

Pardeamiento en caqui Rojo Brillante asociado al daño mecánico

C. Besada; P. Novillo y A. Salvador (Centro de Tecnología Postcosecha. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada. Valencia).

Una de las alteraciones que ha limitado en los últimos años la comercialización del caqui 'Rojo Brillante' ha sido la aparición de pardeamiento en la pulpa del fruto. Las pérdidas que para el Sector ha provocando esta alteración, hizo que el estudio del pardeamiento se convirtiera en uno de los principales objetivos de la investigación poscosecha.

En este trabajo se resumen los principales resultados obtenidos de la investigación de esta alteración llevada a cabo en el Centro de Poscosecha del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Se presentan las principales causas del pardeamiento en caqui, así como el mecanismo de aparición del mismo. Esto ha permitido presentar al Sector pautas de manejo poscosecha para evitar las pérdidas de calidad que provoca la aparición de pardeamiento y poder comercializar el fruto con la calidad exigida por el consumidor.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del caqui en la Comunidad Valenciana en los últimos 15 años ha pasado de ser un cultivo minoritario a convertirse en uno de los de mayor relevancia comercial. La variedad Rojo Brillante, en la que está centralizado el cultivo de caqui en la actualidad, es astringente en el momento de cosecha, por el elevado nivel de taninos solubles que contienen sus frutos. Por lo tanto se hace necesaria la aplicación de un tratamiento poscosecha de desastringencia previamente a la comercialización de los frutos. Se ha establecido como método estándar de desastringencia el consistente en someter el fruto a concentraciones de 95-98% de CO₂ durante 24h a 20°C (Salvador y col., 2007; Besada y col., 2010b,). Este tratamiento permite obtener un fruto libre de astringencia con textura dura, lo que ha sido una de las claves del éxito comercial que esta variedad ha experimentado en los últimos años. Los frutos de caqui, además de al tratamiento de desastringencia, son sometidos a operaciones de manipulación para su confección y a conservación frigorífica dependiendo de la demanda del mercado.

Actualmente una de las principales alteraciones que limita la comercialización del caqui 'Rojo Brillante' es la aparición de pardeamiento de la pulpa. Este pardeamiento corresponde a un oscurecimiento de tejido, que comienza en la zona más superficial de la pulpa del fruto y va alcanzando profundidad con el tiempo. Puede presentarse sin existir síntoma externo visible, por lo que muchas veces solo se visualiza cuando el fruto es pelado por el consumidor final. Este es un aspecto a tener en cuenta ya que las pérdidas provocadas por esta alteración son mayores cuanto más cerca del consumidor es detectada, debido a los costes de producción y manejo invertidos con anterioridad. Las pérdidas causadas por esta alteración, aunque varían en cada campaña, pueden llegar a ser de elevada relevancia desde el punto de vista comercial, habiendo llegado a suponer en algún caso entre 15-20% de producto comercializado.

En los últimos años esta alteración ha sido ampliamente estudiada en el Centro de Tecnología Postcosecha, por una parte desde el punto de vista tecnológico, evaluando el efecto de los tratamientos de manejo poscosecha a los que es sometido el fruto sobre la incidencia de pardeamiento y por otra parte desde el punto de vista bioquímico, metabólico y microestructural para estudiar el mecanismo de la aparición de esta alteración.

Los primeros estudios realizados revelaron que el daño mecánico que sufre el fruto cuando es sometido al paso por línea de confección es la

principal causa del desarrollo del pardeamiento de la pulpa, siendo la variedad 'Rojo Brillante' altamente sensible a esta alteración (Besada y col., 2010a). Además, se observó que la conservación de la fruta a bajas temperaturas tras la confección mecánica agravaba el pardeamiento.

Por otra parte el nivel de astringencia del fruto, es decir el contenido de taninos solubles e insolubles, en el momento de recibir el daño mecánico es relevante en la incidencia del pardeamiento. De hecho se han identificado dos tipos de alteraciones en la pulpa del caqui 'Rojo

Brillante' cuando se somete a un daño mecánico (Figura 1): 1). Pardeamiento ('browning') - solo lo presenta la fruta sometida al tratamiento de desastringencia con altas concentraciones de CO₂ previamente al daño mecánico (fruta no astringente). Es la alteración que realmente compromete la calidad del fruto durante su comercialización, ya que comenzando en la superficie del fruto va avanzando con el tiempo. 2). Manchado rosado ('pinkish bruising') - se presenta en fruta astringente; a diferencia del 'browning', el 'pinkish bruising' es mucho menos problemático a

nivel comercial ya que solo se manifiesta cuando el daño mecánico es muy severo y se queda localizada en la zona de impacto (Besada y col., 2013; Novillo y col., 2013; Novillo y col., 2014a).

La evaluación de fruta confeccionada mecánicamente con distintos niveles de astringencia, mostró que la incidencia de 'browning' fue más acusada cuanto menor fue el nivel de astringencia del fruto; así fruta astringente no presentó esta alteración. Además, sobreexposiciones al tratamiento de desastringencia agravaron la intensidad del 'browning'. Contrariamente, la incidencia del 'pinkish bruising' se incrementó con el nivel de astringencia, no observándose esta alteración en fruta libre de astringencia. Por lo tanto, estos resultados revelaron la implicación de los taninos en el proceso de pardeamiento de caqui 'Rojo Brillante' (Besada y col., 2012).

Una de las principales causas de pardeamiento en frutas es la oxidación y polimerización de compuestos fenólicos debida a la activación de enzimas como fenilalanina-amonioliasa (PAL) y polifenoloxidasas (PPO). Sin embargo en los estudios realizados en caqui 'Rojo Brillante', no se observaron cambios en la actividad de las enzimas PPO y PAL asociados al pardeamiento provocado por el daño mecánico en caqui 'Rojo Brillante' (Khademi y col., 2012).

Teniendo en cuenta la implicación de los taninos en la aparición de pardeamiento, se identificaron las unidades flavan-3-ol que forman los taninos de caqui 'Rojo Brillante': epicatequina, epicatequina-galato, epigallocatequina y epigallocatequina-galato y se estudiaron los cambios asociados a la insolubilización de los taninos, observándose el paso de de estas unidades a la fracción insoluble tras la aplicación del tratamiento de CO₂. (Novillo y col., 2014a).

En el análisis comparativo de la composición química de los taninos de muestras de pulpa sana y pulpa pardeada mostró que los cambios observados en el perfil de unidades flavan-3-ol asociados a la aparición de pardeamiento siguen el mismo patrón que aquellos observados tras realizar una oxidación controlada con KO₂ (generador de especies reactivas de oxígeno (ROS)), lo que sugiere que en el proceso de pardeamiento tiene lugar una oxidación de taninos (Novillo y col., 2014a).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son un subproducto natural del metabolismo celular de la planta. Sin embargo diferentes tipos de estrés pueden provocar un incremento en la producción

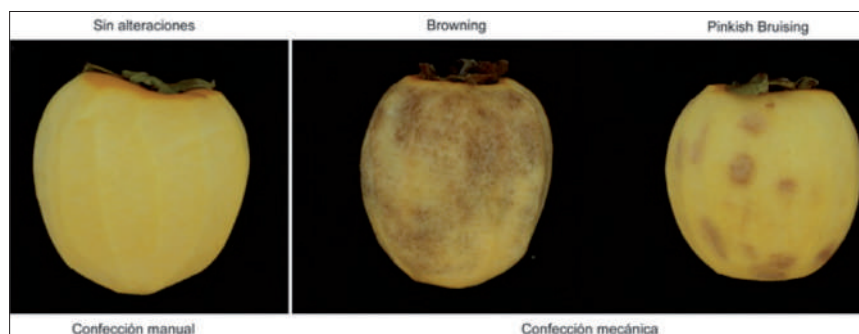


Figura 1. Alteraciones de la pulpa en caqui 'Rojo Brillante' provocado por daños mecánicos en línea de confección. Frutos no astringentes manifiestan 'browning' y frutos astringentes manifiestan 'pinkish bruising'.

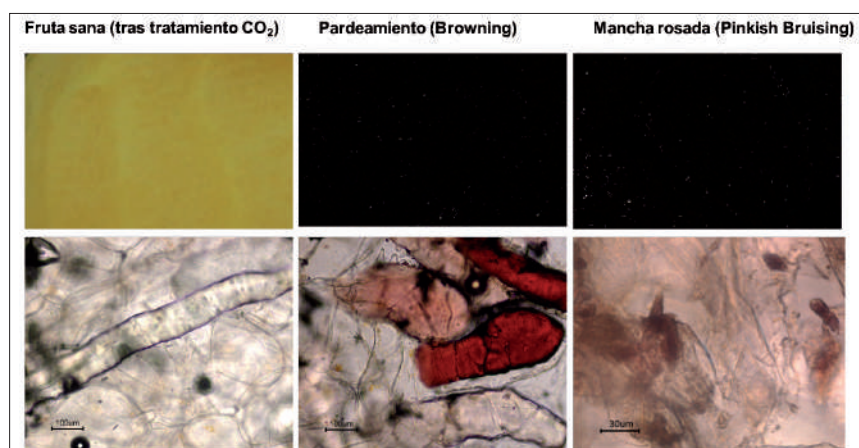


Figura 2. Imágenes del estudio microestructural (microscopía óptica) de las alteraciones en pulpa de caqui 'Rojo Brillante'. Pulpa sana, pulpa con síntomas de 'browning' en fruto no astringente y pulpa con síntomas de 'pinkish bruising' en fruto astringente.

de ROS y llevar a una situación de desequilibrio (stress oxidativo) en el que un aumento acusado de los niveles de ROS intracelulares resulte en daños en la estructura celular (Gill y Tuteja, 2010; Sharma, y col., 2012).

Realizando tinciones sobre pulpa fresca con nitroblue tetrazolium (NBT) y con 3,3-diaminobenzidina (DAB), agentes de tinción que revelan la presencia de especies oxidativas O₂⁻ y H₂O₂, se observó que la aplicación del tratamiento de desastringencia lleva al fruto a una situación de estrés oxidativo, generándose especies reactivas de oxígeno, cuya presencia se incrementa con la duración del tratamiento. Además, se determinó que el daño mecánico por sí mismo también desencadena la acumulación de especies reactivas de oxígeno (O₂⁻ y H₂O₂), que fueron asociadas a la manifestación de las alteraciones la pulpa, tanto al 'pinkish bruising' en fruta astringente como al 'browning' en fruta no astringente (Novillo y col., 2014a).

En otras frutas como albaricoque o peras el estrés oxidativo ha sido también relacionado con desórdenes provocados por daños mecánicos (De Martino y col., 2006; Li y col., 2010). Así mismo, las atmósferas anaeróbicas han sido reportadas como uno de los estreses ambientales que induce estrés oxidativo en plantas (Blokina y col., 2001; Blokina y col., 2003).

Además el análisis de las enzimas asociadas con el estrés oxidativo (CAT, APX, POD, SOD) mostró que tanto el tratamiento de desastringencia con altas concentraciones de CO₂ como el daño mecánico modifican de manera importante la actividad de estas enzimas, corroborando así que el pardeamiento en caqui 'Rojo Brillante' parece estar asociado a un proceso de oxidación de taninos, motivado por una situación de stress oxidativo en el que se acumulan especies reactivas de oxígeno (Novillo y col., 2014b).

Por otra parte el estudio de estas alteraciones

de la pulpa en caqui ha sido abordado desde el punto de vista microestructural. El estudio de la organización y estado estructural de las células puede explicar la respuesta del fruto a diferentes tratamientos pre y poscosecha. Así, en caqui 'Rojo Brillante' estudios microestructurales previos han permitido entender la respuesta del fruto al tratamiento de desastringencia en recolección y tras periodos prolongados de conservación (Salvador y col., 2007; Salvador y col., 2008; Pérez-Munuera y col., 2009). Recientemente, las técnicas de Microscopía Óptica (MO) y Microscopía Electrónica de Barrido a Bajas Temperaturas (Cryo-SEM), han permitido corroborar que asociado a las alteraciones de 'browning' y 'pinkish bruising', las células tánicas adquieren diferente tipo de coloración (Novillo y col., 2014a). Así, el 'pinkish bruising', por MO se visualiza como áreas de tonalidad rosada y por Cryo-SEM se visualiza como salida del contenido celular e insolubilización de los taninos en los espacios intercelulares. El 'browning' se caracteriza por Cryo-SEM por la presencia de células alargadas con material insoluble en su interior que se han identificado como células tánicas, las cuales por MO mostraron

una coloración parda rojiza intensa. En la fruta no astringente sin alteraciones estas células alargadas también fueron observadas pero sin coloración (Figura 2).

A partir de los resultados anteriormente expuestos se puede concluir que en fruta sometida al tratamiento de CO₂, la manifestación de 'browning' estaría asociada a un proceso de oxidación de taninos, motivado por una situación de estrés oxidativo desencadenada por el tratamiento de CO₂ y agravada por el daño mecánico. Esta oxidación de taninos insolubles lleva a que éstos adquieran tonalidades pardo-rojizas que son las que se hacen visibles en forma de pardeamiento del fruto con la consiguiente pérdida de calidad comercial. En fruta astringente, la manifestación de 'pinkish bruising' estaría también asociada a un proceso de oxidación de taninos, en este caso de los que se encuentran en forma soluble.

Teniendo en cuenta la información de la que se dispone hasta el momento las pautas a seguir para evitar las pérdidas de calidad que provoca la aparición de pardeamiento de la pulpa en caqui 'Rojo Brillante' serían las siguientes: 1) Evitar cualquier tipo de daño mecánico en recolección,

confección y transporte. Para ello es recomendable en cosecha la utilización de tijeras así como cajones con sistema que eviten golpes, líneas de confección con mecanismos de amortiguación de impactos y envases para el transporte que aseguren una correcta colocación del fruto evitando el impacto entre ellos. 2) Realizar las operaciones de confección previamente a la aplicación del tratamiento de eliminación de la astringencia. 3) Minimizar la duración del tratamiento de desastringencia, evitando la sobreexposición al CO₂. 4) En caso de conservación frigorífica, ésta debe ser realizada previamente a la confección y en transporte evitar conservaciones prolongadas a baja temperatura posteriores a los procesos de confección.

Agradecimientos: Parte de los resultados citados en este trabajo provienen de estudios financiados por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto INIA-RTA 2010-00086-00-00) y el Programa FEDER de la UE. Los autores quieren expresar su agradecimiento a la D. O 'Kaki Ribera del Xúquer' por la colaboración técnica y económica aportada en estas investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Besada, B, López, M-P, Salvador A, Granell A. 2013. Tannins are implied in flesh browning of persimmon. *Acta Horticulturae*, 996: 411-416.
- Besada, C., Arnal, L., Salvador, A., Martínez-Jávega, J.M. 2010a. Flesh browning of persimmon caused by mechanical damage in packing line. *Acta Horticulturae*, 877, 555-560.
- Besada, C., Salvador, A., Arnal, L., Martínez-Jávega, J.M. 2010b. Optimization of the duration of deastringency treatment depending on persimmon maturity. *Acta Horticulturae*, 858, 69-74.
- Besada, C., Vázquez-Gutiérrez, J.L., Hernando, I., Pérez-Munuera, I. P., Salvador, A. 2012. Involvement of antioxidant activity in flesh browning of astringent persimmon. *Acta Horticulturae*, 934, Vol.2: 713-718.
- Blokhina, O., Chirkova, T.V., Fagerstedt, K.V. 2001. Anoxic stress leads to hydrogen peroxide formation in plant cells. *Journal of Experimental Botany*, 52 (359), 1179-1190.
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany*, 91, 179-194.
- De Martino, G., Vizovitis, K., Botondi, R., Bellincontro, A., Mencarelli, F. 2006. 1-MCP controls ripening induced by impact injury on apricots by affecting SOD and POX activities. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 38-47.
- Gill, S. S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
- Khademi, O., Salvador, A., Zamani, Z., Besada, C. 2012. Effects of hot water treatments on antioxidant enzymatic system in reducing flesh browning of persimmon. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 3038-3046.
- Li, J., Yan, J., Wang, J., Zhao, Y., Cao, J., Jiang, W. 2010. Effects of chitosan coating on oxidative stress in bruised Yali pears (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 2149-2154.
- Novillo, P., Salvador, A., Llorca, E., Hernando I, Besada C. 2014a. Effect of CO₂ deastringency treatment on flesh disorders induced by mechanical damage in persimmon. *Biochemical and microstructural Studies. Food Chemistry*, 145: 454-463.
- Novillo, P., Salvador, A., Magalhaes, T., Besada, C. 2014b. Deastringency treatment with CO₂ induces oxidative stress in persimmon fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 92: 16-22.
- Novillo, P., Besada, C., Gil, R., Salvador, A. 2013. Influence of the level of astringency in the incidence of flesh browning disorder in persimmon. *Acta Horticulturae*, 1012 (3):1097-1102.
- Pérez-Munuera, I., Herando, I., Larrea, V., Besada, C., Arnal, L., Salvador, A. 2009. Microstructural study of chilling injury alleviation by 1-methylcyclopropene in persimmon. *HortScience*, 44, 742-745.
- Salvador A., Arnal L., Besada, C., Larrea, V., Quiles, A., Pérez-Munuera, I. 2008. Reduced effectiveness of the treatment for removing astringency in persimmon fruit when stored at 15°C. *Physiological and microstructural study. Postharvest Biology and Technology*, 49, 340-347.
- Salvador, A., L. Arnal, C. Besada, V. Larrea, A. Quiles, Pérez-Munuera, I. 2007. Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon cv. 'Rojo Brillante'. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 181-188.
- Sharma, P., Jha, A.B Dubey, R.S., Pessaraki, M. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, doi:10.1155/2012/217037.