

IX. FISIOLÓGÍA POSCOSECHA

María Soledad Hernández^{1,2}, Jaime Barrera¹, Luz Marina Melgarejo¹

Marco conceptual

La madurez es un proceso irreversible que ocurre en los frutos y en algunos vegetales o verduras. Las manifestaciones de la madurez pueden ser identificadas y asociadas al proceso de la recolección, para lo cual se establecen índices de recolección, los cuales pueden ser utilizados en manejos para mitigar o retrasar la senescencia.

La madurez es un proceso fisiológico y bioquímico, que está bajo control genético y hormonal, es un proceso que está acompañado por múltiples cambios a nivel celular, más que por un aumento de tamaño (Wills *et ál.* 1998; Seymour *et ál.* 1993). La etapa de maduración requiere de la síntesis de nuevas proteínas y ARNm, así como de nuevos pigmentos y componentes de sabor; procesos que requieren de energía y esqueletos carbonados, los cuales son proporcionados mediante el proceso de la respiración (Seymour *et ál.* 1993).

De acuerdo con el patrón respiratorio y la síntesis de etileno en una etapa temprana de la madurez, los frutos han sido clasificados en dos categorías: climatéricos o no climatéricos (Kuntz *et ál.* 1998, Seymour *et ál.* 1993).

¹ Contribución por igual en la preparación de este tema

² Autor para correspondencia: mshernandez@unal.edu.co

Rhodes (1980), citado por Herrero y Guardia (1991), define la crisis climatérica como un período de evolución de ciertos frutos en el que se sucede una serie de cambios bioquímicos que se inician con la producción autocatalítica del etileno, marcando el paso del crecimiento hacia la senescencia, presentando un aumento de la respiración, que conducen a la maduración. En los frutos tropicales como guayaba (*Psidium guajava*), araza (*Eugenia stipitata*), copoazu (*Theobroma grandiflorum*), gulupa y cholupa (*Passiflora edulis*) se encuentra que hay crisis climatérica al inicio de la maduración; sin embargo, en otros casos como el camu camu (*Myrciaria dubia*), la cocona (*Solanum* spp) y algunas variedades de ají (*Capsicum* spp), la maduración no se encuentra acompañada de crisis climatérica (Bardales *et ál.* 2008; Hernández *et ál.* 2007; Barrera *et ál.* 2008; Jiménez *et ál.* 2008)

Seymour *et ál.* (1993) y Wills *et ál.* (1998) mencionan que los frutos no climatéricos muestran un descenso gradual en su respiración, mientras que los frutos climatéricos presentan un pico respiratorio durante la maduración (Figura 1). Otra definición indica que los frutos no climatéricos son los que no presentan maduración extensiva después de ser cosechados y cuyo patrón de respiración podría cambiar lentamente después de esto (Salveit 1993; Villavicencio *et ál.* 2001). El término climatérico inicialmente implicó solamente frutos con respiración incrementada, pero la producción de etileno, junto con la producción de CO₂, es ahora aceptada como un criterio para identificar frutos climatéricos. Para algunos autores el climaterio debe estar acompañado por un ascenso no sólo de la respiración sino además de la producción de etileno (Tadesse *et ál.* 2002); otros autores clasifican los frutos como climatéricos con sólo presentar un aumento del etileno durante el “ripening”, sin necesidad del ascenso respiratorio (Salveit 1993). Adicionalmente, los frutos climatéricos deben responder a la aplicación exógena de etileno en la etapa de maduración, sintetizándolo autocatalíticamente. Normalmente los frutos climatéricos se recolectan antes de la subida climatérica, mientras que los frutos no climatéricos maduran en la planta y contienen una menor proporción de almidón (Herrero y Guardia 1991).

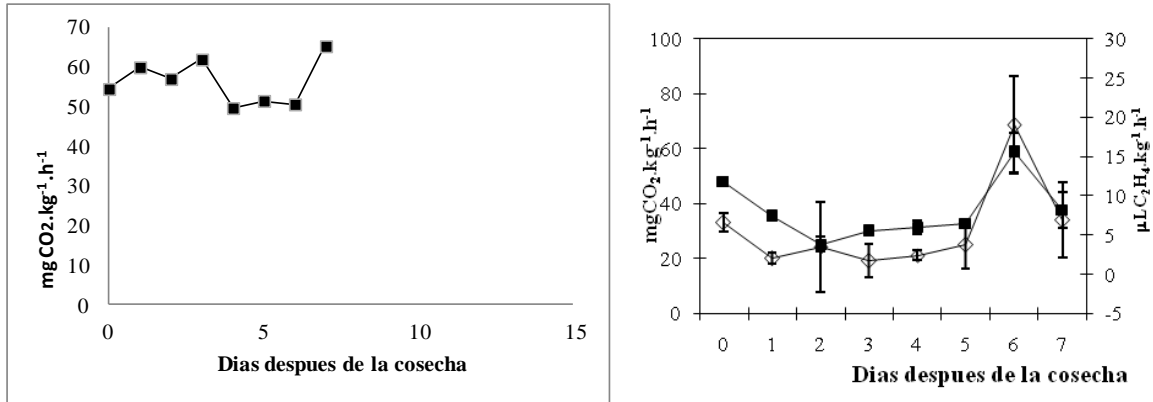


Figura 1. Intensidad respiratoria (Cuadros) y etileno (Rombos) en frutos de cocona (*Solanum* sp) no climatérico (Izquierda), y arazá (*Eugenia stipitata*) climatérico (Derecha) durante la maduración a 20°C. Fuente: Ruiz *et ál.* 2010; Hernández *et ál.* 2009).

Etileno, hormona de la maduración

En las plantas la hormona etileno (C₂H₄) desempeña un papel importante en el proceso de maduración de frutos climatéricos. Parámetros tales como el reblandecimiento de la pulpa (Haji *et ál.* 2003; Hiwasa *et ál.* 2003), el cambio de color (Flores *et ál.* 2002), y la producción de volátiles (aroma) dependen en gran medida de la producción de C₂H₄ (Rupasinghe *et ál.* 2000; Alexander y Grierson 2002; Flores *et ál.* 2002).

El etileno tiene, entre otras, la característica de aumentar la actividad metabólica de los frutos, acelerando su maduración y senescencia. El etileno aun en bajas concentraciones tiene efectos marcados sobre los frutos, especialmente en los climatéricos, de forma tal que aumenta su tasa respiratoria y ayuda a la degradación de la clorofila. En algunos casos, es necesario el uso suplementario de este compuesto para uniformizar el color, la maduración de un producto o mejorar su presentación.

Los efectos negativos o positivos del etileno dependen del producto; en hortalizas de hoja puede ser nocivo, puesto que si se degrada la clorofila toman una tonalidad amarillenta que no es adecuada, en flores acelera la caída de los pétalos y en algunas frutas ayuda a desarrollar el color característico de las mismas. Así mismo, existen diferentes niveles en la producción de etileno como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de especies hortícolas de acuerdo a la producción de etileno

Clase	Rango a 20°C ($\mu\text{L de C}_2\text{H}_4/\text{Kg}^*\text{hr}$)	Especie
Muy bajo	Menor a 0,1	Alcachofa, uva, espárrago, coliflor, cereza, fresa, granada, cítricos, raíces, papa, la mayoría de flores de corte, ají, cocona
Bajo	0,1 - 1,0	Mora, arándano, melón, cocombro, oliva, pimienta, pina, tamarindo, papa criolla
Moderado	1,0-10,0	Banano, guayaba, higo, melón Honeydew, mango, lychee, plátano, tomate, copoazu
Alto	10,0-100,0	Manzana, albaricoque, melón cantaloupe, feijoa, kiwi, nectarin, papaya, durazno, pera, ciruela, araza, uchuva
Muy alto	Mayor de 100,0	Chirimoya, maracuyá, zapote, gulupa, cholupa

Fuente: Kader 1994; Hernández *et ál.* 2007; Hernández *et ál.* 2009; Ruiz *et ál.* 2010

Las condiciones óptimas cuando se desea tratar productos hortifrutícolas para acelerar la maduración, son: temperatura entre 18 y 25 °C, humedad relativa entre 90 y 95%, concentración de etileno entre 10 y 100 ppm, duración del tratamiento de 24 a 72 horas (dependiendo del tipo de fruta y el estado de madurez), una circulación del aire suficiente para garantizar la distribución del etileno dentro del cuarto de maduración y una ventilación que permita un adecuado intercambio del aire para evitar la acumulación del CO₂, el cual reduce los efectos del etileno (Kader 1994).

Debido a que el etileno comercial es tóxico, se deben tener las siguientes precauciones: Evitar el contacto directo con el etileno comercial, no permitir fuentes de fuego (personas fumando o chispas) en el cuarto de maduración o cerca de los dispensadores, usar un sistema seguro para medir el gas y para inyectarlo en las cámaras, asegurarse de eliminar el peligro de cargas electrostáticas y almacenar los cilindros o dispensadores de acuerdo a las instrucciones del proveedor o en su defecto de acuerdo a los estándares de la National Board of Fire Underwrites de los Estados Unidos. De igual manera, las instalaciones eléctricas deben cumplir los

estándares internacionales de seguridad. Se sugiere tener detectores de etileno con alarma para concentraciones altas y peligrosas.

Cambios químicos durante el desarrollo y maduración de frutos

En cuanto a los carbohidratos, hay una alteración durante la etapa de maduración, ya que se presenta un aumento en el contenido de azúcares, bien por la degradación casi total de las reservas amiláceas en frutos climatéricos, o por la degradación de los productos de la fotosíntesis en frutos no climatéricos. Esta transformación conduce a cambios en el sabor, la textura y la consistencia del fruto. El cambio en la consistencia se da principalmente por la degradación de pectinas y hemicelulosas (Wills *et ál.* 1998; Seymour *et ál.* 1993).

A medida que avanza la maduración, los ácidos orgánicos son respirados o convertidos en azúcares, disminuyendo su contenido. Ácidos como el málico, succínico y cítrico, se encuentran con frecuencia en la mayoría de los frutos (Seymour *et ál.* 1993). Sin embargo, la concentración de ácidos orgánicos no siempre decrece con la maduración en todos los frutos. En banano hay un significativo incremento en la concentración de ácido málico y un descenso en el pH (Kays 1997; Wills *et ál.* 1998). Es evidente que el balance entre síntesis y consumo de ácidos orgánicos durante la maduración depende directamente de las características metabólicas de la especie. La modificación del contenido de 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, entre otros) asociados a la maduración.

Manejo poscosecha

Los frutos y verduras, en general, productos hortifrutícolas son cosechados cuando alcanzan el estado de desarrollo apropiado para el mercado y el consumidor final. La recolección genera estrés o lo que es lo mismo una tensión en el producto, que desencadena incrementos en la respiración, maduración acelerada y muerte del producto de manera rápida. La tecnología de poscosecha es aplicada para disminuir el incremento en el metabolismo de los productos cosechados. Para ello se emplean

diferentes tratamientos que incluyen preferiblemente el uso de baja temperatura, preenfriamiento, atmósferas modificadas, retardantes de maduración, ceras y películas comestibles entre otras que contribuyen a hacer lentos los cambios asociados con la senescencia del producto hortícola.

Preenfriamiento

Un incremento en la temperatura de los productos hortícolas recién cosechados (calor de campo) se genera como resultado de las acciones de recolección, acopio y transporte hasta la central de distribución. Cuando sea posible, conviene eliminar mediante un proceso de pre-refrigeración el calor de campo, hasta obtener la temperatura de almacenamiento y la humedad relativa recomendadas para mantener la calidad de las frutas y hortalizas. En general, altas temperaturas deterioran la calidad de la mayoría de los productos durante estos primeros eslabones de la cadena. La pre-refrigeración alarga la duración del producto al reducir: el calor del campo; la tasa de respiración y el calor generado por el producto; la velocidad de maduración; la deshidratación; la producción de etileno y la pudrición.

La pre-refrigeración será exitosa siempre y cuando el tiempo entre la cosecha y la operación sea corto, y se tengan en cuenta: el contenedor para el transporte, la temperatura inicial del producto, la velocidad o cantidad de aire frío, agua o hielo suministrados. Se requiere, así mismo, que el agua o el aire sean limpios a fin de evitar la contaminación del producto tratado. La cadena de frío no debe interrumpirse en ninguna etapa.

Almacenamiento de productos perecederos

La producción mundial de frutas está dominada por los cítricos, las uvas, las bananas, las frutas de pepita (principalmente manzanas) y las frutas de hueso. De las especies de origen tropical de mayor importancia en los mercados mundiales se pueden destacar el aguacate, la papaya, el mango y la piña.

Paull (1994) y Nakasone y Paull (1998) afirman que la fisiología de las frutas tropicales no difiere de la fisiología de los frutos de clima templado y subtropical, por lo que se pueden implementar tecnologías ya probadas y conocidas en ellos. Sin embargo, es posible encontrar diferencias en la velocidad de maduración y en la

senescencia, y en algunos casos en el orden cronológico de los eventos que ocurren en el proceso de maduración. Las diferencias más relevantes que Paull (1990) anota entre los frutos tropicales y los de clima templado son, entre otras, la mayor velocidad de maduración de los frutos de tipo climatérico.

Existe una brecha considerable entre la tecnología desarrollada para frutos de los países desarrollados y climas templados, y los frutos de los países en desarrollo y de origen tropical. Las pérdidas postcosecha en estos últimos pueden superar el 50%.

La refrigeración es el método de conservación para frutas y hortalizas más empleado; sin embargo, su implementación requiere de conocimiento previo de la fisiología del producto a fin de no generar daños irreversibles.

Conservación de frutas a bajas temperaturas

La maduración de los frutos ocurre en un estrecho rango de temperatura. A temperaturas inferiores a la temperatura crítica se interrumpe el proceso de maduración. Similarmente, a temperaturas superiores a 35°C no se presentan cambios de color característico y en frutos de tipo climatérico no se presenta el alza climatérica. La maduración normal de los frutos y hortalizas se produce entre los 10 y 25°C (Rhodes 1980; Thompson 1996).

La vida útil de los frutos durante la poscosecha puede ser aumentada mediante tratamientos como la refrigeración. Disminuir la temperatura contribuye a controlar la síntesis de etileno, que es la hormona encargada de regular la síntesis de las enzimas hidrolíticas que degradan la lamela media de la pared celular, las clorofilasas y amilasas; en consecuencia, se prolonga la vida de poscosecha del producto (Alique y Zamorano 2000).

La temperatura es un factor decisivo en la actividad respiratoria en particular, y en el metabolismo, en general. Una disminución de 10°C trae consigo una reducción en la velocidad de las reacciones a aproximadamente la mitad (Wills *et ál.* 1998). El objetivo de conservar los productos de origen vegetal, regulando el metabolismo durante la poscosecha es prolongar su vida útil, así como procurar el suministro

permanente de éstos productos y con ello la satisfacción de un mercado en constante demanda, con lo cual se consolidan las cadenas de comercialización (Marangoni *et ál.* 1996; Alique y Zamorano 2000).

En los frutos climatéricos la regulación de la maduración puede lograrse con mayor éxito y por tanto optimizar su comercialización. Éstos pueden ser recolectados de manera anticipada, consiguiendo así, una mejor regulación de la maduración. En éstos, se reduce tanto la hidrólisis de almidón como el consumo de azúcares monosacáridos glucosa y fructosa y se mantienen los ácidos orgánicos, aunque en frutos tropicales se ha encontrado que éstos pueden llegar a aumentar (Thompson 1996; Alique y Zamorano 2000).

Daño por frío

El frío causa daños fisiológicos permanentes en tejidos, células y órganos de las plantas sensibles a temperaturas por debajo de la temperatura crítica. Lyons y Breidenbach (1987) afirman que los factores que determinan la magnitud del daño por frío son la temperatura, la duración de la exposición a la baja temperatura, la exposición continua o intermitente y la edad fisiológica del órgano. Wang (1994) afirma que el estrés por frío está influenciado por la temperatura de campo durante la precosecha y que el daño por frío puede iniciarse desde que el fruto es sometido a la baja temperatura, aun desde la precosecha.

La hipótesis más reciente del desarrollo del daño por frío afirma que se produce en dos etapas, en la primera hay una modificación física de la membrana celular, la cual pierde su fluidez y se torna rígida, solidificada y gelatinosa (Wang 1983; Marangoni *et ál.* 1996). Las membranas de los organelos y el citoplasma se modifican y permiten la salida de iones y de compuestos orgánicos; la descompartimentalización a nivel celular conduce a la liberación de enzimas, las cuales reunidas con los sustratos aceleran la velocidad de senescencia (Marangoni *et ál.* 1996). Parkin *et ál.* (1989) mencionan que las bajas temperaturas inducen cambios en las enzimas solubles, la actividad de la fenil amonio liasa aumenta, mientras que las actividades

de la superóxido dismutasa y la catalasa disminuyen, facilitando la acumulación de compuestos cuyos niveles pueden resultar tóxicos. En la segunda etapa, se da la separación de la membrana plasmática (Thompson 1996) y tienen lugar las manifestaciones externas asociadas al cambio de la conformación de membranas dentro de las que se destacan la estimulación a la producción de etileno, incrementos en la tasa de respiración y aumento del gasto de energía.

Reducción del daño por frío

Wang (1983) afirma que un objetivo primordial en referencia al daño por frío es encontrar métodos efectivos de reducción o de retraso de la aparición de la lesión. Las técnicas pueden ser agrupadas en acondicionamiento a la temperatura, calentamientos intermitentes, pretratamientos térmicos, atmósferas controladas o modificadas, tratamientos químicos como el calcio, aceites minerales o vegetales y algunos fungicidas, encerado, películas de recubrimiento y empaque. Las atmósferas controladas o modificadas cambian la composición gaseosa, los primeros modifican el ambiente de almacenamiento, mientras que los otros son tratamientos que se aplican directamente sobre el fruto.

Atmósferas modificadas

El O₂ y el CO₂ son moléculas fundamentales en el metabolismo primario y secundario de frutas y hortalizas. Su influencia radica en la modificación del comportamiento de la planta que se traduce en la prolongación de la vida comercial. Los bajos niveles de O₂ retardan la respiración y el metabolismo de carbohidratos, y los altos niveles de CO₂ empleados en la atmósfera de almacenamiento actúan eficientemente en retardar los mecanismos dependientes de la síntesis de etileno, como la degradación de la pared celular y los cambios de color. En especies como manzana y pera la degradación de ácidos orgánicos se reduce en condiciones de atmósfera modificada o controlada, dicha reducción puede ser explicada como un incremento en la fijación del CO₂, reducción de la respiración y un menor consumo de los mismos (Beaudry 1999; Hernández *et ál.* 2000; Castro *et ál.* 2009).

Beaudry (1999) agrupa los efectos de la manipulación del O₂ y el CO₂ en efectos sobre la producción de etileno, efectos sobre el metabolismo primario y efectos

sobre el metabolismo secundario. En el primer caso, el aumento de la presión parcial del CO₂ y la disminución de la presión parcial de O₂ disminuyen la respuesta del etileno; si la presión parcial del O₂ disminuye a 2,8 kPa o si la del CO₂ aumenta hasta 1,55 kPa el etileno se inhibe, con lo cual se puede afirmar que la modificación de la atmósfera retrasa el proceso de maduración en frutos climatéricos, no sólo porque disminuye la actividad respiratoria, sino porque se disminuye la acción del etileno.

En cuanto al metabolismo primario, Beaudry (1999) anota que el primer efecto es la reducción de la respiración y la disminución de la actividad de algunas enzimas como la piruvato kinasa que cataliza el paso final de la glicólisis. Si la presión parcial de O₂ se reduce a niveles menores de 2 kPa, disminuyen la disponibilidad de esqueletos de carbono y la energía para la síntesis de proteínas, induciéndose la fermentación. Dicha condición puede agravarse si las presiones parciales de CO₂ alcanzan niveles de 20 kPa; aún con concentraciones de 5 kPa de CO₂ se ha encontrado que se disminuye la utilización de azúcares.

La disminución de O₂ y el aumento de CO₂ en la generación de las atmósferas modificadas afectan tres procesos del metabolismo secundario, como son el metabolismo de pigmentos, el de fenoles y el de compuestos volátiles. En general, la degradación de la clorofila, el pardeamiento por acción de la polifenoloxidasas y la síntesis de compuestos volátiles disminuyen con la baja de la presión parcial de O₂ (Mathooko 1996).

La atmósfera modificada se logra envasando órganos vegetales en una película de polímero plástico de dimensiones reducidas, relativamente permeable a los gases del aire (O₂, CO₂, N₂, Vapor de H₂O y C₂H₄) y provista de un cierre hermético. Es un método complementario del frío y su principal efecto es la reducción de la intensidad respiratoria, retrasando la aparición del climaterio, o en algunos casos, desapareciendo el pico climatérico (Kader 1986; 1992). En la figura 2 se muestra la evolución del O₂ y CO₂ de una fruta tropical bajo las condiciones de atmósfera modificada empacada en dos tipos de polietileno de baja densidad (LDPE) de calibres 2 y 3 de densidad.

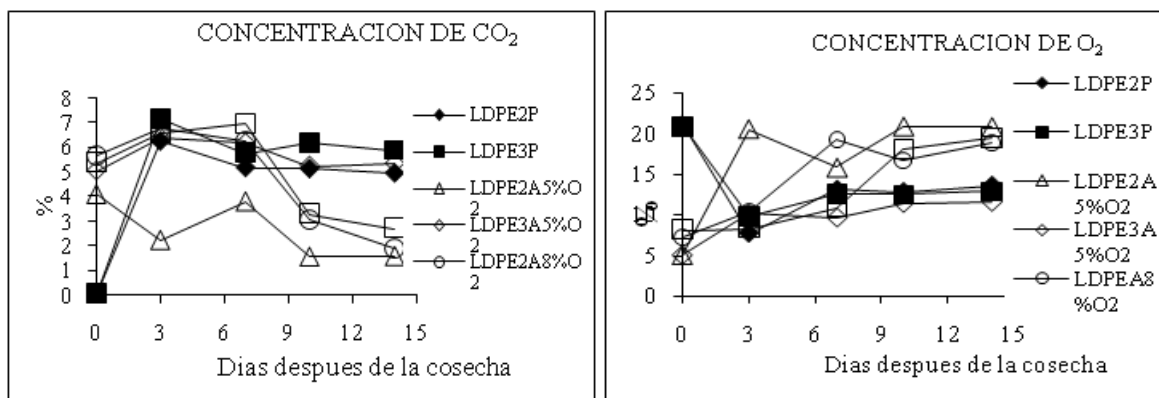


Figura 2. Evolución del O₂ y CO₂ durante el empacado de frutos de arazá en atmósferas modificadas pasivas y activas. Uso de polietilenos de calibre (LDPE) 2 y 3 (Hernández *et ál.* 2000). Las atmósferas activas se alcanzaron inyectando en las bolsas gases Mapax™ de la empresa Agafano, Bogotá, con 5 y 8% de O₂ previamente preparadas. En las atmósferas pasivas, el cambio en el CO₂ y O₂ se dieron como resultado de la respiración del fruto.

Fase experimental

Ensayo 1. Preenfriamiento de productos hortifrutícolas

Material

Material biológico: Productos de diferente naturaleza, como hojas, frutos y algunas flores comestibles

Otros materiales: Tinas con hielo, tinas con agua, bolsas para conservación de muestras extraídas, toallas absorbentes

Equipos: Termocuplas, termómetros, pH metro, refractómetro

Metodología

Seleccionar productos recién cosechados, sanos y sin pudriciones. Dividir en dos grupos los frutos, uno se preenfriará con agua helada (tratamiento 1) y el otro con hielo (tratamiento 2).

Para el tratamiento 1, verter grandes cantidades de agua helada sobre los productos colocados en depósitos, recipientes o contenedores plásticos simulando las condiciones para transporte a granel. Para el tratamiento 2, en el envase colocar

hielo triturado en cada uno de los contenedores de productos. Para algunas operaciones se utilizan contenedores a granel.

El seguimiento de la temperatura se hará con las termocuplas insertadas hasta el centro de al menos cinco frutos por cada uno de los tratamientos. Terminado el tratamiento el cual se llevará a cabo hasta que el centro del producto alcance la temperatura deseada, almacenar los productos en condiciones de refrigeración y determinar el efecto del preenfriamiento tras tres y siete días, con el fin de evaluar los efectos de los dos métodos sobre las siguientes variables de respuesta: Pérdida de peso, cambio de color medido con el colorímetro Hunter lab, pH, °Brix, acidez total titulable, ácidos orgánicos, vitamina C, azúcares reductores, azúcares totales, presencia de microorganismos, presencia de daños por frío.

Ensayo 2. Operaciones de selección, clasificación, lavado y desinfección de productos hortifrutícolas

Materiales

Material biológico: Hortalizas y frutas desde central de abastos o detallistas de diferente naturaleza y origen.

Otros materiales: Tabla de colores y anillos de clasificación, mesas de clasificación y mesones, norma técnica colombiana NTC para los productos seleccionados (web site del ICONTEC).

Reactivos: hipoclorito comercial

Equipos: Calibradores o nonios, colorímetro Hunter lab, balanza

Metodología

Realizar los siguientes pasos:

Recepción de frutos y hortalizas en centro de acopio. Los productos son recibidos en el centro de acopio, generalmente llegan a granel en canastas de plástico de capacidades variables entre 10 y 25 kilos. Realizar la recepción el mismo día de la recolección o en algunos casos transcurridas 12 horas después de la cosecha. Los productos pueden tener cambios de temperatura mientras son transportados, dependiendo de la distancia del centro de consumo.

Pesaje de la materia prima. Es una operación indispensable una vez que el producto es recibido en el centro de acopio, y con el fin de conocer las pérdidas. Una vez que

el producto sea pesado, en balanzas de capacidad apropiada proceder a realizar operaciones de acondicionamiento.

Operación de Selección. Separar las unidades buenas de aquellas que se encuentran dañadas. Identificar los principales daños que se presentan en el producto los cuales pueden clasificarse en daños mecánicos (cortaduras, golpes), daños biológicos (daños por insectos, daños por hongos y levaduras, pudriciones). Para los daños biológicos clasificar en leves (si el porcentaje de incidencia es menor al 10% en la totalidad de los frutos), o en graves (si la incidencia se encuentra entre el 10 y el 25% de la totalidad de los frutos).

Operaciones de clasificación. La clasificación es la operación que agrupa el producto en categorías, puede ser por grado de madurez o por calidad. Inicialmente realizar por métodos visuales, o en el caso de categorías por peso o talla, para ello utilizar balanza y anillos de clasificación. En el caso de hacer la clasificación por coloración utilizar el colorímetro Hunter lab. La muestra para llevar a cabo la clasificación por medio de estos métodos corresponderá al 10% de la muestra recibida. Separar por grupos afines para ello, pesar los nuevos grupos, identificar el % de pérdida e indicar los rendimientos.

Operación de lavado y desinfección. Esta operación busca retirar impurezas del producto, tierra, microorganismos, residuos de productos de síntesis utilizados durante la etapa de precosecha. Realizar con agua clorada o químicamente pura.

Para la desinfección de productos con vocación de orgánicos y/o amigables con el ambiente se recomienda el uso de hipoclorito de sodio, el cual está registrado dentro de la legislación para productos orgánicos, para ello preparar una solución de 8 mL de hipoclorito comercial por cada 10 L de agua, durante 10 minutos, posteriormente lavar con agua pura.

Ensayo 3. Índices de recolección

Materiales

Material biológico: frutos y vegetales que presenten maduración de diferentes grados de madurez

Otros materiales: Erlermeyers, bureta, coladores

Reactivos: Solución NaOH 0,1 N valorada

Equipos: Extractor de jugo, pH metro, refractómetro, balanza, texturómetro Effegi, colorímetro Hunter lab, titulador, calibrador

Metodología

Evaluar material de algunas especies hortifrutícolas y ornamentales, en lo posible con por lo menos dos grados de desarrollo en el caso de foliáceas, y dos grados de madurez en el caso de frutas. Identificar previamente los métodos y protocolos más apropiados para realizar una caracterización del estado de desarrollo, el grado de madurez y la calidad en general del producto recibido.

Se sugieren inicialmente los siguientes métodos:

i) Visual. Clasificar los frutos de acuerdo con el avance en el cambio de color en 3 grupos preferiblemente verde-maduro, pintón y maduro. De no encontrarse 3 grados de madurez, clasificar la muestra en dos grados de madurez, pintón y maduro.

ii) Físicos. Determinar el peso, longitud, diámetro (con calibrador), y color. Este último medirlo con las cartas de color y con el colorímetro Hunter Lab, con el fin de establecer una comparación. Para la medición de color seleccionar tres unidades en tres estados sucesivos de maduración y realizar dos mediciones en cada una de las unidades.

Para determinar la firmeza del fruto medir con un penetrómetro, el cual indica la resistencia que opone la fruta a ser perforada, dicha resistencia será equivalente a la fuerza que debe ejercerse con el equipo, que se hará realizando una fuerza en sentido perpendicular sobre la fruta. Realizar el ensayo sobre dos puntos del mismo fruto y en dos frutos de cada estado de madurez.

Para el caso de verduras de hoja, realizar las pruebas de elasticidad con ayuda de un texturómetro. Todas las medidas de las propiedades físicas realizarlas con un mínimo de tres repeticiones.

iii) Fisiológicos. El método de mayor confiabilidad y precisión es la medición de la respiración y la producción de etileno, en los estados de desarrollo identificados, por cromatografía de gases. Determinar la actividad respiratoria (AR) según el método estático (Kader, 1994) en tres individuos. Cerrar las cámaras con los frutos individuales por 30 minutos a 20°C. Inyectar una muestra de 1 mL del espacio de cabeza en un cromatógrafo de gases HP 4890 (Avondale, PA, USA), las respuestas se recibirán en un integrador 3395. Los patrones de calibración a utilizar deben ser

certificados. Determinar la concentración de etileno empleando condiciones semejantes y utilizando el detector de ionización de llama.

iv) Químicos. Determinar pH, acidez total titulable (ATT), °Brix (sólidos solubles), y la relación de madurez °Brix/ATT, que es una medida que indica el avance de la madurez en los frutos.

Sólidos solubles. Extraer el jugo de la fruta, en forma manual o con la licuadora y efectuar las lecturas en el refractómetro ABBE (2 lecturas para cada estado).

pH. Extraer jugo de las muestras de cada grado de madurez y realizar la lectura con el pHmetro

Acidez titulable. Titular 5 mL de jugo con NaOH 0,1N en presencia de fenolftaleína o hasta un pH de 8,2, punto de viraje del indicador de fenolftaleína. Calcular la acidez expresada como porcentaje del ácido predominante en 100 g de producto según:

$$\% \text{ ácido predominante} = \frac{A \times B \times C}{D} \times 100$$

Donde:

A=Volumen gastado del hidróxido de sodio en mL

B=Normalidad del hidróxido de sodio (NaOH)

C= Peso del equivalente expresado en gramos de ácido predominante del fruto

D= peso en gramos de la muestra titulada

Ácidos orgánicos y azúcares. Congelar tres bolsas de tejido de los diferentes productos, en dos estados sucesivos de madurez. Cada bolsa conteniendo 10 g con el fin de hacer determinación de ácidos orgánicos y azúcares por HPLC.

Relación de madurez.

$$RM = \frac{\text{Sólidos Solubles (Brix)}}{\% \text{ ácido predominante}}$$

Calcular los valores promedio de los parámetros evaluados en los individuos caracterizados, según su grado de madurez.

Ensayo 4. Maduración de frutos

Materiales

Material biológico: frutos de las especies curuba (*Passiflora mollissima*) o tomate (*Lycopersicon esculentum*), considerados frutos climatéricos, e higo (*Ficus carica*) o mandarina (*Citrus reticulata*) considerados no climatéricos. Los frutos deberán ser adquiridos en al menos tres estados de madurez (Verde-Pintón-Maduro)

Otros materiales: bureta, Erlenmeyer, cámaras herméticas con dispositivo para inyectar jeringa de 1mL

Reactivos: solución de hipoclorito de sodio 200 ppm, solución de NaOH 0,1 N, agua destilada.

Equipos: Cromatógrafo de gases, penetrómetro, potenciómetro, balanza de precisión, colorímetro, refractómetro.

Metodología

Lavar por inmersión los frutos de cada especie en la solución de hipoclorito 200 ppm durante tres minutos, enjuagar con agua limpia para lavar el exceso de cloro y secar los frutos con papel absorbente.

Separar en tres grupos cada especie de fruta de acuerdo al estado de madurez (Verde-Pintón-Maduro). Confirmar al menos la existencia de un número no inferior a 12 frutos por cada grupo y por cada especie. Separar tres frutos de cada grupo para la evaluación de la intensidad respiratoria y la emisión de etileno en el cromatógrafo de gases, color por medio del colorímetro y pérdida de peso por balanza de precisión.

Determinar la intensidad respiratoria y la emisión de etileno de los frutos mediante el método de atmósfera confinada propuesto por Hernández *et ál.* (2007), el cual consiste en la introducción de cada uno de los frutos previamente pesados en cámaras herméticas, durante un período de una hora, posteriormente tomar una muestra de 10mL de gases e inyectarla en un cromatógrafo acoplado con un software de adquisición de datos. La intensidad respiratoria de los frutos se reporta como dióxido de carbono producido por unidad de volumen y tiempo, mL CO₂/kg.h (Kader 1994).

Los otros 9 frutos serán utilizados para seguimiento químico. Almacenar en bolsas microperforadas a 20°C, tomando tres frutos por vez cada tres días hasta completar 9 días. A cada fruto muestreado determinarle penetrometría con el penetrómetro,

acidez total titulable mediante titulación con NaOH 0,1 N, sólidos solubles mediante refractometría y pH con el potenciómetro.

Determinar Acidez Total Titulable (ATT) con base en lo propuesto en la norma técnica colombiana 440. Titular 5 gramos de la fruta previamente homogenizada y diluida con 50mL de agua destilada. El punto final de titulación se determina por el viraje a color rosa del indicador fenolftaleína, adicionado en solución etanólica al 1%, 2 gotas de éste a la fruta homogeneizada y diluída. La titulación se realiza con hidróxido de sodio 0,1N. La acidez titulable se calcula como peso en gramos del ácido predominante por cada 100g de fruta, mediante la ecuación indicada en el ensayo 3:

Determinar la acidez iónica según el protocolo propuesto en la NTC 440, utilizando un potenciómetro con electrodo de vidrio a 20°C sobre la pulpa de la fruta. El resultado se expresa en unidades de pH.

Registrar los sólidos solubles mediante lectura refractométrica directa del jugo de la fruta a 20°C, en un refractómetro portátil con escala de 0 – 32 brix. Cuando la lectura se realice a una temperatura diferente a 20°C se aplica el factor de corrección correspondiente (NTC 440).

Determinar el color de los frutos con el uso de un espectro-colorímetro portátil, previamente calibrado mediante una trampa de color y un estándar blanco (Iluminante D65, Observador 2). Medir el color en dos puntos opuestos de la franja ecuatorial de cada réplica y reportar el resultado para cada réplica como promedio del valor encontrado para los dos puntos (Tadesse *et ál.* 2002; Hernández *et ál.* 2007).

Graficar los valores medios obtenidos de las tres réplicas contra una escala de tiempo, para cada especie. Analizar y concluir.

Ensayo 5. Uso del etileno como acelerador de la madurez

Material

Material biológico: productos no maduros para analizar, y productos con alta producción de etileno

Otros materiales: Bala de gas etileno a 100 ppm, cámara hermética, canastillas, bolsas de polietileno calibre 2 perforadas en un 20%, bureta graduada, carta de colores

Reactivos: Solución de NaOH 0,1 N valorada, hipoclorito de sodio de 200ppm

Equipos: Penetrómetro, refractómetro, potenciómetro, cromatógrafo de gases, balanza de precisión, cronómetro, 2 cámaras de almacenamiento de igual volumen y características, Colorímetro Hunter lab

Metodología

Disponer 50 frutos que se encuentren en estado de maduración temprano o productos climatéricos en madurez fisiológica.

Seleccionar, lavar los frutos con agua potable, desinfectar con solución de hipoclorito de sodio de 200ppm, secarlos usando aire o toallas absorbentes. Tomar una muestra de mínimo tres frutos y evaluar directamente las características fisicoquímicas (°Brix, respiración, acidez, pH, color, dureza y apariencia). Registrar los datos de los diferentes parámetros.

Disponer una muestra para análisis de textura inicial con texturómetro, color por colorimetría, azúcares y vitamina C por cromatografía líquida de alta precisión.

Dividir la muestra en dos grupos de 25 frutos cada uno, uno de ellos constituirá el testigo, y el otro será tratado con etileno. Colocar el producto testigo en bolsas de polietileno perforadas, tres frutos por bolsa, para permitir el intercambio de gases y evitar la deshidratación. Las bolsas que se utilizan son de polietileno de baja densidad calibre 2 (LDPE) de capacidad para 500 g. Con ello se asegura que el espacio de cabeza es dos veces el espacio ocupado por el producto

Colocar el producto a tratar con etileno en las cámaras de vidrio de 2245 mL de capacidad, que permiten generar atmósfera confinada. Dicha cámara dispone de una entrada conectada a una manguera de látex, en la cual se llevarán a cabo las inyecciones del gas etileno de concentración conocida. Disponer de una fuente de concentración de 50 ppm de etileno e inyectar 20 jeringas de 10mL para el tratamiento. La inyección se llevará a cabo al inicio del tratamiento y 24 horas después se repetirá nuevamente, tras un aireamiento del producto. Realizar evaluaciones periódicas dos veces por semana de las variables fisicoquímicas y la apariencia del producto. Registrar los datos. Evaluar el cambio de color con colorímetro.

Registrar el tipo de daños que se presenten durante el almacenamiento y su evolución en porcentaje.

Ensayo 6. Almacenamiento de productos frescos, temperatura crítica y atmósfera modificada

Materiales

Material biológico: frutas sanas y en grado de madurez fisiológico, en *ripening* o en madurez comercial, acondicionadas debidamente, esto es con grado de madurez homogéneo y sin daños.

Otros materiales: bolsas de polietileno de calibres 1 y 2, toallas desechables, cuchillos, tablas de picar

Reactivos: hipoclorito de sodio 200 ppm

Equipos: Cámara refrigerada, balanzas, pHmetro, titulador, refractómetro, penetrómetro de reloj o de varilla.

Metodología

Determinación de temperatura crítica de almacenamiento. Los frutos previamente acondicionados, se lavan con agua, se desinfectan con hipoclorito de sodio 200 ppm, se enjuagan y secan. Distribuir los frutos (tres tratamientos, con tres repeticiones), en cantidades exactamente iguales entre las dos temperaturas de refrigeración y la temperatura control. Tratar los frutos a granel a temperatura de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, a temperatura inferior entre 6 y $8^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, y a temperatura de maduración a 20°C , que se constituye en el control absoluto. Realizar seguimiento periódico dos veces por semana, de los cambios en peso, pH, °Brix, % de Acidez Total Titulable, ácidos orgánicos, vitamina C y azúcares. Bajo este modelo determinar la sensibilidad del fruto a las bajas temperaturas y la velocidad de maduración en condiciones control a 20°C .

Uso de atmósferas modificadas pasivas. Los frutos previamente acondicionados y secos distribuirlos en bolsas de polietileno de dos calibres y bolsas microperforadas. Empacar frutos de madurez homogénea en las bolsas, de manera aleatoria y manteniendo un mismo número de réplicas, a fin de generar tres tratamientos: atmósferas con bolsa de polietileno calibre 1, atmósfera con bolsa de polietileno calibre 2, y una bolsa microperforada que constituye una simulación de condición control. Estos tres tratamientos con sus tres repeticiones, distribuirlos en las temperaturas previamente indicadas.

Determinar las variables antes mencionadas y la evolución de gases O_2 y CO_2 con medidor de gases o cromatografía de gases, según se disponga, con el fin de

establecer la estabilidad de las atmósferas en las condiciones de atmósfera y temperatura.

Uso de atmósferas modificadas activas. Se procederá de la misma manera que en el ensayo previo, esto es acondicionar los frutos bajo las operaciones previas de lavado, desinfección, enjuague, secado y selección por sanidad. Distribuir en las bolsas de los calibres mencionados en el ensayo previo, guardar una proporción en la bolsa de espacio libre de dos partes frente a una parte ocupada por el producto. Planificar los ensayos para que se disponga de tres repeticiones para cada una de las fechas de evaluación (cuatro fechas de evaluación que corresponderá a dos semanas por lo menos). En total son por lo menos 12 bolsas de la misma condición y tres más para evaluar la calidad del producto. Una vez preparadas las unidades en sus respectivas bolsas, hasta completar un número de 15 bolsas por tratamiento, inyectar con la campana de empacado HENKOVAK (Noruega) una mezcla del gas Mapax® certificada.

Distribuir las bolsas debidamente selladas en las tres condiciones de temperatura, realizar seguimiento a la estabilidad de las atmósferas y evaluar los parámetros fisicoquímicos de los ensayos previamente descritos.

Para cada uno de los ensayos calcular la pérdida de peso diario en % durante el tiempo de almacenamiento. Realizar análisis estadístico de los parámetros evaluados para identificar diferencias entre las fechas evaluadas. Establecer pruebas de comparación múltiple para determinar entre cuáles tratamientos hay diferencias. Graficar los resultados de pH, °Brix, % de Acidez Total Titulable, ácidos orgánicos, vitamina C y azúcares. Graficar la evolución de los gases O₂ y CO₂ en las condiciones de atmósfera tanto pasiva como activa (inyectada). Interpretar los resultados alcanzados, sustentar las respuestas a partir de las variables de respuesta analizadas.