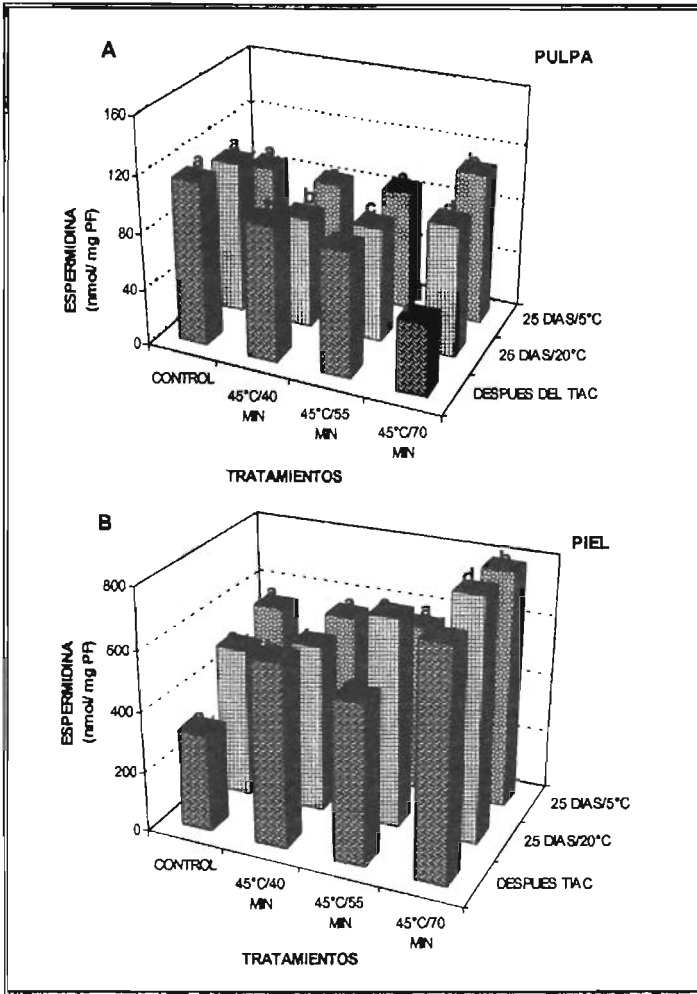


Figura 47. Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en el contenido de espermidina en pulpa (A) y piel (B) de mangos 'Manila', inmediato al tratamientos y después de 25 días almacenados a 5°C. Letras diferentes en cada tratamiento indican diferencia significativa entre sus medias ( $P \leq 0.05$ ).

En otro trabajo, donde se utilizó HPLC como una técnica de detección para PAs, el contenido de SPD y SPM en la pulpa fueron bajos en mangos 'Kensington Pride' almacenados a 0°C, 5°C y 10°C. Los niveles de SPD y SPM en la pulpa en frutos almacenados a 0°C y 5°C se incrementaron del día 1 al 28 durante el periodo de almacenamiento, mientras que en los frutos almacenados a 10°C, los niveles de SPD se incrementaron del día 1 al día 21 y disminuyeron en el día 28. En su segundo experimento el contenido de SPD y SPM en la pulpa se incrementan del día 1 al 3 y disminuyen durante el resto del periodo de maduración en fruta almacenada a 5°C (Nair y Singh, 2004). En nuestro caso el estudio de las PAs se realizó solo durante las diferentes etapas de maduración, pero aun así, podemos decir que la tendencia en los cambios en los niveles de SPD fue similar a 5°C.

En el caso de la SPD en la piel, presentó una inducción debido al tiempo y temperaturas de exposición del TIAC (Figura 48). Se observó que, a mayor tiempo de exposición a la misma temperatura mayor inducción de SPD, obteniendo una correlación de  $r=0.91$  como se muestra en la figura 48A. Sin embargo, estos cambios en los niveles de esta PA no parecen estar relacionados con el aumento en la tolerancia al frío ya que, no se encontraron diferencias significativas entre el contenido de SPD en la piel de los mangos sometidos a los tratamientos más efectivos como 45°C por 40 minutos y los tratamientos no efectivos como el 45°C por 55 y 70 minutos. Además, al final del almacenamiento se encontraron niveles de SPD inferiores o similares en los frutos tratados térmicamente comparados con los frutos almacenados a 5°C por 25 días sin tratamiento.

Estos resultados indican que el aumento en los niveles de SPD en la piel está más relacionado a una respuesta a altas temperaturas que a un aumento en la tolerancia a los daños por frío. En la pulpa la tendencia fue completamente contraria a la de la piel, ya que se presentó una inhibición en la respuesta de la SPD a los tratamientos térmicos conforme transcurrió el tiempo de los mismos, obteniéndose una correlación de  $r=-0.89$ , como se muestra en la figura 48B. Tampoco se encontraron correlaciones significativas entre el contenido de SPD en la pulpa ( $r=-0.32$ ) y piel ( $r=0.40$ ) de los mangos tratados térmicamente y el índice de daños por el frío al final del almacenamiento, como se muestra en las figuras 49A y 49B.

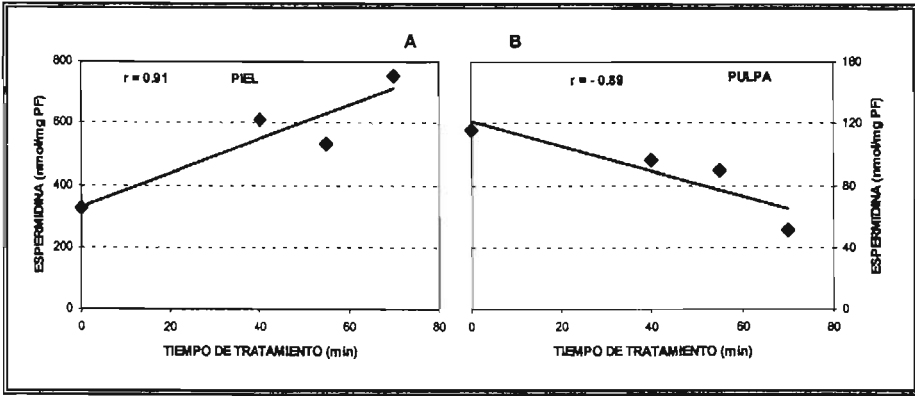


Figura 48. Correlación entre contenido de SPD en la piel (A) y pulpa (B) y el tiempo de inmersión de los tratamientos térmicos aplicados a mangos 'Manila'.

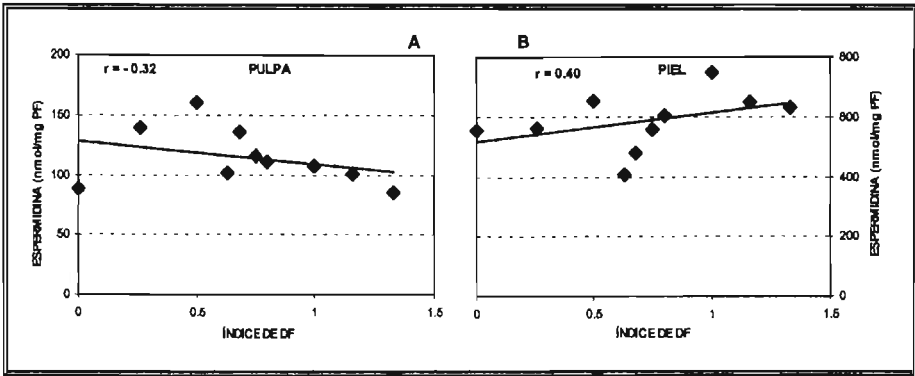


Figura 49. Correlación entre contenido de SPD e índice de daños por frío en mangos 'Manila' almacenados a 5°C, en (A) pulpa y B) piel.

Otra alternativa de tratamientos para la disminución de los daños por frío son las irradiaciones UV, en trabajos reportados con mangos 'Tommy Atkins' tratados con UV durante 10 minutos mostraron mayores niveles de PUT y SPD después del almacenamiento en frío comparados con los frutos control. La SPD estuvo presente en la mayor cantidad del tejido de mango no irradiado seguido de PUT y SPM.

Concentraciones de SPD aumentaron inicialmente sólo en frutos de mango tratados con UV-C durante 20 minutos. Sin embargo, estos niveles disminuyeron después de 14 días de almacenamiento en 5°C sin más cambios después. Después del almacenamiento, las concentraciones de SPD aumentaron en frutos tratados con UV-C con 10 minutos. Después del período de vida de anaquel, los niveles similares de SPD fueron encontrados en ambos, controles y en frutas tratadas durante 10 minutos. Fue observado que los niveles de SPD se cambiaron ampliamente durante el almacenamiento en frío según la longitud de irradiación UV. La SPD estuvo presente en cantidades muy bajas. La concentración de SPD en los frutos tratados durante 20 minutos no cambió considerablemente durante el almacenamiento en frío. En apariencia estos cambios de poliaminas son una respuesta del tejido del mango a la duración de la irradiación UV-C y la temperatura de almacenamiento (González-Aguilar *et al.*, 2001b). Las poliaminas poseen radicales que rescatan propiedades y pueden actuar recíprocamente con fosfolípidos para estabilizar la bicapa superficial y retardar la deterioración de la membrana (Drolet *et al.*, 1986). Estos resultados nos indican que las poliaminas pueden estar involucradas en una respuesta al almacenamiento en frío. De lo anterior podemos decir que en mangos 'Manila' el papel de la SPD también fue una respuesta inmediata al tratamiento hidrotérmico.

En otros trabajos con aplicaciones exógenas de PAs en mangos 'Kensington Pride' los niveles endógenos de SPD y SPM siguieron un patrón similar en la piel y pulpa durante el almacenamiento y la maduración. El contenido de SPD y SPM fueron bajos en los daños por frío iniciales y después se fueron incrementando conforme se prolongó el tiempo de almacenamiento en comparación con los frutos no tratados. Los niveles de SPD y SPM parecieron bajos en los frutos con daño por frío que en los no dañados durante el período de maduración de 1 a 11 días (Nair y Singh, 2004).

En otros trabajos con mango 'Kensington Pride' se logró establecer que la disminución de SPD y SPM en piel y pulpa de frutos con daño por frío y su substancial reducción en los síntomas de daño por frío con aplicación de PAs exógenas en pre-almacenamiento indican que el desarrollo de daños por frío parece estar asociada con la síntesis de poliaminas (Nair y Sing, 2004).



De los resultados anteriores se puede concluir que los tratamientos a 45°C por 40 minutos fueron efectivos para reducir los daños por el frío en mango como es el picado en la superficie, y que los cambios en los niveles de SPD estuvieron más relacionados con una respuesta ante el estrés por calor que con la disminución a la susceptibilidad al frío.

Los resultados indican que los TIAC inducen a la síntesis de altos niveles de espermidina en la piel de mangos 'Manila', estos cambios podrían estar relacionados con la disminución de la síntesis de etileno que sufren los frutos al ser sometidos a tratamientos térmicos. Se cree que la espermidina compite con el etileno por su precursor común, la S-adenosilmetionina, por lo que se podría pensar que al disminuir la síntesis de etileno, se incrementan los niveles de espermidina. Sin embargo, para poder entender mejor el mecanismo de los cambios en los niveles de PAs, sería conveniente el poder detectar por un método más sensible la presencia de las otras PAs importantes en frutos, como son la PUT y la SPM. De esta manera, se podría ayudar a elucidar las bases fisiológicas de la inducción de la tolerancia a bajas temperaturas utilizando tratamientos térmicos.

#### **5.6 Efecto de los tratamientos de inmersión en agua caliente en las actividades de la PPO y POD y su relación con los daños por frío en mango 'Manila'.**

El oscurecimiento enzimático de frutos frescos es importante para la preservación y procesamiento de alimentos y es generalmente considerada como una reacción indeseable porque la apariencia es desagradable y conlleva al no desarrollo de sabor y aroma (Murata *et al.*, 1995).

El oscurecimiento de tejidos dañados de frutos, ocurre por la oxidación de compuestos fenólicos y contribuye significativamente a la pérdida de la calidad. La enzima primaria responsable de la reacción de oscurecimiento es la polifenol oxidasa (Mayar y Harel, 1979). Esta enzima cataliza la oxidación de o-difenoles a o-quinonas (actividad de difenolasas ó catecolasas), en la presencia de oxígeno, y el producto final polimerizado es un oscurecimiento desagradable, con pigmentos rojos o negros (Masora, 1955).

Las características de PPO han sido investigadas a fondo en manzana (Janovitz-Klapp *et al.*, 1989; CoSeteng y Lee, 1987 ); uva (Sánchez-Ferrer *et al.*, 1988; Wisseman y Lee, 1980; Lee y Jaworski, 1988); papa y zetas (Chen *et al.*, 1992).

Las Peroxidasas son también reportadas como catalizadoras de la oxidación de ciertos compuestos fenólicos a sus quinonas, que en su momento pueden polimerizarse y formar pigmentos coloreados cafés (Danner *et al.*, 1973; Sawada *et al.*, 1975; Vamos-Vigyázó, 1981; Sawahata y Neal, 1982; Kruger y Reed, 1988; Mahanta *et al.*, 1993; Zapata *et al.*, 1988).

### 5.4.1 Comportamiento de la PPO y POD durante los estadios de maduración del mango.

La actividad de PPO en la piel y pulpa de mango 'Manila' en diferentes estadios de la maduración se muestra en la figura 50. La actividad de PPO en la pulpa fue aproximadamente 40 veces mayor que en la piel. Este comportamiento puede explicarse ya que cada tejido desempeña un papel específico en el fruto, mientras que la piel sirve como una barrera de protección, en la pulpa es en donde ocurren los cambios químicos, físicos y bioquímicos que conducen a la maduración y senescencia de los frutos.

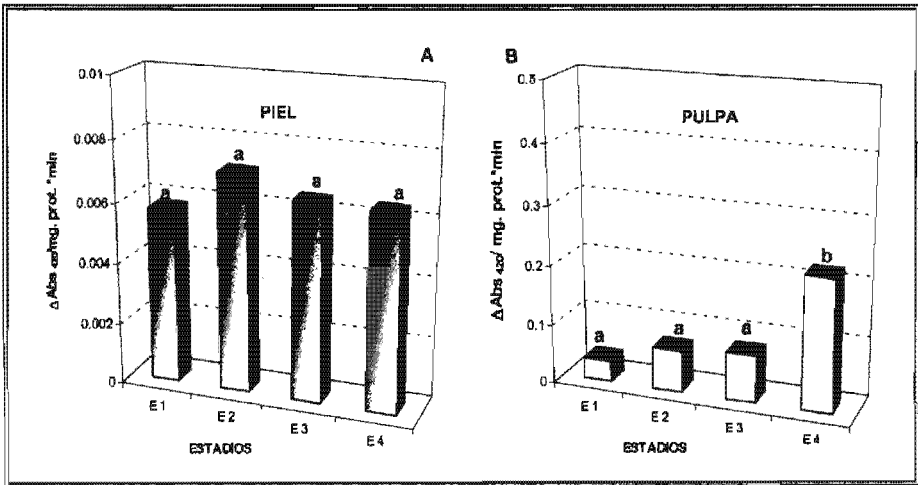


Figura 50. Evolución de la actividad de la PPO en la piel (A) y en la pulpa (B) de mango 'Manila' almacenados a 20° C

Letras diferentes en cada estadio indican diferencia significativa entre las medias ( $P \leq 0.05$ ).

En cuanto a la evolución de la actividad de la PPO durante la maduración del mango 'Manila', en la piel (Figura 50A) se observó un aumento del preclimaterio (E1) al inicio del climaterio (E2), pero en el máximo climaterio (E3) mostró un descenso ligero de su actividad en un 15% con respecto al máximo, el cual lo alcanzó cuando el fruto se encuentra en el estadio postclimaterico (E4). En el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre las diferentes etapas de maduración de los frutos.

En la pulpa (Figura 50B), se presentó un valor de actividad bajo respecto a su máximo y casi constante en los tres primeros estadios y aumentó en un 64% su actividad en el postclimaterio. Por lo que estadísticamente sólo se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) al final del proceso de maduración.

En ambos casos, los resultados coinciden con lo que reportaron Selvaraj y Kumar (1989) en su estudio con diferentes variedades de mango, en donde las actividades de PPO, desciende a media etapa de la maduración. Lo cual es de esperarse ya que en este estadio el etileno desencadena los cambios bioquímicos que conducen a la maduración como son: el aumento de las actividades de las enzimas hidrolíticas (pectinasas y galacturonasas) que producen el ablandamiento de los tejidos, también de las enzimas que ocasionan el pardeamiento (PPO y POD), entre otras.

Al comparar otros trabajos realizado con la misma variedad de mango utilizada en este trabajo, se encontró que la actividad de PPO muestra diferencias entre muestras extraídas de piel y pulpa. Esto es consistente con las observaciones previas de que el oscurecimiento ocurre primero y en un mayor grado en la superficie del fruto expuesto a daños por frío (León *et al.*, 1997). La actividad enzimática fue insignificante en la pulpa de mango a 25°C a los primeros 15 días de almacenamiento y muy baja (0.14 AU/g<sup>-1</sup> proteína) en la piel de mango a las mismas condiciones (Vela *et al.*, 2003).

Mayer y Harel (1979) reportaron que la fuerza de unión de formas latentes de PPO a las membranas parece variar dependiendo del tejido y de la etapa de desarrollo de la planta. Aparentemente, existe una conversión a las formas solubles de PPO que ocurre en el fruto seguido de la exposición de condiciones de estrés.

En la figura 51A se muestra la evolución de la actividad de la peroxidasa (POD) en piel y se observó un aumento durante la maduración del fruto hasta alcanzar su máximo en el postclimaterio [E4], aunque en el máximo climaterio(E3) presentó un descenso del 40% con respecto a la actividad máxima. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre las diferentes etapas de maduración del mango.

En la figura 51B se observa la actividad de la POD en la pulpa la cual presentó su máximo en el inicio del climaterio (E2), después desciende en el máximo climaterio (E3) y aumenta su actividad en el post climaterio (E4) incrementándose alrededor de tres veces aproximadamente su máxima actividad con respecto al estadio E3. Durante las diferentes etapas de la maduración no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre los frutos. Al comparar los resultados del presente trabajo con otros realizados con diferentes variedades se observa que las actividades tanto de PPO como de POD dependen del tipo de tejido y variedad del mango, comportamiento que coincide con lo observado en este trabajo (Matto y Modi, 1969, Galston y Davies, 1969, citado por Flyinck *et al.*, 1987; Thomas y Janave 1973; Prabha y Patwardhan, 1986; Robinson *et al.*, 1993).

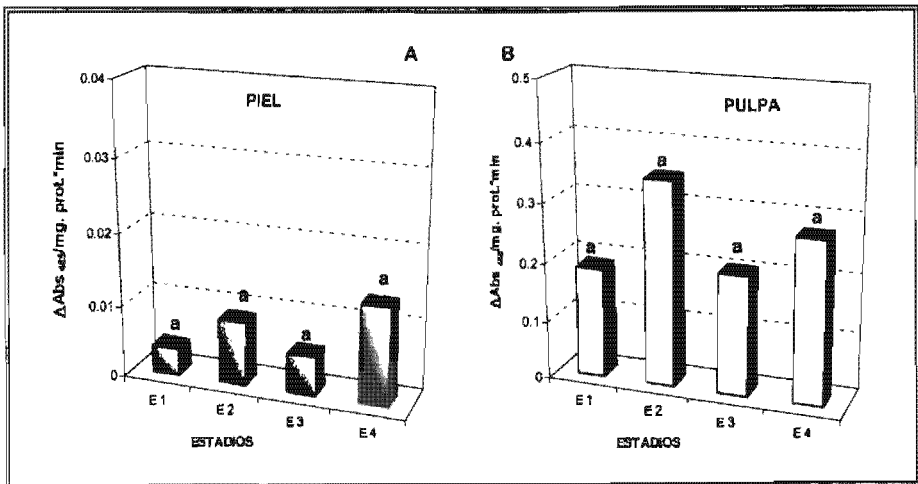


Figura 51. Evolución de la actividad de POD en piel (A) y en la pulpa (B) de mangos 'Manila' madurados a 20° C.

Letras iguales en cada estadio indican que no existe diferencia significativa entre las medias ( $P \geq 0.05$ ).

Mientras que en ensayos realizados en otro fruto climatérico como lo es el plátano de la variedad 'Enana', las actividades de PPO Y POD no permanecieron constantes durante toda la maduración. Ambas mostraron un incremento (PPO 100%, POD 31%) en la primera etapa de maduración, para después disminuir lentamente (PPO 32%, POD 3%) en el plátano completamente amarillo (Cano *et al.*, 1990). Estos cambios pueden ser explicados por el proceso de maduración, ya que principalmente es un proceso de diferenciación que implica la síntesis programada de enzimas específicas. La primera etapa involucra a ambas enzimas, en esta etapa comienzan a jugar un papel primordial en el metabolismo del fruto que esta relacionado con el oscurecimiento de la piel y el fruto (Palmer, 1971).

## **5.6.2 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS EN LAS ACTIVIDADES DE LA PPO Y POD EN LA PIEL Y LA PULPA DE MANGO 'MANILA'.**

### **5.6.2.1 Temperatura de almacenamiento a 20° C**

La reacción de oscurecimiento ocurre en varios frutos cuando el tejido es dañado, pelado, o enfermo (Park *et al.*, 1980).

En la figura 52A se muestran las actividades residuales en la piel de los frutos tratados térmicamente y se observó que inmediato al tratamiento y en el inicio del climaterio se presentó una pérdida de la actividad de alrededor del 20.32%, 28.32% y 21.54% para los tratamientos de 45°C por 40, 55 y 70 minutos, respectivamente. Mientras que al 10° día la actividad se recuperó hasta 15.88%, por lo que, es evidente que en los primeros estadios, la aplicación de los tratamientos fue efectiva ya que se logró disminuir la actividad de la PPO, aunque al final del proceso de maduración (20° día) la actividad se recuperó casi completamente.

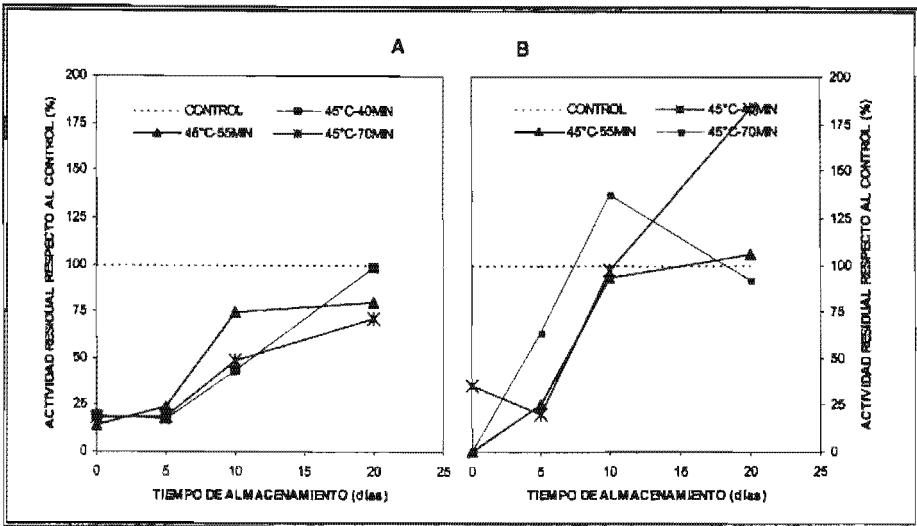


Figura 52. Actividad residual de PPO en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 20°C, en piel (A) y pulpa (B)

En la figura 52B se observa la actividad de PPO en la pulpa, la cual presentó una pérdida de actividad inmediato al tratamiento de alrededor de 63.21%, 25.27% y 20.21%, para los tratamientos de 45°C por 40, 55 y 70 minutos, respectivamente. En los siguientes días de almacenamiento hubo una recuperación de la actividad de PPO en todos los tratamientos. Al final de la maduración las actividades se recuperan e incluso aumentan comparado con los frutos control.

La Polifenol oxidasa ha sido encontrada en la mayoría de las plantas altas, y es responsable del oscurecimiento enzimático de frutos frescos (Mathew y Parpia, 1971), esta reacción es importante en el preservación y procesamiento de alimentos, y en general es considerada como una reacción indeseable porque la apariencia desagradable y a la vez el desarrollo de un sabor insípido.

Las PPO's han ganado atención principalmente debido a su papel en el oscurecimiento de tejido subsecuente a las magulladuras, o durante la preparación de las frutas para su

procesamiento (Vamos-Vigyázó, 1981). Algunos estudios han indicado que esta enzima puede jugar un papel vital en el senescencia de plantas. Y también desempeñan un papel defensivo contra el ataque de insectos y microorganismos (Hoffman *et al.*, 1970).

Comparando los resultados del presente trabajo con la aplicación de otras tecnologías postcosecha como los son la irradiación  $\gamma$ , los efectos fisiológicos pueden ser inmediatos o algo retrasados (Kahan *et al.*, 1968). Se observó un aumento inmediato en la actividad de PPO después de la irradiación en mango 'Kent'. En contraste, el aumento de la actividad de PPO parece haber tenido un efecto de retraso por la irradiación gama. La activación de PPO en mango por la irradiación podría ser causada por varios mecanismos. Puede ser debido a una activación de una pro-enzima o una enzima latente o debido a cambios conformacionales en la enzima (Mayer y Harel, 1979).

La actividad de peroxidasa ha sido reportada que aumenta con el avance de la senescencia (Grover y Sinha, 1985). Múltiples formas de peroxidasa son conocidas que existen en varias plantas y algunas funciones catalíticas han sido atribuidas a esta enzima. Aunque su papel fisiológico sea aun desconocido (Shinshi y Noguchi, 1975).

Respecto a la actividad de POD en piel (Figura 53A), no se registró un efecto de inactivación de la enzima por aplicación del tratamiento térmico al final del almacenamiento; y solamente inmediato a la aplicación del tratamiento se observó una disminución del 75%, en los tratamientos de 45/55 y 45/70, mientras que a 45/40 solamente disminuyó en un 25% de su actividad. Esto corresponde con lo esperado ya que a mayores tiempos de exposición a la temperatura se esperaba mayor porcentaje de inactivación de la actividad de POD. Sin embargo, en los siguientes estadios no se observó la efectividad de los tratamientos ya que las actividades se recuperan casi al 100%.

En lo que respecta a la pulpa, se observó mayor efecto de los tratamientos térmicos (Figura 53B) en los dos primeros estadios. La actividad de POD se inhibió desde un 61% hasta un 93%. Posiblemente porque en los primeros estadios se encuentra una menor actividad y esta se inhibe al aplicarle los tratamientos térmicos, a diferencia del postclimaterio (20° día), que es cuando el fruto llegó a su máxima actividad, en donde se vuelve a activar la actividad de la POD.

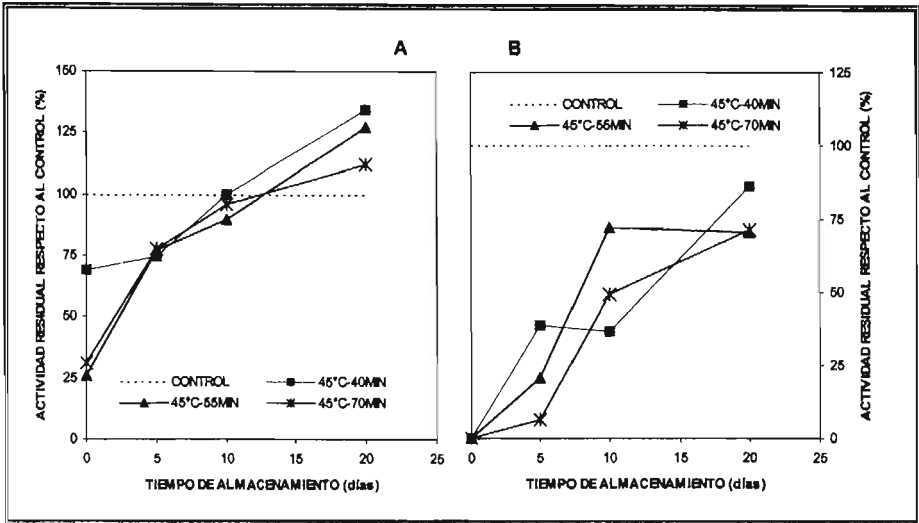


Figura 53. Actividad residual de POD de mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 20°C: en piel (A) y pulpa (B)

En general se determinó que la efectividad de los tratamientos corresponde al comportamiento esperado ya que en cuanto más tiempo fueron expuestos los mangos a la temperatura de 45°C mayor fue la efectividad del tratamiento lo que se ve reflejado en los resultados de la actividad residual mostrados en las figuras 53A y 53B.

En otros trabajos usando diferentes tecnologías postcosecha como la irradiación UV, se observó que la actividad de PPO de mango 'Kent' fue detectada al sexto día después de la irradiación (dosis de 1.75 kGy). Los frutos irradiados con dosis de 1.25 kGy mostraron una actividad de PPO al séptimo día y el grupo de 0.75 kGy desde el décimo día. El grupo control comenzó a mostrar actividad de PPO sólo al onceavo día, lo cual coincide con la fase de postclimaterio. Aunque fue altamente visible el oscurecimiento del tejido no fue observado en la variedad 'Kent', los cambios en el patrón de activación de PPO implica una respuesta a otras condiciones de estrés que a la senescencia (Flylinck *et al.*, 1987).



Al comparar nuestros resultados con otros trabajos utilizando tratamientos térmicos se encontró que cuando la piel de mango 'Banganapalli' fue tratada a tres diferentes temperaturas (temperatura ambiente, 60 y 95°C por 5 minutos), se observó que las actividades de ambas PPO y POD se perdieron a 95°C. Sin embargo la piel tratada a 60°C tuvo actividades de ambas enzimas, pero en bajos niveles que aquellas pieles mantenidas a temperatura ambiente. La aplicación exógena de PPO y POD, en forma de látex de fase acuosa, no indujo el oscurecimiento en las pieles que fueron sujetas a tratamientos con calor a 95°C, seguidos por aplicación de la fase no acuosa. Esto se puede deber a la inhabilidad del látex de PPO para penetrar por los poros de la piel y comenzar su contacto con los polifenoles. Las pieles que fueron tratadas a 60°C mostraron un oscurecimiento significativo y también tuvo actividad enzimática significativa, pero a menor extensión que el control (Saby Jonh *et al.*, 2002).

#### **5.6.2.2 Temperatura de almacenamiento a bajas temperaturas.**

Al aplicar los tratamientos térmicos a frutos y almacenarlos a temperatura de refrigeración (10°C) pero sin causar daño por frío se encontró que la actividad de PPO en piel si disminuyó inmediato a la aplicación del tratamiento y en el inicio del climaterio en los diferentes frutos tratados térmicamente. En los siguientes estadios la actividad de PPO se recuperó, sin embargo al final del almacenamiento se observó una disminución del 85%, 46% y 62%, para los frutos tratados por 45°C por 40, 55 y 70 minutos, respectivamente (Figura 54A)

En la pulpa ocurrió algo similar, en el preclimaterio se logró inactivar la actividad de PPO al aplicarle los tratamientos térmicos, y en los siguientes estadios disminuyó ligeramente, alrededor del 25% respecto al control (Figura 54B). Al final del almacenamiento se observó una recuperación de las actividades de PPO con un 96%, 69% y 87% para los tratamientos de 45°C por 40, 55 y 70 minutos, respectivamente.

En trabajos con otros frutos se ha reportado que la actividad de PPO en manzana 'Fuji' inmadura fue mucho más alta que aquella de la manzana madura, la actividad de PPO fue principalmente localizada cerca del corazón en la manzana madura, mientras que fue uniformemente distribuida en la manzana inmadura. Esto sugiere fuertemente que la

PPO es solubilizada y desnaturalizada en la última etapa de desarrollo, aunque bastante activa para causar oscurecimiento todavía alrededor del corazón (Murata *et al.*, 1995).

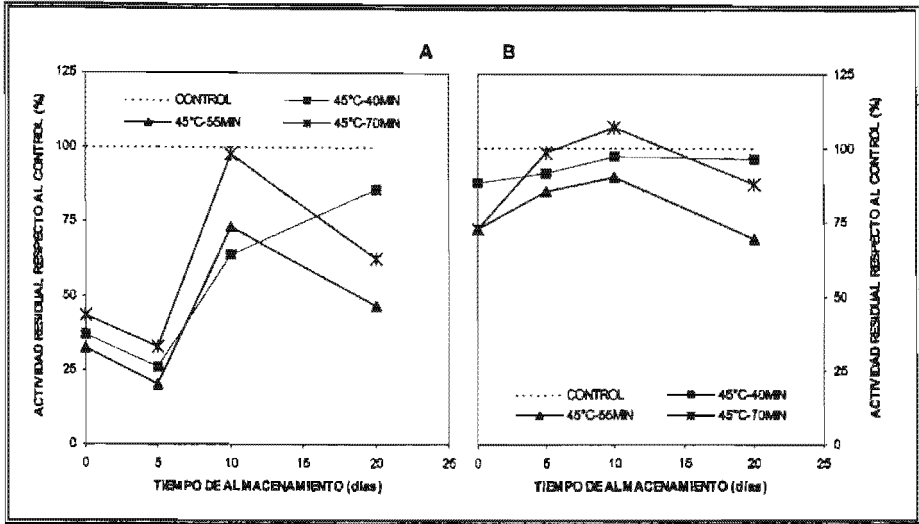


Figura 54. Actividad residual de PPO de mangos 'Manilla' tratados térmicamente y almacenados a 10°C, en la piel (A) y la pulpa (B).

Las actividades de POD evaluadas en mangos almacenados a 10°C muestran valores semejantes en todos los tratamientos y estadios, hasta el máximo climaterio (10º día), ya que en la senescencia, las actividades de PDO son mayores con respecto al control (Figura 55A). Para la pulpa, en el preclimaterio si se logró inactivar la actividad de POD, pero en los siguientes estadios se mantuvo muy similar al control, e incluso alcanzó niveles superiores (Figura 55B). En la piel, a partir del 5º día la actividad es mayor que la del control en todos los tratamiento térmicos; mientras que en pulpa hay una ligera disminución al 5º día y posteriormente aumentó en el 10º día, alrededor del 50%.

Estudios de Matto y Modi, (1975) mostraron que en mango la peroxidasa fue una de las enzimas reguladoras dominantes en el proceso de maduración (citados por Toraskar y Modi, 1984). Durante la maduración normal del plátano, la actividad de peroxidasa soluble aumenta considerablemente conforme la fruta madura. Después de 4 días de

almacenamiento, la actividad de peroxidasa de frutos almacenados a 10°C fue cerca de 30% menos que la actividad de fruto almacenados a 28°C (Toraskar y Modi, 1984), resultados que contrastan con los obtenidos en el presente estudio.

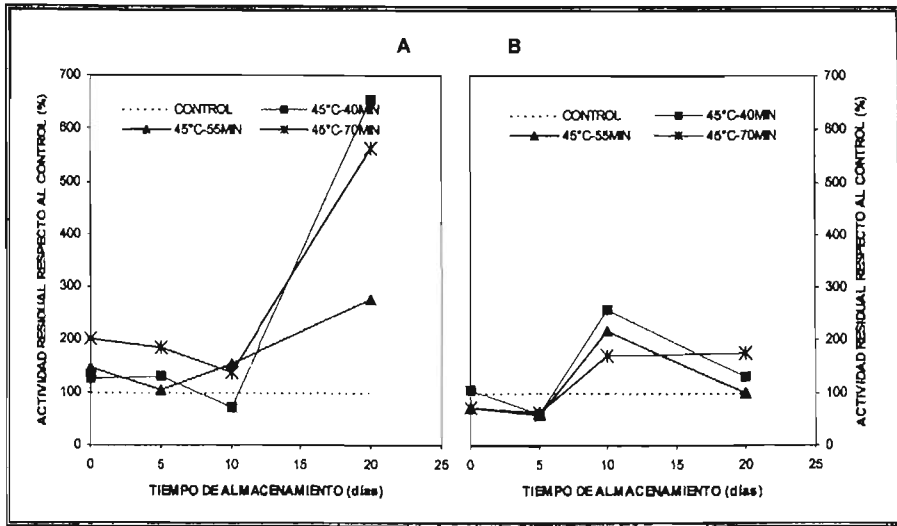


Figura 55. Actividad residual de POD en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 10°C: en piel (A) y pulpa (B).

### 5.6.2.3 Temperatura de almacenamiento a 5°C.

Los resultados de la actividad de PPO en piel de mangos 'Manila' almacenados a 5°C mostraron una disminución en los tratamientos de 45°C por 50 y 70 minutos en el máximo climaterio (10° día) y el postclimaterio (20° día) (Figura 56A). Lo cual se puede comprobar con la correlación significativa que se obtuvo para el contenido de PPO y el índice de daño por frío ( $r=0.9$ ). En la figura 56A se observó que en el tratamiento de 40 minutos la actividad disminuyó hasta 65% al final del almacenamiento. Por otro lado, en los tratamientos a 55 y 70 minutos la actividad residual disminuyó hasta un 50% al final del almacenamiento.

En cuanto a la actividad de PPO en pulpa se observó una disminución durante todo el periodo del almacenamiento como se muestra en la figura 56B. La actividad residual en el tratamiento de 45°C por 40 minutos se mantuvo en 80% aproximadamente, para los tratamientos a 55 y 70 minutos aumento al avanzar la maduración de los mangos, manteniéndose en un rango del 35% en el preclimaterio (5° día) hasta el 80% en el postclimaterio (20° día). En estas condiciones los tratamientos aplicados si lograron disminuir la actividad de PPO.

Respecto a la actividad de POD a una temperatura de almacenamiento de 5°C se obtuvo que el efecto de los tratamientos sobre la piel en el preclimaterio no fue evidente. A partir del inicio del climaterio, los tratamientos disminuyeron la actividad en una proporción de un 25% (Figura 57A). La correlación obtenida para el índice de daño por frío y el contenido de POD fue de  $r=0.87$ , que nos indica que si hubo efecto significativo de los tratamientos sobre la actividad de esta enzima. En pulpa, la efectividad de los tratamientos a 55 y 70 minutos sobre la actividad de las enzimas si es evidente ya que la actividad residual (Figura 57B) se mantiene entre un 50 y 70%.

Haard y Timbie (1973), encontraron que durante los daños por frío las peroxidasas soluble y de la pared límite aumentan después de 10-15 días de almacenamiento, mientras que la peroxidasa del límite intracelular exhibe un insignificante cambio (citados por Toraskar y Modi, 1984).

En trabajos de Zauberman *et al.* (1988) con mango 'Keitt' almacenados a 5°C, la actividad de peroxidasa, siguió siendo baja por 14 días pero, después de la aparición de los síntomas de daño por frío, la actividad aumento aunque la fruta permaneció a baja temperatura. Después de transferir la fruta a 20°C, la actividad de la peroxidasa alcanzó mas altos niveles en la piel de frutos dañados por frío que los frutos madurados a 20°C.

En otros trabajos en los que se evaluó la actividad de PPO de mangos 'Manila' refrigerados se observó que aumentó tanto a 6°C como aquellos almacenados a 12°C, y ambos tuvieron actividades máximas en el día 16. Después de observar el pico de la actividad de PPO, los mangos se colocaron a 25°C para maduración directa mostrando pequeñas actividades enzimáticas. Muchos autores han encontrado que la exposición de frutos a daños por frío a 6°C causan rompimiento de la estructura celular, aumentando

por la solubilización de PPO y facilitando el contacto con los sustratos fenólicos (Mayer y Harel, 1979; Shewfelt y Prusia, 1993).

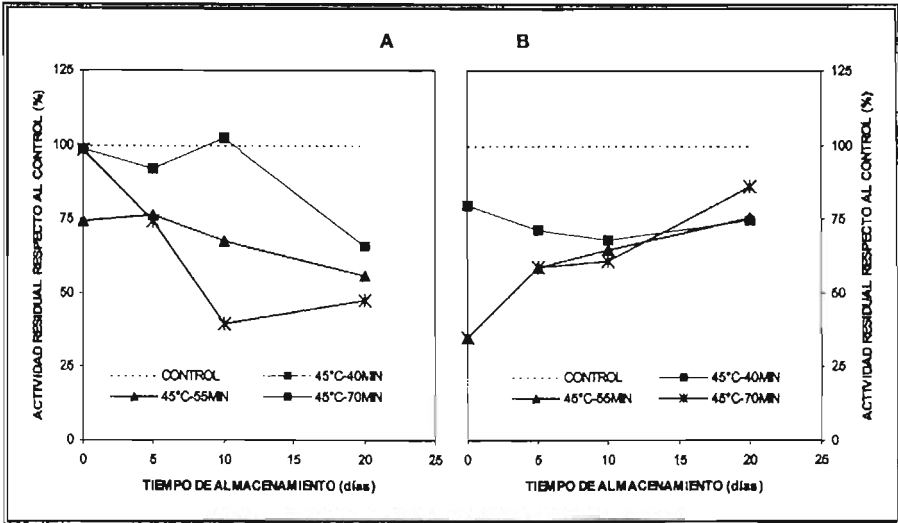


Figura 56. Actividad residual de PPO en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 5°C, en la piel (A) y pulpa (B).

Wang (1982) reportó que los tilacoides de los cloroplastos exhiben descompartimentación que puede estar relacionada con PPO, que puede interactuar libremente con estos sustratos, entonces se conduce al oscurecimiento. En etapas tempranas de madurez la presencia de ácido cítrico puede que prevenga la actividad de PPO.

Selvarak y Kumar (1989), encontraron que la actividad de PPO aumentó ligeramente del preclimaterio a la etapa de inicio del climaterio y entonces disminuye hasta el máximo climaterio en mangos 'Banganapalli', 'Dasher', 'Fácil' y 'Langra'. Sin embargo, en las variedades 'Alphonso', 'Suvarnarekha' y 'Totapuri', la actividad disminuye del preclimaterio al máximo climaterio. El estudio de la actividad de enzimas envueltas en el ablandamiento y la polifenol oxidasa durante la maduración revela una considerable variabilidad en los niveles de actividad existente entre las siete variedades de mango.

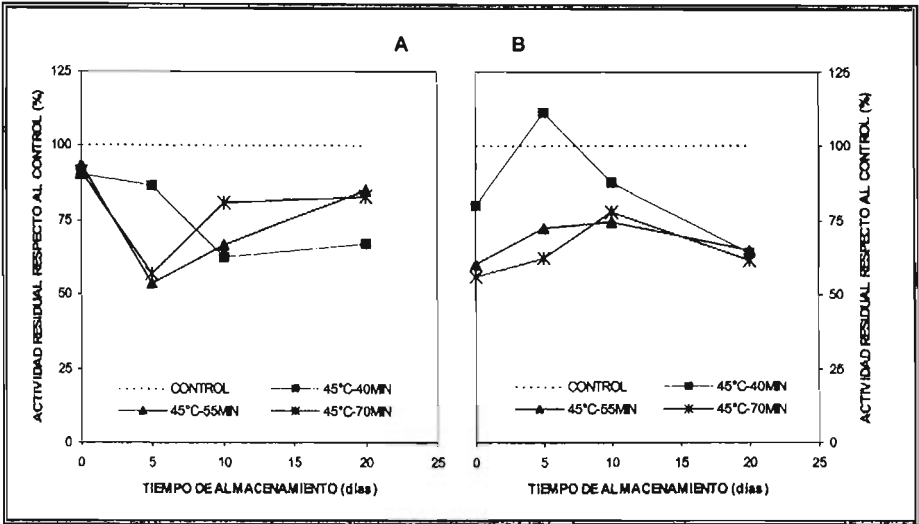


Figura 57. Actividad residual de POD en mangos 'Manila' tratados térmicamente y almacenados a 5°C, en la piel (A) y pulpa (B)

De nuestros resultados podemos destacar que la efectividad de los tratamientos térmicos sobre las actividades de PPO y PDO a las tres temperaturas de almacenamiento fue mayor en los primeros estadios, preclimaterio e inicio del climaterio, que en el resto de la maduración del fruto. Aunque también es importante mencionar que en todos los casos las actividades de PPO y PDO fueron 30 veces mayores en la pulpa que en la piel de los mangos 'Manila'. Los mangos almacenados a temperaturas de 5 y 10°C presentaron signos de daño por frío (ligeras manchas marrón en la piel), sin embargo no se encontró una relación directa con las actividades enzimáticas de la PPO y PDO.

## 6. CONCLUSIONES

---

## 6. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que:



Los tratamientos por inmersión en agua caliente a 45°C por 40, 55 y 70 minutos no alargaron la vida útil del mango 'Manila' almacenado a temperatura ambiente. Sin embargo, estos tratamientos no presentaron efecto en los parámetros de calidad: pH, acidez, sólidos solubles, firmeza y color (luminosidad, cromaticidad y tono), tampoco se detectó un efecto en las características sensoriales de los frutos.



Los tratamientos por inmersión en agua caliente a 45°C por 40 minutos permitieron reducir el índice de daño por frío en mangos 'Manila', por lo que estos tratamientos fueron efectivos para aumentar la tolerancia al almacenamiento a bajas temperaturas en este fruto.





La poliamina presente en el mango 'Manila' fue la espermidina. Esta poliamina se encontró en la pulpa y en concentraciones superiores en la piel del mango. Los cambios en los niveles de espermidina no juegan un papel importante en la disminución de la susceptibilidad al frío, más bien esos cambios podrían relacionarse con una respuesta de defensa del fruto ante el estrés por altas temperaturas. Además esta poliamina presentó también cambios relacionados con el proceso de maduración del fruto.



Se desarrolló exitosamente un método analítico para la determinación de putrescina, espermidina y espermina utilizando la técnica de electroforesis capilar con detección indirecta. El método es lineal en un rango de 5 a 50 ppm para putrescina, 5 a 155 ppm para espermidina y 5 a 100 ppm para espermina. Esta metodología permite ser aplicada al análisis rutinario de gran cantidad de muestras ya que es de bajo costo, amigable al ambiente y miniaturizado.



 Los tratamientos por inmersión en agua caliente no afectaron a las actividades de la peroxidasa en piel y pulpa de mango, solamente se provocó una ligera inactivación inmediata al tratamiento, con una recuperación al final del almacenamiento. Esta enzima si presentó una relación con el índice de daños por frío, por lo que los síntomas de este desorden fisiológico si se encontraron relacionados con la actividad de la POD en la piel de mango 'Manila'.

 Los tratamientos por inmersión en agua caliente no afectaron a las actividades de la polifenol oxidasa en la piel y pulpa de mango, solamente se provocó una ligera inactivación inmediata al tratamiento, con una recuperación al final del almacenamiento. Esta enzima presentó una relación con el índice de daños por frío, por lo que los síntomas de este desorden fisiológico si se encontraron relacionados con la actividad de la PPO en mango 'Manila'.






## **7. RECOMENDACIONES**

---

---

## 7. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se recomienda:

-  Estudiar otras variedades de mango como: 'Ataúfo', 'Kent', 'Keitt', 'Tommy Atkins' y 'Haden', para establecer las diferentes susceptibilidades al frío y de esta manera mejorar su manejo postcosecha.
  
-  Desarrollar y evaluar el efecto de otros tratamientos térmicos para el control de los daños por frío en mango como: tratamientos por UV-C, microondas, aire caliente o vapor caliente humidificado.
  
-  Desarrollar otros métodos para la detección y cuantificación de poliaminas (electroforesis capilar con detección de fluorescencia inducida por láser ó cromatografía capilar micelar electrocinética) que permitan detectar niveles más bajos de poliaminas.
  
-  Profundizar en el papel que juegan las poliaminas, realizando estudios sobre las enzimas relacionadas con su biosíntesis como: la arginina descarboxilasa y la ornitina descarboxilasa, así como su relación con la biosíntesis del etileno.
  
-  Evaluar tratamientos con poliaminas exógenas para establecer su efectividad con los daños por frío y los cambios en firmeza en mango.

## **8. ANEXOS**

---

---

## 8. ANEXOS

### ANEXO A

#### ELECTROFORESIS CAPILAR (EC)

##### 1. Introducción.

Una de las técnicas de separación más utilizadas en la actualidad en los países de primer mundo es la Electroforesis Capilar, de gran importancia en el análisis y purificación de biomoléculas apoyando a un sin número de áreas lo que permite resolver gran variedad de problemas analíticos. El término electroforesis es empleado para describir la migración de partículas cargadas bajo la influencia de un campo eléctrico, representa una de las técnicas de separación más ampliamente utilizada en el área de la química (Castillo, 2001).

Aunque la metodología básica involucra la separación de moléculas basada en su carga, hay modificaciones básicas al procedimiento que permiten las separaciones basadas en el tamaño o en el punto isoeléctrico de los analitos, o que permiten la separación de moléculas neutras, mientras el grado de resolución puede permitir incluso la separación de isómeros ópticos.

Se han publicado recientes revisiones en la aplicación de técnicas de CE a la separación de proteínas, fragmentos de DNA, hidratos de carbono y de varias drogas y sus metabolitos (Kemp, 1998). Sin embargo, en años recientes las aplicaciones de la electroforesis capilar se ha extendido al análisis de alimentos (Frazier, 2001; Frazier y Papadopoulou, 2003). Por citar algunos ejemplos de la aplicación de la EC en esta área tenemos: el análisis de aditivos en bebidas, en los que a pesar de la naturaleza química tan diversa de cada aditivo se han podido separar y cuantificar en una sola corrida. Dentro de estos aditivos están incluidos edulcorantes, conservadores y colorantes, lográndose el análisis en un tiempo menor a 15 minutos (Frazier *et al.*, 2000).

Otra de las aplicaciones más exitosas ha sido el análisis de proteínas de leche y de cereales (Recio *et al.*, 2001; Bean y Lookhart, 2001). Esta técnica ha sido particularmente aplicada en la detección de adulteraciones ya que las proteínas de diferente fuente animal presentan una migración diferente en la electroforesis. Otras aplicaciones consisten en el monitoreo de péptidos que se forman por la acción de enzimas proteolíticas o por el efectos de la presión y el calentamiento en proteínas. Además de la identificación de variaciones genéticas para la identificación de cultivos. El análisis de vitaminas es otra de las aplicaciones más utilizadas en años recientes (Trenerry, 2001), así como el análisis de pigmentos naturales en alimentos (Watanabe y Terabe, 2000).

## 2. Instrumentación.

El primer equipo comercial fue presentado al mercado internacional en 1988, mostrando un gran número de ejemplos de separaciones eficientes y rápidas de muestras de compuestos iónicos y bio-macromoléculas (Jorgenson y Lukacs, 1981). Cabe señalar que todos los aparatos comerciales aplican esencialmente el mismo principio para realizar cualquier modalidad de EC. La instrumentación en esta técnica es relativamente sencilla; la figura 58 muestra un diagrama esquemático típico de los componentes básicos.

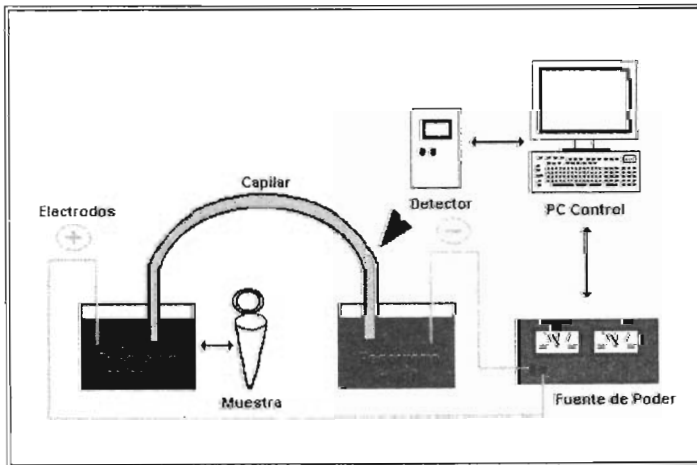


Figura 58. Configuración Básica de un Sistema de Electroforesis Capilar.

Toda separación vía electroforesis se realiza mediante la migración diferencial de solutos (cargados) sometidos a la acción de un campo eléctrico. En el caso de la técnica de EC, la separación se hace en capilares generalmente de sílice fundida, los cuales son llenados con solución buffer.

Los extremos de un capilar de sílice fundida son sumergidos en el buffer contenido en dos viales y el interior del capilar es llenado con ese buffer. Cada vial contiene un electrodo de platino que sirve para establecer contacto eléctrico entre una fuente de poder de alto voltaje y la columna capilar. La introducción de la muestra se realiza reemplazando uno de los viales con el buffer por un vial que contiene la muestra (disuelta en agua o en buffer) y luego aplicando por unos segundos una presión externa con ayuda de una bomba (inyección hidrodinámica) o bien un campo eléctrico (inyección electrocinética). Hecho lo anterior, se aplica el campo eléctrico para llevar a cabo la separación. La detección se realiza en el otro extremo de la columna ya sea en línea (a través de la pared del capilar) con un detector UV-VIS, arreglo de diodos o fluorescencia, o fuera del capilar con detectores como índice de refracción, conductimetría, amperometría, e inclusive espectrometría de masas (ver Tabla 17).

Tabla 17 Detectores usados en EC y sus límites de detección aproximados.

| Límites de detección aproximados       |                         |                         |
|--|-------------------------|-------------------------|
| Detector                               | Moles                   | Molaridad <sup>a</sup>  |
| Absorbancia UV/vis                     | $10^{-13}$ - $10^{-16}$ | $10^{-5}$ - $10^{-7}$   |
| Absorbancia Indirecta                  | $10^{-12}$ - $10^{-15}$ | $10^{-4}$ - $10^{-6}$   |
| Fluorescencia                          | $10^{-15}$ - $10^{-17}$ | $10^{-7}$ - $10^{-9}$   |
| Fluorescencia Indirecta                | $10^{-14}$ - $10^{-16}$ | $10^{-6}$ - $10^{-8}$   |
| Fluorescencia Inducida por Laser (LIF) | $10^{-18}$ - $10^{-20}$ | $10^{-13}$ - $10^{-16}$ |
| Espectrometría de Masas                | $10^{-16}$ - $10^{-17}$ | $10^{-8}$ - $10^{-10}$  |
| Amperometría                           | $10^{-18}$ - $10^{-19}$ | $10^{-7}$ - $10^{-10}$  |
| Conductimetría                         | $10^{-15}$ - $10^{-16}$ | $10^{-7}$ - $10^{-9}$   |

<sup>a</sup> Depende del volumen de muestra inyectado  
Fuente: Guzmán (1993).

Dentro de las principales ventajas del uso de la EC están su completa automatización, la sencillez en el desarrollo de los métodos analíticos, los bajos costos debido al uso de cantidades mínimas de reactivos a emplear, lo que hace posible el uso de solventes caros sin elevar demasiado el costo del análisis. Todas estas ventajas han llevado a incrementar el interés de la comunidad científica por el uso de esta técnica, lo que por consecuencia ha aumentado en forma logarítmica las publicaciones y la edición de libros al respecto durante los últimos 8 años (Li, 1992; Foret *et al.*, 1993; Guzmán, 1993; Jandik y Bonn, 1993; Weinberger, 2000; Camilleri, 1997; Kuhn, 1993; Khaledi, 1998; Altria, 1996; Righetti y William, 1996; Altria, 1998).

### 3. Principios de la Separación.

Dentro del capilar de sílice fundida la superficie sólida se carga negativamente debido a la ionización de los grupos silanol al aplicarse un cierto potencial. Los contra-iones de estos aniones migran hacia el cátodo y dada su solvatación 'acarrean' en su movimiento al electrolito soporte y a los diferentes compuestos con ellos (ver figura 59).

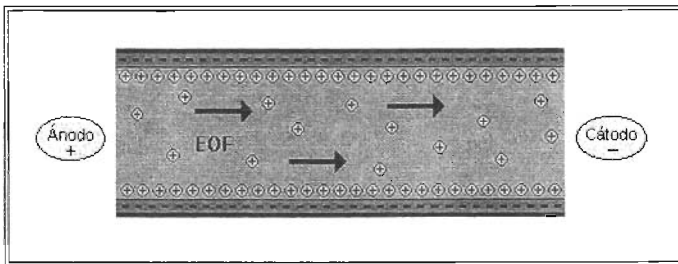


Figura 59. Esquema representando la distribución iónica a través de un capilar de sílice fundida y el flujo electro-osmótico (EOF) resultante.

Este flujo de líquido que se origina bajo la presencia de un campo eléctrico, cuando una solución iónica está en contacto con una superficie sólida cargada, se denomina flujo electro-osmótico (EOF por sus siglas en inglés).



La velocidad de un ion ( $v$ ), cuando no hay flujo electro-osmótico presente, esta dada por la siguiente ecuación:

$$v = \mu E$$

donde  $\mu$  es la movilidad electroforética y  $E$  es el potencial aplicado (en volts por unidad de longitud). La movilidad electroforética depende del tamaño y carga de las especies iónicas, de la naturaleza y concentración del electrolito soporte y de la temperatura.

El EOF puede modificar la migración de los compuestos, por lo tanto, si se mueven a la misma dirección que los analitos, la velocidad de éstos será mayor, si por otro lado, se mueven en contra del EOF su velocidad será disminuida. Las moléculas neutras se moverán a la misma velocidad que el EOF y este hecho permite determinar experimentalmente la velocidad del EOF, mediante la adición de un marcador neutro. Debido a que el EOF posee un perfil de flujo plano, éste no contribuye de una forma significativa a la dispersión de las zonas de los componentes de la muestra. Ésta es una diferencia muy importante cuando se compara con el perfil de flujo parabólico causado por la introducción de líquido a la columna por una bomba, como se observa en la cromatografía de líquidos. Por lo tanto por EC siempre se obtendrán mayores eficiencias que por el método tradicional utilizado de Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR).

#### 4. Clasificación de las Técnicas Electroforéticas.

Diferentes técnicas electroforéticas se han desarrollado y se clasifican de acuerdo a las propiedades que son determinantes para realizar la separación. En teoría, cualquier compuesto que difiera en su proporción carga/tamaño puede ser separado por *electroforesis capilar de zona* (ECZ). Sustancias neutras y/o cargadas que varíen en su coeficiente de partición entre una micela y el electrolito soporte (buffer), pueden ser separadas por *cromatografía micelar electrocinética* (CME). Si algunas moléculas tienen la misma proporción carga/tamaño, pero poseen diferentes pesos moleculares y/o forma espacial, pueden ser separados por *electroforesis capilar en gel* (ECG). Si los compuestos difieren en su punto isoeléctrico pueden ser separados por *enfoco isoeléctrico capilar* (EIC). Otra variante de la EC es la *isotacoforesis capilar* (ITC), que separa analitos por su proporción carga/tamaño, cuando están bajo un gradiente de

campo eléctrico dentro del capilar, generado por un medio discontinuo (gradiente de composición de buffer). Durante el presente trabajo se utilizó la Electroforesis Capilar de Zona por ello solo haremos referencia a esta técnica.

## 5. Electroforesis Capilar De Zona.

La *Electroforesis Capilar de Zona* (ECZ) es la forma más simple de EC principalmente porque el capilar es llenado sólo con un electrolito soporte (buffer), donde los analitos se separan debido a sus diferencias de movilidad cuando se encuentran bajo un campo eléctrico. Estas diferencias de movilidad generan una diferente migración de los analitos en zonas discretas y a diferentes velocidades, por lo que alcanzarán el detector a diferentes tiempos. La separación de mezclas con analitos aniónicos y catiónicos es posible debido a la influencia del flujo electro-osmótico (FEO). Los analitos neutros no migran por sí solos, pero coeluyen en presencia del FEO.

## 6. Metodología General en la Electroforesis Capilar de Zona (ECZ).

Pasos a seguir en una Separación Electroforética:

1. El capilar se lava con una solución de hidróxido de sodio 0.1-1M para retirar las posibles impurezas y activar los grupos silanol de la sílice fundida, de la que está construido el capilar. Los lavados se llevan a cabo aplicando presión o vacío.
2. Se enjuaga el capilar con agua para retirar el exceso de hidróxido de sodio.
3. Se enjuaga el capilar con el electrolito soporte a utilizar, (dependiendo la muestra a analizar) quedando éste con electrolito soporte en su interior.  
Los electrodos de platino están conectados a la fuente de poder y sumergidos en los depósitos que contienen electrolito soporte limpio, junto con los extremos del capilar.
4. La introducción de la muestra en el capilar se puede realizar ya sea hidrodinámica o electrocinéticamente.
5. Una vez que la muestra se encuentra dentro del capilar, entonces se aplica una diferencia de voltaje (o de corriente) que puede ser hasta de  $\pm 30$  kV (200 mA). Entonces las especies iónicas comienzan a migrar con la dirección y velocidad determinadas por su carga y masa. Las especies iónicas, pasan por el detector que puede estar situado en el extremo del tubo capilar opuesto al sitio de inyección de la

muestra (detector Ultravioleta-Visible), o bien en cualquier parte del tubo capilar (detectores electroquímicos).

6. La señal analítica obtenida del detector (cualquiera que este sea), es adquirida y evaluada por computadora (Castillo, 2001).

### **6.1. Introducción de la muestra o Técnica de Inyección EN ECZ.**

Los objetivos de la introducción de la muestra es que ésta entre en el capilar de una manera adecuada y reproducible. Es un paso importante puesto que en EC los capilares tienen un diámetro interno pequeño (entre 25 y 50  $\mu\text{m}$ ), por lo que el volumen de muestra se limita a sólo algunos nanolitros (nl); grandes volúmenes provocan ensanchamiento de picos y pueden afectar la separación (Castillo, 2001).

Ahora bien la inyección cuantitativa de la muestra se puede lograr por diversos métodos: los dos más usados son el hidrodinámico y el electrocinético. Algunas veces el volumen de la muestra no es cuantitativo aunque puede calcularse (Heiger, 1997).

#### **6.1.1 Inyección Hidrodinámica.**

La inyección hidrodinámica también llamada inyección neumática, se realiza mediante diferencia de presión, por bombeo o bien por vacío, es decir, forzando la introducción de la muestra al capilar. Este es un sistema confiable y no selectivo. Con un control preciso de la presión y el tiempo de inyección se pueden obtener inyecciones altamente reproducibles (Rivera, 1996).

#### **6.1.2 Inyección Electrocinética.**

La inyección electrocinética se realiza mediante la electromigración de los iones presentes en la muestra al aplicarse un campo eléctrico, por lo que el Flujo Electroosmótico es un factor que afecta esta modalidad de inyección. (Rivera, 1996; Texas A&M University System, 1996).

La muestra es introducida aplicando un pequeño voltaje, normalmente de 5 a 10 kV (positivo o negativo), por un tiempo determinado (normalmente 5-15 segundos). El

voltaje provoca que los iones de la muestra (cationes o aniones, dependiendo del signo del voltaje aplicado) migren selectivamente al interior del capilar. Siendo que los distintos componentes de la muestra migran en distintas proporciones, la cantidad de cada componente que entra al capilar es distinta a la presente en la muestra. Con esta modalidad de inyección, por un lado se tiene la ventaja que es una inyección selectiva, solo un tipo de iones entra al capilar y los componentes neutros no se introducen, sin embargo, por otro lado al realizarse la inyección ésta modifica la composición de la muestra y por lo tanto, ésta no puede volver a ser utilizada para fines de cuantificación (Castillo, 2001).

## 9. BIBLIOGRAFÍA

---

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Abu-Sarra, A. F. y Abu-Goukh, A. A. (1992). Changes in pectinesterase, polygalacturonase and cellulase activity during mango fruit ripening. *Journal of Horticultural Science*, **67**: 561-568.
2. Agnihortri, B. N; Kapoor, K. L. y Srivastaba, J. C. (1963). Physico-chemical changes in Dusehri mango during storage. *Punjab Horticultural Journal*, **3**: 286-291.
3. Aina, J. O. (1990). Physico-chemical changes in African mango (*Jrvingia gabonensis*) during normal storage ripening. *Food Chemistry*, **36**(3): 205-212.
4. Ali, A. M; Lazan, H; Abu, S; Aziz, A. y Abdul, R. (1991). Peranan enzimenzim pektolitik dalam pemecahan pektin semasa pemasakan mangga. *Proceedings of the Third National Biology Seminar*, Bangi, Selangor, Malaysia, pp. 47-30.
5. Ali, Z. M; Abu, S. y Lazan, H. (1990). Glycosidases in ripening mango. *Transactions of the Malaysian Society of Plant Physiology*, **1**: 11-14.
6. Ali, Z. M; Armugam, S. y Lazan, H. (1995).  $\beta$ -Galactosidase and its significance in ripening mango fruit. *Phytochemistry*, **38**: 1109-1114.
7. Altman, A. (1989). Polyamines and plant hormones. En: *The Physiology of Polyamines*. U. Bachrach y Y. M. Heimer (editores), Vol. II, CRC Press, Boca Ratón, Florida, pp. 121-145.
8. Altria, K. D. (1996). *Capillary Electrophoresis Guidebook: Principles, Operation, and Applications*. Chapman & Hall, London, pp. 1-349.
9. Altria, K. D. (1998). *Analysis of Pharmaceuticals by Capillary Electrophoresis*. Vieweg Publishing, Wiesbaden, pp. 1-176.
10. Andrade, E. H. A.; Maia, J. G. S. y Gracas, B. M. (2000). Aroma volatile constituents of Brazilian varieties of mango fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, **13**(1): 27-33.
11. Anzaldúa, A. *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica*. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 1994.

12. AOAC (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. AOAC, Food Composition; Additives; Natural Contaminants Volume Two. Published by the Association of Official Analytical Chemist, Inc. Arlington, Virginia, USA, 15ª Edition, 1298 pp.
13. Apelbaum, A; Burgoon, A. C; Anderson, J. D; Lieberman, M; Ben-Arie, R. y Mattoo, A. K. (1981). Polyamines inhibit biosynthesis of ethylene in higher plant tissue and fruit protoplasts. *Plant Physiology*, **68**: 453-456.
14. Arras, G. y Usai, M. (1992). Reduction of chilling injury by intermittent warming during cold storage of Thompson Navel oranges. *Agricultural Medicine*, **122**: 90-96.
15. Artés, F. (1995a). Revisión: Innovaciones en los tratamientos físicos para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en la postrecolección, I. Pretratamientos térmicos. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **35**: 45-64.
16. Artés, F. (1995b). Revisión: Innovaciones en los tratamientos físicos para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en la postrecolección, II. Tratamientos térmicos cíclicos. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **35**: 139-149.
17. Artés, F.; Escriche, A. J. y Marin, J. G. (1993). Intermittent warming reduces chilling injury and decay of tomato fruit. *Journal of Food Science*, **59**: 1053-1056.
18. Artés, F; Tudela, J. A y Gil, M. I. (1998). Improving the keeping quality of pomegranate fruit by intermittent warming. *Food Research and Technology*, **207**: 316-321.
19. Asociación 5 al día (2003). Disponible en: [http://www.5aldia.com/v\\_5aldia/alimentos/frutasver.asp?te=60&ali=45](http://www.5aldia.com/v_5aldia/alimentos/frutasver.asp?te=60&ali=45)
20. Azcon-Bieto, J y Talon, M. (1993). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Interamericana Mc Graw-Hill. España. pp. 581.
21. Baez-Sanudo, R. (1997). Manejo Postcosecha del Mango. Empacadoras de Mango de Exportación, A. C. México. ISBN 970-919-39-0-2, 92.

22. Bagni, N. (1989). Polyamines in plant growth and development. En: *The Physiology*, **88**: 996-998.
23. Bagni, N. y Tomigiani, P. (1992). Polyamines: A new class of growth substances. En: Karszen, C. M; Van Lood, L. C. y Vreugdenhil, D. (editores), *Progress in Plant Growth Regulation*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp. 64-275.
24. Bandyopadhyay, C. y Gholp, A. S. (1973a). Changes in fatty acids in ripening mango pulp (variety Alphonso). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **21**: 496-497.
25. Bandyopadhyay, C. y Gholp, A. S. (1973b). Relationship of aroma and flavor characters of mango (*Mangifera indica* L.) to fatty acid composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **24**: 1497-1503.
26. Baqui, S. M; Madoo, A. K. y Modi, V. V. (1977). Glyoxylate metabolism and fatty acid oxidation in mango fruit during development and ripening. *Phytochemistry*, **16**(1): 51-54.
27. Bauer, K. (2000). Tropical fruit flavors: a flavorist's perspective. *Cereal Foods World*, **45** (5): 204-207.
28. Bean, S. y Lookhart, G. (2001). High-performance capillary electrophoresis of meat, dairy, and cereal proteins. *Electrophoresis*, **22**(19): 4207-4215.
29. Bello, J. (2000). *Ciencia bromatológica, Principios generales de los alimentos*. Ed. Díaz de Santos, Madrid, España, 577 pp.
30. Ben-Arie, R; Lavee, S. y Guelfat-Reich, S. (1970). Control of wooly breakdown of Elberta peaches in cold storage, by intermittent exposure to room temperature. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **95**: 801-803.
31. Biasi, R; Bagni, N. y Costa, G. (1988). Endogenous polyamines in apple and their relationship to fruit set and fruit growth. *Physiology Plantarum*, **73**: 201-205.
32. Bruinsma, J. y Paull, R. E. (1984). Respiration during postharvest development of soursop fruit (*Annona muricata* L.). *Plant Physiology*, **76**: 131-138.



33. Brusewitz, G. H.; McCollum, T. G. y Zhang, X. (1991). Impact bruise resistance of peaches. *Transactions of the ASAE*, **34**: 962-965.
34. Burg, S. P. y Burg, E. A. (1962). Role of ethylene in fruit ripening. *Plant Physiology*, **37**: 179-189.
35. Cabrera, R. H. y Salveit, M. E. (1990). Physiological response to chilling temperatures of intermittent warmed cucumber fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **115**: 256-261.
36. Camilleri P. (1997). *Capillary Electrophoresis: Theory and Practice*. 2ª Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 1-576.
37. Cano, M. P; Marín, M. A. y Fúster, C. (1997). Differences among Spanish and Latin American banana cultivars: Morphological, chemical and sensory characteristics. *Food Chemistry*, **59**: 411-419.
38. Cano, P; Marín, M. A. y Fúster, C. (1990). Effects of some thermal treatments on polyphenoloxidase and peroxidase activities of banana (*Musa cavendishii*, var *enana*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **51**: 223-231.
39. Carbonell, J. y Navarro, J. L. (1989). Correlation of spermine levels with ovary senescence and with fruit set and development in *Pisum sativum* L. *Planta*, **178**:482-487.
40. Carbonell-Barrachina, A; Valero-Garrido, D; Martínez-Romero, D; Serrano-Mula, M; Burló-Carbonell, F; Martínez-Sánchez, F. y Riquelme-Ballesteros, F. (2000). Poliaminas. Biosíntesis, metabolismo y su papel en la maduración y manipulación posrecolección de frutos. *Food Science Technology Introduction*, **6**(2): 85-95.
41. Castillo-Jiménez, E; Vargas-Martínez, M. G. y Trejo-Márquez, M. A. (2004). Determinación de poliaminas en frutas por electroforesis capilar con detección indirecta. Memorias in extenso del XVIII Congreso Nacional de Química Analítica. Editadas por UAM Iztapalapa. Área de Química Analítica. México. pp. 79-84.

42. Castillo-Rodríguez, Miriam Aidé (2001). *Desarrollo de un programa ambiente multimedia sobre electroforesis capilar*. UNAM. Tesis de Químico Farmacéutico Biólogo.
43. Castro, M; Gascón, S; Pujol, M; Sans, J. M. y Pla, L. V. (1989). *Validación de Métodos Analíticos*, Monografía AEFI. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Editada bajo el patrocinio de Hewlett Packard.
44. Codex Alimentarius (1993). Norma del codex para el mango Codex Stan 184-1993. Disponible en: [http://www.codexalimentarius.net/web/standard\\_list.do?lang=es](http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=es)
45. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A. C. (2002). *Guía de Validación de Métodos Analíticos*. 123 pp.
46. Corporación Colombiana Internacional (1992). *Mango, Origen y Botánica*. Disponible en: <http://www.cci.org.co>
47. Correa Domínguez Sandra Verónica (2002). *Estudio de Inteligencia Tecnológica para el uso integral del mango (Mangifera indica L.)*. UNAM. Tesis de Ingeniería en Alimentos.
48. CoSeteng, M. Y. y Lee, C. Y. (1987). Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *Journal of Food Science*, **52**: 985-989.
49. Cutting, J. G. M; Bower, J. P; Wolstenholme, B. N. y Hofman, P. J. (1990). Changes in ABA, polyphenol oxidase, phenolic compounds and polyamines and their relationship with mesocarp discoloration in ripening avocado (*Persea Americana* Mill.) fruit. *Journal of Horticultural Science*, **65**: 465-471.
50. Chatpar, H. S; Mattoo, A. K. y Modi, V. V. (1971). Biochemical studies on chilling injuries in mangoes. *Phytochemistry*, **10**: 1007-1009.
51. Chen, J. S; Preston, J. F; Wei, C. I; Hooshar, P; Gleeson, R. A. y Marshall, M. R. (1992). Structural comparison of crustacean, potato and mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**: 1325-1330.

52. Danner, D. J; Bricmac, J. R; D. J; Archeneaux, D. y Patel, V. (1973). The oxidation of phenol and its reaction product by horseradish peroxidase and hydrogen peroxide. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **156**: 759-763.
53. Das, S; Bose, A. y Ghosh, B. (1995). Effect of salt stress on polyamine metabolism in *Brassica campestris*. *Phytochemistry*, **39**: 283-285.
54. De León, S. Y. y De Lima, L. S. (1968). Postharvest changes in some physical and chemical properties of Pico mangoes (*Mangifera indica* Linn. Var. Pico). *Philippine Journal of Science*, **97**: 337-347.
55. Dethmers, A. S. (1981). Sensory evaluation guide for testing food and beverage products. *Food Technology*, **35**: 50-59.
56. Doreyappa-Gowda, G. I. N. y Huddar, A. G. (2001). Studies on ripening changes in mango (*Mangifera indica* L.) fruits. *Journal of Food Science and Technology*, **38**(2): 135-137.
57. Drolet, G; Dumbroff, E. B; Legge, R. L. y Thompson, J. E. (1986). Radical scavenging properties of polyamines. *Phytochemistry*, **25**: 367-371.
58. Eaks, I. L. (1980). Effect of chilling on respiration and volatiles of California lemon fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **105**: 865-869.
59. El-Shiekh, A. F. (1996). Effect of different postharvest hot water treatments on quality and storability of Marsh grapefruit. *Gartenbauwissenschaft*, **61**: 91-95.
60. Engel, K. H. y Tressel, R. (1983). Studies on the volatile components of two varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **31**: 796-801.
61. Escribano, M. I. y Merodio, C. (1994). The relevance of polyamine levels in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit ripening. *Journal of Plant Physiology*, **143**: 207-212.
62. Esquivel, B. (2004). Validación de Métodos en Cromatografía Líquida Moderna, Aplicaciones en la Industria Farmacéutica. Curso impartido en el Congreso de la Asociación Mexicana de Química Analítica, Pachuca Hidalgo.

63. Evans, P. y Malmberg, R. (1989). Do polyamines have roles in plant development?. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **40**: 235-269.
64. FAO, Food and Agriculture Organization of The United Nations (2004). Base de datos (FAOSTAT). Disponible en <http://www.fao.org>
65. Farooqui, Q. A; Sattar, A; Daud, K. y Hussain, M. (1985). Studies on the postharvest chilling sensitivity of mango fruit (*Mangifera indica* L.). *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, **98**: 220-221.
66. Faust, M. y Wang, S. Y. (1993). Polyamines in horticultural important plants. *Horticultural Review*, **14**: 333-356.
67. Feng, J. y Baker, A. V. (1993). Polyamine concentration and ethylene evolution in tomato plants under nutritional stress. *HortScience*, **28**: 109-110.
68. Fernández-Trujillo, J. P. y Artés, F. (1997). Keeping quality of cold stored peaches using intermittent warming. *Food Research International*, **30**: 441-450.
69. Flores, H. E. (1990). Polyamines and plants stress. En: *Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, Wiley-Lyss, Inc., pp. 217-239.
70. Flores, H. E. y Filner, P. (1985a). Metabolic relationship of putrescine, GABA and alkaloids in cell and root cultures of *Solanaceae*. En: *Primary and Secondary Metabolism of Plant Cell Cultures*. K. H. Neumann, W. Bartz y E. Reinhard (eds), Springer-Verlag, Berlín, pp. 174-185.
71. Flores, H. E. y Filner, P. (1985b). Polyamine catabolism in higher plants: Characterization of pyrroline dehydrogenase. *Plant Growth Regulation*, **3**: 277-291.
72. Foret, F; Krivanková, L. y Bocek P. (1993). *Capillary Zone Electrophoresis*. VCH, Weinheim, pp. 1-395.
73. Frazier, R. A. (2001). Recent advances in capillary electrophoresis methods for food analysis. *Electrophoresis*, **22**(19): 4197-4206.

74. Frazier, R. y Papadopoulou, A. (2003). Recent advances in the application of capillary electrophoresis for food analysis. *Electrophoresis*, **24**(22-23): 4095-4105.
75. Frazier, R; Inns, E; Dossi, N; Ames, J. y Nursten, H. (2000). Development of a capillary electrophoresis method for the simultaneous analysis of artificial sweeteners, preservatives and colours in soft drinks. *Journal of Chromatography A*, **876**(1-2): 213-220.
76. Frylinck, L; Dubery, I. A. y Schabort, J. C. (1987). Biochemical changes involved in stress response and ripening behaviour of  $\gamma$ -irradiated mango fruit. *Phytochemistry*, **26**(3): 681-686.
77. Galston, A. W. (1983). Polyamines as modulators of plants development. *BioScience*, **33**: 382-388.
78. Galston, A. W. y Kaur-Sawhney, R. (1990). Polyamines in Plant Physiology. *Plant Physiology*, **94**: 406-410.
79. García, J. M; Aguilera, C. y Albi, M. A. (1995). Postharvest heat treatment on spanish strawberry (Fragata x ananassa Cv. Tudía). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**: 1489-1492.
80. González-Aguilar, G. A; Buta, J. G. y Wang, C. Y. (2001a). Methyl jasmonate reduces chilling injury symptoms and enhances colour development of 'Kent' mangoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**: 1244-1249.
81. González-Aguilar, G. A; Wang, C. Y; Buta, J. G. y Krizek, D. T. (2001b). Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe 'Tommy Atkins' mangoes. *International Journal of Food Science and Technology*, **36**: 767-773.
82. González-Aguilar, G. A; Zacarías, L. y Lafuente, M. T. (1998). Ripening affects high temperature-induced polyamines and their changes during cold storage of hybrid Fortune mandarins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 3503-3508.
83. González-Aguilar, G. A; Zacarías, L; Mulas, M. y Lafuente, M. T. (1997). Temperature and duration of water dips influence chilling injury, decay and polyamine content in Fortune mandarins. *Postharvest Biology and Technology*, **12**: 61-69.

84. González-Aguilar, G. A.; Zacarías, L.; Pérez-Amador, M. A.; Carbonell, J. y Lafuente, M. T. (2000). Polyamine content and chilling susceptibility are affected by seasonal changes in temperature and by conditioning temperature in cold-stored Fortune mandarin fruit. *Physiologia Plantarum*, **108**: 140-146.
85. Grover, A. y Sinha, S. K. (1985). Senescence of detached leaves in pigeon pea and chick pea: Regulation by developing pods. *Physiology Plantarum*, **65**: 503-507.
86. Guzmán, N. A. 1993. *Capillary Electrophoresis Technology*. Marcel Dekker, New York, pp.1-83.
87. Hakim, A.; Kaukovirta, E.; Pehu, E.; Voipio, I. y Purvis, A. C. (1997). Reducing chilling injury of cold-stored tomato fruits by intermittent warming. *Advances in Horticultural Science*, **11**: 142-146.
88. Hatton, T. T.; Reeder, W. F. y Campbell, C. W. (1968). Ripening and storage of Florida mangoes, *USDA Marketing Research Report No. 725*, Washington D.C. pp. 1-9.
89. Heiger, N. D. (1997). *High performance Capillary Electrophoresis*. Hewlet Packard Company 3a. (ed.) Francia pp. 13-29, 36-39, 42-75, 78-95.
90. Hoffman, H. P.; Szabo, A. y Avers, C. J. (1970). Cytochemical localization of catalase activity in yeast peroxisome. *Journal of Bacteriology*, **104**: 581-584.
91. Huber, D. J. (1983). The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews*, **5**: 169-219.
92. Infoagro, El cultivo del mango. (1997). Disponible en <http://www.infoagro.com/frutas/frutas.tropicales/mango.htm>
93. Infoaserca, Revista Claridades Agropecuarias. **31**. (1996). Disponible en <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/indice.asp?numero=31&tema=mango>
94. Jandik, P. y Bonn, G. (1993). *Capillary Electrophoresis of Small Molecules and Ions*. VCH Publishers, Cambridge, pp. 1-425.

95. Janovitz-Klapp, A; Richard, F. y Nicolas, J. (1989). Poliphenol oxidase from apple, partial purification and some properties. *Phytochemistry*, **28**: 2903-2907.
96. Johnson, G. I. y Coates, L. M. (1993). Postharvest diseases of mango. *Postharvest News and Information*, **4**: 27N-34N.
97. Jonh, J; Subbarayan, C. y Cama, H. R. (1970). Carotenoids in 3 stages of ripening mango. *Journal of Food Science*, **35**: 262-265.
98. Jorgenson, J. W. y Lukacs, K. D. 1981. "Zone Electrophoresis in Open-Tubular Glass Capillaries". *Analytical Chemistry*, **53**:1298-1302.
99. Jungalwala, F. B. y Cama, H. R. (1963). Carotenoids in mango (*Mangifera indica* L.) fruit. *Indian Journal of Chemistry*, **1**: 36-40.
100. Kader, A. A. (2002) . Mango. Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. En: Postharvest Technology Research Information Center , Department of Pomology, University of California, Davis, Disponible en: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/espanol/Mango.html>
101. Kahan, R. S; Nadel-Shifman, M; Temkin-Gorodeiski, N; Eisenberg, E; Zauberman, G. y Aharoni, Y. (1968). Preservation of fruit and vegetables by Radiation, p. 3. IAEA, Vienna.
102. Kakkar, R. K. y Rai, V. K. (1993). Plant Polyamines in flowering and fruit ripening. *Phytochemistry*, **33**: 1281-1288.
103. Kemp, G. (1998). Capillary electrophoresis: a versatile family of analytical techniques. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **27**: 9-17.
104. Khaledi, M. G. (1998). "High-Performance Capillary Electrophoresis: Theory, Techniques and Applications". *Chemical Analysis Series*. Wiley & Sons, New York, vol. 146, pp. 1-878.
105. Kondo, S; Posuya, P. y Kanlayanarat, S. (2001). Changes in physical characteristics and polyamines during maturation and storage of rambutans. *Scientia Horticulturae*, **91**: 101-109.

106. Kramer, G. F. y Wang, C. Y. (1989). Correlation of reduced chilling injury with increased spermine and spermidine levels in zucchini squash. *Physiologia Plantarum*, **76**: 479-484.
107. Kramer, G. F. y Wang, C. Y. (1990). Effects of chilling and temperature preconditioning on the activity of polyamine biosynthetic enzymes in zucchini squash. *Journal of Plant Physiology*, **136**: 115-119.
108. Kramer, G. F.; Wang, C. Y. y Conway, W. S. (1991). Inhibition of softening by polyamine application in 'Golden Delicious' and 'McIntosh' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **116**: 813-917.
109. Krishnamurthy, G. V; Jain, N. L. y Bhatia, B. S. (1960). Changes in the physico-chemical composition of mangoes during ripening after picking. *Food Science (Mysore)*, **9**: 277-279.
110. Krishnamurthy, S. y Joshi, S. S. (1989). Studies on low temperature storage of Alphonso mango. *Journal of Food Science and Technology*, **24**: 177-180.
111. Krishnamurthy, S. y Subramanyam, H. (1970). Respiratory climacteric and chemical changes in the mango fruit, *Mangifera indica* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **95**: 333-337.
112. Kruger, J. E; y Reed, G. (1988). Enzymes and color. In *Wheat Chemistry and Technology*, (Y. Pomeranz, ed.) pp. 441-500, AACC Inc., St. Paul, Minn.
113. Kuhn, R. (1993). *Capillary Electrophoresis: Principles and Practice*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 1-439.
114. Kumar, A; Altabella, T., Taylor, M. A. y Tiburcio, A. F. (1997). Recent advances in polyamine research. *Trends in Plant Science*, **2**: 124-130.
115. Kumar, S; Das, D. K; Singh, A. K. y Prasad, U. S. (1994). Sucrose metabolism during maturation and ripening of mango cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, **21**: 27-32.
116. Kushad, M. M. (1998). Changes in polyamine levels in relationship to the double-sigmoidal growth curve of peches. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **123**: 950-955.



117. Laamin, M; Lapsker, Z; Fallik, E; Oubaahou, A. A. y Lurie, S. (1998). Treatment to reduce chilling injury in harvested cucumbers. *Advances in Horticultural Science*, **12**: 175-178.
118. Laguado, N; Pérez, E; Alvarado, C y Marín, M. (1999). Características físicoquímicas y fisiológicas de frutos de guayaba de los tipos Criolla Roja y San Miguel procedentes de dos plantaciones comerciales. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia*, **16**: 382-397. Disponible en: [http://www.redpav-fpolar.ve/fagroluz/v16\\_4/v164z008.html](http://www.redpav-fpolar.ve/fagroluz/v16_4/v164z008.html)
119. Lakshminarayana, S. (1980). Mango. En: Nagy, S. y Shaw, P.E. (editores.) *Tropical and Subtropical Fruits*. AVI Publishing Co., Wesport, Connecticut, pp. 184-257.
120. Lamúa Soldevilla, M. (2000). *Aplicación del frío a los alimentos*. Instituto del frío de Madrid CSIC, Editorial A M V, Ediciones Mundi Prensa 1ª. Edición, pp. 19-103.
121. Lay-Yee, M; Ball, S; Forbes, S. K. y Woolf, A. B. (1997). Hot water treatment for insect desinfestation and reduction of chilling injury of Fuyu persimmon. *Postharvest Biology and Technology*, **10**: 81-87.
122. Lazan, H. y Ali, Z. M. (1993). Cell wall hydrolases and their potential in the manipulation of ripening of tropical fruit. *ASEAN Food Journal*, **8**: 47-53.
123. Lazan, H; Ali, Z. M; Lee, K. W; Voon, J. y Chaplin, G. R. (1986). The potential role of polygalacturonase in pectin degradation and softening of mango fruit. *ASEAN Food Journal*, **2**: 93-98.
124. Lazan, H; Ali, Z. M; Soh, J. S. y Talkah, Z. (1993). The biochemical basis of differential ripening in mango. *Acta Horticulturae*, **341**: 500-511.
125. Ledermann, I. E; Zauberman, G; Weksle, A; Rot, I. y Fuchs, Y. (1997). Ethylene-forming capacity during cold storage and chilling injury development in 'Keitt' mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*, **10**: 107-112.
126. Lee, C. Y. y Jaworski, A. (1988). Phenolics and browning potential of white grapes grown in New York. *American Journal of Enology and Viticulture*, **39**: 337-340.

127. León, D. M; De la Cruz, J; Parkin, K. L. y García, H. S. (1997). Effect of controlled atmospheres containing low O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub> on chilling susceptibility of Manila mangoes. *Acta Horticulturae*, **455**: 635-642.
128. Li, S. F. Y. (1992). "Capillary Electrophoresis Principles, Practice and Applications". *Journal of Chromatography Library*. Elsevier, Amsterdam, **52**: 1-608.
129. Lill, R. E. (1985). Allevation of internal breakdown of nectarines during cold storage by intermittent warming. *Scientia Horticulturae*, **25**: 253-255.
130. Lizada, C. (1993). Mango. En: Seymour, G. B., Taylor, J. E. y Tucker, G. A. (eds) *Biochemistry of Fruit Ripening*. Chapman and Hall, London, pp. 255-271.
131. Lowry, O. H; Rosebrough, N. J; Farr, A. L. y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, **193**: 265-275.
132. Lurie, S. y Klein, J. D. (1990). Heat treatment of ripening apples: differential effects on physiology and biochemistry. *Physiologia Plantarum*, **78**: 181-186.
133. Lurie, S. y Klein, J. D. (1991). Acquisition of low temperature tolerance in tomatoes by exposure to high-temperature stress. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, **116**: 1007-1012.
134. Lurie, S. y Klein, J. D. (1992). Ripening characteristics of tomatoes stored at 12°C and 2°C following a prestorage heat treatment. *Scientia Horticulturae*, **51**: 55-64.
135. Lurie, S; Klein, J. D; Watkins, C; Boss, P. y Ferguson, I. F. (1993). Prestorage heat treatment of tomatoes prevents chilling injury and reversibly inhibits ripening. *Acta Horticulturae*, **343**: 283-285.
136. Lurie, S; Laamim, M; Lapsker, Z. y Fallik, E. (1997). Heat treatments to decrease chilling injury in tomato fruit. Effects on lipids, pericarp lesions and fungal growth. *Physiologia Plantarum*, **100**:297-302.

137. MacLeod, A. J. y De Troconis, N. G. (1982). Volatile components in some mango cultivars. *Phytochemistry*, **21**: 2523-2526.
138. MacLeod, A. J. y Pieres, N. M. (1984). Comparison of volatile components in some mango cultivars. *Phytochemistry*, **23**: 361-366.
139. MacLeod, A. J. y Snyder, C. H. (1985). Volatile components of two cultivars of mango from Florida. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **33**: 380-384.
140. Mahanta, P. K; Boruah, S. K; Boruah, H. K. y Kalita, J. N. (1993). Changes in polyphenol oxidase and peroxidase activities and pigment composition of some manufactured black teas. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **41**: 272-276.
141. Manrique, K. (2002). Nociones del manejo post-cosecha. Proyecto regional papa andina, Centro Internacional de la papa (CIP). Disponible en: [http://www.cipotato.org/papadina/Documents/Nociones\\_demanejo\\_dePostcosecha.pdf](http://www.cipotato.org/papadina/Documents/Nociones_demanejo_dePostcosecha.pdf)
142. Marcellin, P. y Ulrich, R. (1983). Compartement des fruits et légumes en conditions modulées et programées. *International Journal of Refrigeration*, **6**: 329-326.
143. Martin-Tanguy, J. (1985). The occurrence and possible function of hydroxycinnamoyl acid amides in plants. *Plants Growth Regulation*, **3**: 381-399.
144. Mason, H. (1955). Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Advances of Enzymology*, **16**: 105-184.
145. Mathew, A. G. y Parpia, H. A. B. (1971). Food browning as a polyphenol reaction. *Advances of Food Research*, **19**: 75-145.
146. Mathooko, F. M; Kubo, Y; Inaba, A. y Nakamura, R. (1995). Induction of ethylene biosynthesis and polyamine accumulation in cucumber fruit in response to carbon dioxide stress. *Postharvest Biology and Technology*, **5**: 51-65.

147. Mattoo, A. K.; Murata, T.; Pantastico, E. B.; Chachin, K.; Ogata, K. y Phan, C. T. (1975). *Chemical Changes During Ripening and Senescence*. En: *Postharvest Physiology, Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruits and Vegetables*. Pantastico, E. B. (editor), Avi Publ. Company, Westport, Connecticut, USA. Capt. 7, pp. 104-106.
148. Mattoo, A. K. y Modi, V. V. (1969). Ethylene and ripening of mangoes. *Plant Physiology*, **44**: 308-331.
149. Mattoo, A. K. y Modi, V. V. (1970). Partial purification and properties of enzyme inhibitors from unripe mangoes. *Enzymologia*, **39**: 237-247.
150. Mayer, A. M. y Harel, E. (1979). Polyphenol oxidase in plants. *Phytochemistry*, **18**: 193-215.
151. Mc Collum, T. G. y Mc Donald, R. E. (1993). Tolerance of cucumber fruit to immersion in heated water and subsequent effects on chilling tolerance. *Acta Horticulturae*, **343**: 233-237.
152. Mc Collum, T. G.; S'Aquino, S. y Mc Donald, R. (1993). Heat Treatment Inhibits Mango Chilling Injury. *Hort Science*, **28** (3): 187-198.
153. McDonald, R. E. y Kushad, M. M. (1986). Accumulation of putrescine during chilling injury of fruits. *Plant Physiology*, **82**: 324-326.
154. McDonald, R. E.; McCollum, T. G. y Nordby, H. E. (1993). Temperature conditioning and surface treatments of grapefruit affect expression of chilling injury and gas diffusion. *Journal of the American society for Horticultural Science*, **118**: 490-496.
155. McGlasson, W. B. (1970). The Ethylene Factor. En: *The Biochemistry of Fruits and their Products*, Ed. Hulme, A. A., Academic Press, London. UK, Vol. I, Capt. 16, pp. 475-514.
156. McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, **27**:1254-1255.
157. McGuire, R. G. (1997). Market quality of guavas after hot-water quarantine treatment and application of carnauba wax coating. *HortScience*, **32**: 271-274.

158. Medlicott, A. M; Bhogal, M. y Reynolds, S. (1986a). Changes in peel pigmentation during ripening of mango fruit (*Mangifera indica* var. Tommy Atkins). *Annals of Applied Biology* **109**: 651-656.
159. Medlicott, A. P. y Thompson, A. K. (1985). Analysis of sugars and organic acids in ripening mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Keitt) by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **36**: 561-566.
160. Medlicott, A. P; Reynolds, S. B. y Thompson, A. K. (1986b). Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **37**: 469-474.
161. Medlicott, A. P; Sigrist, J. M. M. y Sy, O. (1990). Ripening of mangoes following low-temperature storage. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, **115**: 430-434.
162. Mencarelli, F; Cecantoni, B; Bolini, A. y Anelli, G. (1993). Influence of heat treatment on the physiological response of sweet pepper kept at chilling temperature. *Acta Horticulturae*, **343**: 238-243.
163. Messiaen, J; Cambier, P. y Van Cutsem, P. (1997). Polyamines and pectines. *Plant Physiology*, **113**: 387-395.
164. Miller, A. R. (1992). Physiology, biochemistry and detection of bruising (mechanical stress) in fruits and vegetables. *Postharvest News and Information*, **3**: 53-58.
165. Mitra, S. K. y Baldwin, E. A. (1997). Mango en Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits. Mitra, S. K. (editor). Cab International. 85-122.
166. Modi, V. V. y Reddy, V. V. R. (1967). Carotenogenesis in ripening mango. *Indian Journal of Experimental Biology*, **5**: 233-235.
167. Mohammed, M. y Brecht, K. J. (2002). Reduction of chilling injury in 'Tommy Atkins' mangoes during ripening. *Scientia Horticulturae*, **95**: 297-308.

168. Morga, N. S; Lustre, A. O; Tunac, M. M; Balogot, A. H. y Soriano, M. R. (1979). Physicochemical changes in Philippine Carabao mangoes during ripening. *Food Chemistry*, **4**: 225-234.
169. Morilla, A; García, J. M. y Albi, M. A. (1996). Free polyamine contents and decarboxylase activities during tomato development and ripening. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **44**: 2608-2611.
170. Murata, M; Tsurutani, M; Tomita, M; Homma, S. y Kaneko, K. (1995). Relationship between apple ripening and browning: Changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45** (5); 1115-1121.
171. Nagy, S. y Shaw, P. (1980). *Tropical and subtropical fruits. Composition, properties and uses*. AVI Publishing Co. 570p.
172. Nair, S. y Singh, Z. (2004). Chilling injury in mango fruit in relation to biosynthesis of free polyamines. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, **79**: (4), 515-522.
173. Nathan, R; Altaman, A. and Monselise, S. P. (1984). Changes in activity of polyamine biosynthetic enzymes and polyamine contents in developing fruit tissues of 'Murcott' mandarin. *Scientia Hort.* **22**: 359-364.
174. Nemes, B. V. y Preston, R. D. (1968). Wall development in apple fruit: a study of the life history of a parenchyma cell. *Journal of Experimental Botanic*, **19**: 496.
175. Nyanjage, M. O.; Wainwright, H. y Bishop, C. F. H. (2001). Effects of hot water treatments and storage temperatures on the ripening and the use of electrical impedance as an index for assessing post-harvest changes in mango fruits. *Annals of Applied Biology*, **139**: 21-29.
176. Nyanjage, M. O; Wainwright, H; Bishop, C. F. H. (1998). The effects of hot water treatments in combination with cooling and or storage on the physiology and disease of mango fruits (*Mangifera indica* Linn). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **74**: 566-572.

177. O'Beirne, D. (1990). *Chilling combined with modified atmosphere packaging*. En: *Processing and Quality of Foods* (Vol. 3. Chilled foods: the Revolution in Freshness). Zeuthen, P., Cheftel, J. C., Eriksson, C., Gormley, T.R., Linko, P. y Patulus, K (editores). Elsevier, London, UK. pp. 190-203.
178. O'Hare, T. J. (1995). Postharvest physiology and storage of rambutan. *Postharvest Biology and Technology*, **6**: 189-199.
179. Ormond, D. P. y Beckerson, D. W. (1986). Polyamines as antiozonants for tomato. *HortScience*, **21**: 1070-1071.
180. Paksasom, A; Hayasaka, T; Matsui, H; Ohara, H. y Hirata, N. (1995). Relationship of polyamine content to ACC content and ethylene evolution in Japanese apricot fruit. *Journal of Japan Society of Horticultural Science*, **63**: 761-766.
181. Palmer, J. K. (1971). Banana. En: *Biochemistry of fruits and their products*, Vol. 2, ed. Hulme A. C. Academic Press, London, pp. 65-92.
182. Pandey, S; Ranade, S. A; Nagar, P. K. y Kumar, N. (2000). Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. *Journal of Bioscience*, **25**: 291-299.
183. Park, Y. K; Sato, H; Almeida, T. D. y Moretti, R. H. (1980). Polyphenol oxidase of mango. *Journal of Food Science*, **45**: 1619-1621.
184. Paull, R. E. (1990). *Postharvest Heat Treatments and Fruit Ripening*. *Postharvest News Information*, **1**: 355-363.
185. Paull, R. E. y McDonald, R. E. (1994). Heat and cold treatments, En: *Insect Pest and Fresh Horticultural Products: treatments and Responses*. Paull, R. E. y Armstrong, J. W; (editores). CAB International, Wallingford, pp. 191-222.
186. Pearson, D. (1998). *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Ed. Acribia, S.A. 3º, Reimpresión. Zaragoza, España. 331 pp.

187. Pedrero, D. y Pangborn, R. M. (1989). Evaluación sensorial de los alimentos, Métodos Analíticos. Ed. Alhambra Mexicana, México D. F. 251 pp.
188. Pernezny, K. y Simone, G. W. (2000). Diseases of Mango (*Mangifera indica* L.) En: Committee on Standardization of Common Names for Plants Diseases of the American Phytopathological Society (eds.). Common Names of Plant Diseases. APS Press. Disponible en: <http://www.scisoc.org/resource/common/names/mango.htm>
189. Philippines Department of Trade and Industry. Tribung pinoy: The Filipino Tribe. Disponible en: <http://www.tribo.org/vegetables/mangga.html>
190. PM Productions & PM Ministries, (2002). Disponible en: <http://www.pministries.com/ministeriosalud/nutricion/Frutas.htm#MANGO>
191. Pottf, D. (2000a). Proceso de crecimiento, respiración y maduración 1ª parte. Disponible en: <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/frutas-03.htm>
192. Pottf, D. (2000b). Proceso de crecimiento, respiración y maduración 2ª parte. Disponible en: <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/frutas-04.htm>
193. Prabha, T. N. y Patwardhan, M. V. (1986). Polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzyme activities and their isoenzyme patterns in ripening fruits. *Acta Alimentaria*, **15**:199-207.
194. Purdue University, West Lafayette, USA (2003). Mango *Mangifera indica* L. Disponible en: [http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/mango\\_ars.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/mango_ars.html)
195. Ramos, A. (1999). *Bioquímica y Fisiología de la poscosecha*. Universidad Agraria de la Habana (UNAH). Disponible En: <http://www.isch.edu.cu/biblioteca/anuario1999/asela.htm>
196. Recio, I; Ramos, M. y López-Fandiño, R. (2001). Capillary electrophoresis for the analysis of food proteins of animal origin. *Electrophoresis*, **22**(8): 1489-1502.



197. Rhodes, M. J. C. (1970). *The climateric and Ripening of Fruits*, En: *The Biochemistry of Fruits and their Products*, Hulme, A. C (editor), Academic Press, London, UK, Vol. I, Capt. 17, pp. 521-532.
198. Rhodes, R. H., Wooltorton, L. S. y Hill, A. C. (1981). Changes in Phenolic Metabolism in Fruit and Vegetable Tissues under Stress, En: *Recent Advances in the Biochemistry of Fruit and Vegetables*. Friend, J. y Rhodes, M.J.C. (editores), Academic Press, London, UK. Capt. 11, pp. 191-216.
199. Righetti, P. G. y William, H. (1996). *Capillary Electrophoresis in Analytical Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, pp. 1-576.
200. Rivera Vega, M. P. (1996). *Electroforesis Capilar, una nueva herramienta para la química analítica*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. pp.1-13.
201. Roberts, D. R; Dumbroff, E. B. y Thompson, J. E. (1986). Exogenous polyamines alter membrane fluidity in bean leaves-a basis for potential misinterpretation of their true physiological role. *Planta*, **167**: 395-401.
202. Robinson, S. P; Loveys, B. R. y Chacko, E. K. (1993). Polyphenol oxidase enzymes in the sap and skin of mango fruit. *Australian Journal of Plant Physiology*, **20**: 99-107.
203. Rodov, V; Ben-Yehoshua, S; Albagli, R. y Fang, D. Q. (1995). Reducing chilling and decay of storage citrus fruit by hot water dips. *Postharvest Biology and Technology*, **5**: 119-127.
204. Rodríguez, S. C; López, B. y Chaves, A. R. (1999). Changes in polyamines and ethylene during the development and ripening of eggplant fruits (*Solanum melongena*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 1431-1434.
205. Rodríguez, S. C; López, B. y Chaves, A. R. (2001). Effect of different treatments on the evolution of polyamines during refrigerated storage of eggplants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 4700-4705.
206. Roe, E. y Bruemmer, J. M. (1981). Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of 'Keitt' mangoes. *Journal of Food Science*, **46**: 186-189.

207. Saby-Jonh, K; Bhat, S. G. y Prasada Rao, U. J. S. (2002). Involvement of peroxidase and polyphenol oxidase in mango sap-injury. *Journal of Food Biochemistry*, **26**: 403-414.
208. Saffner, R. A. y Baldi, B. G. (1990). Polyamine levels and tomato fruit development: possible interaction with ethylene. *Plant Physiology*, **92**: 547-550.
209. Sakharov, I. Y; Bautista G; Sakharova, I. V; Rojas, A. y Plethuschkina, O. Y. (1999). *Revista Colombiana de Química*. 1(28): 97-106. Disponible en: <http://www.icfes.gov.co/revistas/recolqui/992801/10quimi.htm>
210. Saltveit, M. E. (1991). Prior temperature exposure affects subsequent chilling injury sensitivity. *Physiologia Plantarum*, **82**: 529-536.
211. Salunkhe, D. K. y Desai, B. B. (1984). *Postharvest Biotechnology of Fruits*. CRC Press, Boca de raton, Florida USA.
212. San Agustín, N. A. (1998). Análisis de posibilidades de incrementar las exportaciones de mango mexicano a Japón. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Disponible en: <http://www.chapingo.mx/investigaciones/pronisea/toma10.htm>
213. Sánchez-Ferrer, A; Bru, R; Cabanes, J. y García-Carmona, F. (1988). Characterization of catecolase and cresolase activities of monastrell grape polyphenol oxidase. *Phytochemistry*, **27**: 319-321.
214. Sarker, S. C. y Muhsi, A. A. A. (1981). A study on the content and interconversions of organic acids of mango (*Mangifera indica* Lin.) at various stages of fruit development. *Bangladesh Journal of Agricultural Science*, **8**: 69-75.
215. Saucedo-Veloz, C; Esparza-Torres, F. y Laksminarayana, S. (1977). Effect of refrigerated temperatures on the incidence of chilling injury and ripening quality of mango fruit. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, **90**: 205-210.
216. Sawada, Y; Iyanagi, T. y Yamazaki, I. (1975). Reaction between redox potentials and rate constants in reactions coupled with the system oxygen-superoxide. *Biochemistry*, **14**: 3761-3764.

217. Sawahata, T. y Neal, R. A. (1982). Horseradish peroxidase mediated oxidation of phenol. *Biochemistry and Biophysics Research Communication*, **109**: 988-994.
218. Schirra, M.; D'hallewin, G.; Cabras, P.; Angioni, A. y Garau, V. I. (1998). Seasonal susceptibility of Torocco oranges to chilling injury as affected by hot water and thiabendazole postharvest dip treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 1177-1180.
219. Schirra, M; Agabbio, M; D'Aquino, S. y McCollum, T. G. (1997). Postharvest heat conditioning effects on early ripening 'Gialla' cactus pear fruit. *HortScience*, **32**: 702-704.
220. Secretaría de Economía (1999). Dirección General de Normas, Norma Mexicana NMX-FF-058-SCFI-1999, Productos Alimenticios No Industrializados para consumo Humano-Fruta Fresca-Mango (*Mangifera indica* L.)-Especificaciones. Disponible en: <http://www.economia.gob.mx/work/normas/nmx/2000/nmx-ff-058-scfi-200.zip>
221. Secretaría de Economía (2002). Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México Calidad Selecta en Mango PC-005-2002. Disponible en: [http://www.mexicocalidadsuprema.com/PC\\_005\\_2002\\_mangopdfpliegos/PC\\_005\\_2002\\_Mango.pdf](http://www.mexicocalidadsuprema.com/PC_005_2002_mangopdfpliegos/PC_005_2002_Mango.pdf)
222. Selvaraj, Y. y Kumar, R. (1989). Studies of fruit softening enzymes and polyphenol oxidase activity in ripening mango (*Mangifera indica* L) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, **26**(4): 218-222.
223. Selvaraj, Y; Kumar, R. y Pal, D. K. (1989). Changes in sugars, organic acids, amino acids, lipid constituents and aroma characteristics of ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, **26**: 306-311.
224. Serrano, M; Martínez-Madrid, M. C; Martínez, G; Riquelme, F; Pretel, M. T. y Romojaro, F. (1996). Review: Role of polyamines in chilling injury of fruit and vegetables. *Food Science and Technology International*, **2**: 195-199.

225. Serrano, M; Martínez-Madrid, M. C; Pretel, M. T; Riquelme, F. y Romojaro, F. (1997). Modified atmosphere packaging minimizes increases in putrescine and abscisic acid levels caused by chilling injury in pepper fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 1668-1672.
226. Serrano, M; Pretel, M. T, Martínez-Madrid, M. C; Riquelme, F; & Romojaro, F. (1998). CO<sub>2</sub> treatment of zucchini squash reduces chilling-induced physiological changes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 2465-2468.
227. Seymour, G. B. y Gross, K. G. (1996). Cell wall disassembly and fruit softening. *Postharvest News and Information*, **7**: 45N-52N.
228. Shashirekha, M. S. y Patwardhan, M. V. (1976). Changes in amino acids, sugars and nonvolatile organic acids in a ripening mango fruit (*Mangifera indica* L. Badami variety). *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, **9**: 369-370.
229. Shewfelt, R. L. y Prusia, S. E. (Eds.)(1993). Postharvest handling. A system approach. Academic Press, Inc. San Diego, CA, USA.
230. Shinshi, H. y Noguchi, M. (1975). Relationships between peroxidase, IAA oxidase and polyphenol oxidase. *Phytochemistry*, **14**: 1255-1258.
231. Shiozaki, S; Ogata, T. y Horiuchi, S. (2000). Endogenous polyamines in the pericarp and seed of the grape berry during development and ripening. *Science Horticulturae*, **83**: 33-41.
232. SIAP-SAGARPA. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (2003). Disponible En: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar-comagri.html>
233. Sifuentes, E. L. (2000). *La producción de frutales y el comportamiento del mercado de trabajo en Nayarit. Estudio del caso sobre el mercado de trabajo de mango*. Disponible en: <http://www.ceddi.uan.mx/Virtual/libros/CAP7.htm>

234. SIM-CNP (2001). Guía técnica de postcosecha No.5.: Rol de la temperatura en el almacenamiento de productos frescos. Servicio de Información de Mercados, Consejo Nacional de Producción de San José Costa Rica. Disponible en: [http://www.mercanet.cnp.go.cr/CalidadAgricola/Poscosecha/Guias\\_Tecnicas/documentos/pdf/Almacenamiento.pdf](http://www.mercanet.cnp.go.cr/CalidadAgricola/Poscosecha/Guias_Tecnicas/documentos/pdf/Almacenamiento.pdf)
235. SIM-CNP (2002). Guía técnica de postcosecha No.1.: Calidad en los Productos Hortifrutícolas. Servicio de Información de Mercados, Consejo Nacional de Producción de San José Costa Rica. Disponible en: [http://www.mercanet.cnp.go.cr/CalidadAgricola/Poscosecha/Guias\\_Tecnicas/documentos/pdf/Aspectos\\_calidad.pdf](http://www.mercanet.cnp.go.cr/CalidadAgricola/Poscosecha/Guias_Tecnicas/documentos/pdf/Aspectos_calidad.pdf)
236. Slocum, R. D; Kaur-Sawhney, R. y Galston, A. W. (1984). The physiology and biochemistry of polyamines in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **235**: 283-303.
237. Smith, T. A. (1985 a). Polyamines. *Annual Review of Plant Physiology*, **36**: 117-143.
238. Smith, T. A. (1985 b). The di-nd polyamine oxidase of higher plants. *Biochemical Society Transactions*, **13**: 319-322.
239. Smith, T. A; Croker, S. J. y Loeffler, R. S. T. (1986). Occurrence in higher plants of 1-(3-aminopropyl)-pyrrolinium and pyrroline: products of polyamine oxidation. *Phytochemistry*, **25**: 683-689.
240. Srivenugopal, K. S. y Adiga, P. R. (1981). Enzymatic conversion of agmatine to putrescine in *Lathyrus sativus*. *Journal of Biological Chemistry*, **256**: 9532-9541.
241. Tabor, C. W. y Tabor, H. (1984). Polyamines. *Annual Review of Biochemistry*, **53**: 749-790.
242. Tabor, C. W. y Tabor, H. (1985). Polyamines in microorganism. *Microbiological Reviews*, **49**: 81-99.
243. Tahir, M. A. y Malik, A. A. (1977). The activity of pectic enzyme (pectinesterase, polygalacturonase) in various mango products. *Pakistan Journal of Scientific Research*, **29**: 71-74.

244. Takeda, Y; Yoza, K; Nogata, Y; Kusumoto, K; Voragen, A. G. J. y Ohta, H. (1997). Putrescine accumulation in banana fruit with ripening during storage. *Phytochemistry*, **46**(2): 57-60.
245. Tassoni, A; Antognoni, F. y Bagni, N. (1996). Polyamine binding to plasma membrane vesicles isolated from zucchini hypocotyls. *Plant Physiology*, **110**: 817-824.
246. Texas A & M University System, (1996). Natural Toxins Research Center at Texas A&M University-Kingsville. Disponible en: <http://ntri.tamuk.edu/ce/laser-induced.html>
247. Thomas, P. y Janave, M. T. (1973). Polyphenol oxidase activity and browning of mango fruits induced by gamma irradiation. *Journal of Food Science*, **38**: 1149-1152.
248. Tiburcio, A. F; Figueras, X. Y Campos, J. L. (1993). Poliaminas. En: Azcon-Bieto, J. y Talon M. *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Interamericana Mc Graw-Hill. 1ª edición, España. pp.581.
249. Tiburcio, A. F; Kaur-Sawhney, R. y Galston, A. W. (1990). Polyamine metabolism. En: *The Biochemistry of Plants*. B. J. Mifflin, y P. J. Lea (eds), Vol. 16, Academic Press. Inc., pp. 283-325.
250. Tiburcio, A. F; Kaur-Sawhney, R; Ingersoll, R. B. y Galston, A. W. (1985). Correlation between polyamines and pyrrolidine alkaloids in developing tobacco callus. *Plant Physiology*, **78**: 323-326.
251. Tirill, Y. I. y Bourgeois, C. M. (2002). *Tecnología de las hortalizas*. Editorial Acribia, España.
- Toraskar, M. V. y Modi, V. V. (1984). Peroxidase and chilling injury in banana fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **32**: 1352-1354.
252. Trejo Márquez, M. A. (2000). *Estudio de Factores Fisiológicos y Bioquímicos Relacionados con los Daños por el Frío en Plátano*. Universidad Autónoma de Barcelona. Tesis. Barcelona, España.
253. Trenerry, V. C. (2001). The application of capillary electrophoresis to the analysis of vitamins in food and beverages. *Electrophoresis*, **22**(8): 1468-1476.

254. Tripathi, J. S. (1980). Note on postharvest changes storage and ripening of Gaurjeet mango. *Current Agriculture*, **4**: 227-228.
255. Ueda, J; Miyamoto, K. y Kato, K. (1991). Identification of jasmonate acid from *Euglena gracilis* Z as a plant growth regulator. *Agricultural Biology and Chemistry*, **55**: 275-276.
256. UGA, The University of Georgia. Mango, *Mangifera indica* L. (2002). Disponible en: <http://www.uga.edu/fruit/mango.htm>
257. Ullah, M. A. y Singh, Z. (2004). Endogenous Free Polyamines of Mangos in Relation to Development and Ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **129** (3): 280-286.
258. Universidad de Tolima, *Manejo y Postcosecha y Procesamiento de Frutas y Hortalizas* (2002). Disponible en: [http://www.ut.edu.co:85/fif/proyectos/psijcc/docs/stalleres/manejo\\_procesa\\_fruta\\_horta.pdf](http://www.ut.edu.co:85/fif/proyectos/psijcc/docs/stalleres/manejo_procesa_fruta_horta.pdf)
259. US Patent (1990). Variety of tropical mango 'Golden Nuggets'. **US7158P**.
260. USDA, APHIS-IS y SAGARPA-DGSV, (2002). Plan de trabajo para el tratamiento y certificación de mangos mexicanos. Operado bajo el acuerdo cooperativo de United States Department of Agriculture (USDA), Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS-IS), y la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV).
261. Valero, D; Martínez-Romero, D; Serrano, M. y Riquelme, f. (1999). Polyamine roles in the post-harvest of fruits: A review. En: Recent research developments in agricultural and food chemistry, S. Pandalai (editor) Trivandrum, India: Research Signpost. pp. 39-55
262. Valero, D; Serrano, M; Martínez-Madrid, M. C. y Riquelme, F. (1997). Polyamines, ethylene, and physicochemical changes in low-temperature-stored peach (*Prunus persica* L. Cv. Maycrest). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 3406-3410.
263. Vámos-Vigyázó, Lilly.(1981). *Polyphenol Oxidase and Peroxidase in Fruits and Vegetables*. CRC Critical Review of Food Science Nutrition, **15**, 49-127.

264. Vela, G; León, D. M; García, H. S. y De la Cruz, J. (2003). Polyphenoloxidase activity during ripening and chilling stress in 'Manila' mangoes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **78**(1): 104-107.
265. Veloz, C. S; Torres, F. E. y Lakshminarayana, S. (1977). Effect of refrigerated storage temperatures on the incidence of chilling injury and ripening quality of mango fruit. *Proceedings The Florida State Horticultural Society*, **90**: 205-210.
266. Von der Becke, C. (1999). Preservación de alimentos como sistema multivariable Glosario de Carlos von der Becke, en portal de Carlos H. von der Becke. Disponible en: <http://club.telepolis.com/ohcop/pehachey.html>
267. Wang, C. Y. (1982). Physiological and biochemical responses of plants to chilling stress. *HortScience*, **17**: 173-186.
268. Wang, C. Y. (1987). Changes of polyamines and ethylene in cucumber seedlings in response to chilling stress. *Physiologia Plantarum*, **69**: 253-257.
269. Wang, C. Y. (1989). Chilling injury of fruits and vegetables. *Food Reviews International*, **5** (2): 209-236.
270. Wang, C. Y. (1990). *Chilling Injury of Horticultural Crops*. Ed. Wang, CRC Press, Inc. Boca de Raton, Florida, USA.
271. Wang, C. Y. (1993). Approaches to reduce chilling injury of fruits and vegetables. *Horticultural Review*, **15**:63-95.
272. Wang, C. Y. y Adams, D. O. (1980). Ethylene production by chilled cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiology*, **66**: 841-843.
273. Wang, C. Y. y Ji, Z. L. (1988). Effect of low oxygen storage on chilling injury and polyamine in zucchini squash. *Scientia Horticulturae*, **39**: 1-7.
274. Watanabe, T. y Terabe, S. (2000). Analysis of natural pigments by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, **880**: 311-322.



275. Weinberger, R. 2000. *Practical Capillary Electrophoresis*. 2<sup>o</sup> Ed., Academic Press, San Diego, CA, pp. 1-462.
276. Wilson, C. W; Shaw, P. E. y Knight, R. J. (1990). Importance of some lactones and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone to mango (*Mangifera indica* L.) aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **38**: 1556-1559.
277. Wissemann, K. W. y Lee, C. Y. (1980). Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. *American Journal of Enology and Viticulture*, **31**: 206-211.
278. Woolf, A. B; Ball, S; Spooner, K. J; Lay-Yee, M; Ferguson, I. B; Watkins, C. B; Gunson, A. y Forbes, S. K. (1997). Reduction of chilling injury in the sweet persimmon Fuyu during storage by dry air heat treatments. *Postharvest Biology and Technology*, **11**: 155-164.
279. Woolf, A. B; Watkins, C. B; Bowen, J. H; Lay-Yee, M; Maindonald, J. H. y Ferguson, I. B. (1995). Reducing external chilling injury in stored 'Hass' avocados with dry heat treatments. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **120**: 1050-1056.
280. Yang, S. F. y Hoffman, N. E. (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual Reviews of Plant Physiology*, **35**: 155-189.
281. Young, N. D. y Galston, A. W. (1983). Putrescine and acid stress. *Plant Physiology*, **71**: 767-771.
282. Yuen, C. M. C. y Tirdjaja, N. O. (1995). Chilling injury development of 'Tahitian' lime, 'Emperor' mandarin, 'Marsh' grapefruit and 'Valencia' orange. *Journal of the Science Food Agriculture*, **67**: 335-339.
283. Zambrano, J. y Materano, W. (1999). Efecto del tratamiento de inmersión en agua caliente sobre el desarrollo de daños por el frío en frutos de mango (*Mangifera indica* L.). *Agronomía Tropical*, **49**(1): 81-92. Disponible en: [http://redpav-fpolar.info.ve/agrotrop/v49\\_1/a491a006.html](http://redpav-fpolar.info.ve/agrotrop/v49_1/a491a006.html)

284. Zambrano, J; Briceño, S; Méndez, C; Manzano, J. y Castellanos, E. (1997). Cambios en la maduración de frutos de mango cubiertos con ceras, durante el almacenamiento. *Agronomía Tropical*, **47**(1): 5-15. Disponible en: [http://www.redpav-fpolar.info.ve/agrotrop/v47\\_1/v471a001.html](http://www.redpav-fpolar.info.ve/agrotrop/v47_1/v471a001.html)
285. Zapata, J. M; Sabater, B. y Martín, M. (1988). Identification of a thylakoid peroxidase of barley which oxidizes hydroquinone. *Phytochemistry*, **48**: 1119-1123.
286. Zauberman, G.; Fuchs, Y.; Rot, I. y Wexler, A. (1988). Chilling injury, peroxidase and cellulasa activities in the peel of mango fruit at low temperature. *HortScience*, **23**: 732-733.
287. Zhu, S; Zuoliang, J; Wangjin, L. y Zhaoqi, Z. (2003). The link between heat-induced polypeptides and chilling tolerance in mangoes (*Mangifera indica* L.), with evidence from the same fruit partially heated. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, **78**: 523-527.
288. Zuzunaga, M; Serrano, M; Martínez-Romero, D; Valero, D. y Riquelme, F. (2001). Comparative study of two plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars during growth and ripening. *Food Science and Technology International*, **7**: 123-130.

## 10. ABREVIATURAS

---

## 10. ABREVIATURAS

- ABA = Ácido abscísico  
ACC = Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico  
ADC = Arginina descarboxilasa  
AGM = Agmatina  
AIH = Agmatina iminohidrolasa  
ARN-m = Ácido ácido-mensajero  
ATP = Adenosin trifosfato  
AVG = Aminoetoxivinilglicina  
CR = Cociente respiratorio  
DAP = Diaminopropano  
DFMA = DL- $\alpha$ -difluorometilarginina  
DFMO = DL- $\alpha$ - difluorometilornitina  
dSAM = SAM descarboxilado  
EC = Electroforesis capilar  
GABA = Ácido  $\gamma$ -amino butírico  
HR = Humedad relativa  
IAA = Ácido indol acético  
IDF = Índice de daño por frío  
LD = Límite de detección  
MACC = Malonil ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico  
MGBG = Metilglioxal-bis-guanil hidrazona  
NCP = N-carbamoilputrescina  
NCP-asa = NCP-amidohidrolasa  
OAA = Ácido oxaloacético  
ODC = Ornitina descarboxilasa  
OTC = Ornitina transcarbamoilasa  
PAL = Fenilalanina amonio-liasa  
PAO = Poliamina oxidasa  
PAs = Poliaminas  
PE = Pectinesterasa  
PF = Peso fresco

PG = Poligalacturonasa

PIRR-DH = Pirrolina deshidrogenasa

POD = Peroxidasa

PPO = Polifenol oxidasa

PTC = Putrescina transcarbamoilasa

PUT = Putrescina

PUT-sintasa = Putrescina sintasa

SAM = S-adenosil-metionina

SAMDC = S-adenosilmetionina descarboxilasa

SPD = Espermidina

SPM = Espermina

TIAC = Tratamientos por inmersión en agua caliente

TM = Toneladas métricas