Reg 27341

ALMACENAMIENTO DE UVA CAIMARONA (*Pourouma cecropiifolia*) A DIFERENTES TEMPERATURAS: CARACTERÍSTICAS SENSORIALES, PATRÓN RESPIRATORIO Y PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO[1]

[2,3]Carlos Eduardo Narváez Cuenca
[2]Patricia Restrepo

RESUMEN

La uva caimarona (*Pourouma cecropiifolia*), uno de los frutos promisorios de la Región Amazónica, se destaca por su color, su sabor y por su corto tiempo de vida en anaquel, en el que el pardeamiento contribuye al rápido deterioro de este fruto. En este estudio los frutos fueron almacenados entre 1 y 25 °C durante seis días. Éstos manifestaron lesiones por frío a 1, 10 y 15 °C. Los daños se hicieron mayores al incrementar el tiempo de exposición al frío y al disminuir la temperatura. Tanto a 20 como a 25 °C los frutos maduraron de manera adecuada. A 25 ºC la actividad de polifenoloxidasa y peroxidasa se hizo máxima luego de dos días de almacenamiento, momento que coincidió con la madurez sensorial de los frutos y con el máximo climatérico; al final, la actividad de peroxidasa y la respiración se incrementaron indicando que el fruto estaba próximo a morir. El comportamiento a 20 ºC fue similar al observado a 25 ºC, con un desplazamiento en los máximos de tres días. Tras la reducción en 5 ºC de la temperatura de almacenamiento se logró retardar el metabolismo del fruto con lo que se consiguió prolongar su vida útil en tres días. Al refrigerar los frutos a 1 ºC la actividad de polifenoloxidasa y peroxidasa fue máxima luego de 1 día de iniciado el tratamiento; esta actividad estuvo en relación directa con el pardeamiento que manifestaron los frutos y con el máximo observado en la intensidad respiratoria.

Palabras clave: Polifenoloxidasa, Peroxidasa, *Pourouma cecropiifolia*, pardeamiento, maduración, frutas amazónicas, lesiones por frío, uva caimarona.

INTRODUCCIÓN

La uva caimarona (*Pourouma cecropiifolia*), originaria de la Región Amazónica, es una drupa ovalada globosa. Se caracteriza por ser una buena fuente de K, P, Ca y Mg y por su exquisito sabor (1). Esta fruta es altamente perecedera por lo que sólo es comercializada en la región Amazónica, su lugar de origen. Con el ánimo de ampliar el mercado del producto se debe prolongar su tiempo de vida. La refrigeración surge como una tecnología de conservación económicamente rentable; sin embargo hay que tener cuidado con temperaturas muy bajas ya que se pueden generar lesiones por frío, caracterizadas principalmente por la aparición de manchas oscuras (2). Los daños por frío son un desorden metabólico y fisiológico consecuencia de la exposición de tejidos vegetales a temperaturas de refrigeración. Estas lesiones pueden aparecer, dependiendo de la especie, desde 0 hasta 22 ºC (2).

El pardeamiento de los frutos, durante la maduración y en la producción de lesiones por frío, genera pérdidas importantes en las características sensoriales, nutricionales y funcionales. En la producción de este pardeamiento se han vinculado como responsables la polifenoloxidasa (EC 1.14.18.1, PFO) y la peroxidasa (EC 1.11.1.7, POD) (3-8).

[1] Contribución de la Universidad de la Amazonia (Florencia-Caquetá) y de la Universidad Nacional de Colombia (Bogotá)

[2] Profesores Universidad Nacional de Colombia

[3] Correo electrónico: cenarvaezc@unal.edu.co

En un trabajo previo se reporta la caracterización parcial de la fracción combinada iónica más soluble de PFO y POD extraídas de la uva caimarona (9). De acuerdo a estos autores el valor de K_M, a pH 6,0 y 37 ºC, para POD es 10,0 mM/0,17 mM para guayacol/H_2O_2. El valor de K_M con L-Dopa para PFO es 2,70 mM, evaluado a pH 7,0 y 37 ºC. El pH óptimo de actividad para POD es 6,0 y para PFO es 7,0. La actividad de ambas enzimas es máxima en un intervalo de temperaturas entre 30 y 40 ºC.

Este trabajo se planteó con el objetivo de encontrar la mejor temperatura de almacenamiento del fruto fresco de *Pourouma cecropiifolia* y de estudiar la relación existente entre la intensidad respiratoria, la evolución de las características sensoriales y la actividad de PFO y POD durante el almacenamiento del fruto a diversas temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Frutas de uva caimarona. Fueron adquiridas de cultivos semitecnificados, en Corpoica – Macagual, ubicado a 20 km de Florencia – Caquetá (25 ºC, 85% HR), en la Amazonia colombiana. Se efectuó una selección por sanidad, apariencia, estado de madurez (entre 5 y 10% de color rojo en corteza) y se realizó una desinfección.

Determinación de la temperatura adecuada de almacenamiento. Las frutas en ramillete fueron almacenadas a 1, 10, 15, 20 y 25 ºC, a una humedad relativa de 85%, durante seis días. Cada día se efectuó un análisis sensorial de los frutos por el método descriptivo de puntajes, con escala ponderada, a través de un panel entrenado de seis miembros. Las características evaluadas, las escalas y los descriptores de calidad fueron desarrollados en un trabajo previo (10) y se muestran en la tabla 1.

Intensidad respiratoria. Se evaluó cada 12 h en los frutos almacenados a 1, 20 y 25 ºC durante seis días, por reacción del CO_2 con $Ba(OH)_2$ y titulación del exceso de base con HCl.

Medida de la actividad de polifenoloxidasa y peroxidasa durante el almacenamiento. La actividad de las dos enzimas fue evaluada en los frutos almacenados a 1, 20 y 25 ºC durante seis días a intervalos de 24 h. Las condiciones óptimas de medida fueron iguales a las determinadas en un trabajo anterior (9). La extracción de la fracción soluble más iónica incluyó la preparación de polvos de acetona, extracción con buffer Tris-HCl 0,1 M, pH 6,8 más $CaCl_2$ 0,1 M, precipitación con $(NH_4)_2SO_4$ al 80% de saturación y diálisis. La proteína en el extracto dializado fue cuantificada por el método microkjeldahl. Las medidas de actividad de PFO se efectuaron con L-Dopa 7,0 mM en buffer fosfatos pH 7,0, 37 ºC y lectura espectrofotométrica a 410 nm durante 5 min. Para POD las medidas se hicieron a una concentración de guayacol/ H_2O_2 40,0 mM/5,0 mM en buffer fosfatos pH 6,0 a 37 ºC y lectura espectrofotométrica a 440 nm durante 5 min. Las unidades enzimáticas fueron definidas como el cambio en una unidad de absorbancia por minuto y las actividades específicas como la unidad enzimática por mg de proteína.

Análisis de datos. Sobre los resultados de la evaluación sensorial (n=6) se evaluó el efecto del día de almacenamiento por la prueba de Friedman y se calculó el tiempo de vida mediante la aplicación del criterio de la diferencia mínima significativa (dms). Sobre las medidas de intensidad respiratoria (n=2) y las de actividad enzimática (n=2) se efectuó el análisis de varianza de acuerdo a un diseño factorial (temperatura y tiempo de almacenamiento) y se compararon los promedios de tratamientos a través de la prueba de Tukey.

Tabla 1. Atributos evaluados y puntaje de los factores de calidad del fruto entero y pulpa de uva caimarona

Atributo/ Puntaje	Descripción
	Fruto entero
Apariencia	
0 – 2	Presencia de magulladuras, arrugas, picaduras, manchas oscuras
2 - 3	Ausencia de magulladuras o de ataque de insectos, ausencia de arrugas
Color	
0 – 1	Zonas difusas color café o blancas
1 – 2	Predomina el color verde o verde con zonas rojas, no homogéneo, leves manchas cafés
2 – 3	Morado rojizo con manchas verdes
3 – 4	Morado intenso, homogéneo, característico del fruto
Aroma	
0 – 0,5	Olor avinagrado
0,5 – 1	Olor frutal no desarrollado, característico de frutos verdes
1 - 2	Aroma característico del fruto
	Pulpa
Color	
0 – 2	Haces vasculares y pulpa pardeada, disgregada. Los haces vasculares se separan fácilmente de la pulpa
2 – 3	Pulpa color blanco nacarado, brillante. Haces vasculares blancos
Sabor	
0 – 0,5	Sobremaduro, fermentado, mohoso
0,5 – 1	Ácido, insípido
1 - 2	Característico frutal del fruto

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Determinación de la temperatura adecuada de almacenamiento. En la tabla 2 se resumen los resultados de la evaluación sensorial de los frutos durante su almacenamiento a diferentes temperaturas (datos originales transformados a rangos). Cuando los frutos fueron almacenados a 25 °C los atributos evaluados alcanzaron valores máximos luego de dos días y descendió de manera significativa a partir del tercer día. Estos máximos fueron muy cercanos a los máximos otorgados en los factores de calidad (Tabla 1). La evaluación de la calidad total del fruto indicó que el momento oportuno para su consumo está entre 1 y 2 días luego de la cosecha. Luego de 6 días de almacenamiento las características sensoriales se deterioraron totalmente, por lo que se identificó un proceso rápido de maduración y una aparición temprana de la senescencia.

En los frutos refrigerados a 1 °C las características sensoriales no se desarrollaron de manera apropiada y los frutos manifestaron serios daños a causa de la exposición al frío. Las frutas presentaron depresiones y endurecimiento en la corteza, pardeamiento del pedúnculo, corteza y pulpa, las frutas se mantuvieron ácidas, el sabor típico de la pulpa no se desarrolló y el aroma no evolucionó apropia damente. A esta temperatura las características sensoriales evaluadas no alcanzaron los máximos otorgados en los factores de calidad (Tabla 1) y el daño se hizo más notorio al transcurrir la refrigeración. Igualmente, el almacenamiento de los frutos a 10 y 15 °C condujo a la generación de lesiones por frío. Aunque los frutos refrigerados a 1, 10 y 15 °C exhibieron daños a causa de la exposición al frío, la severidad de las lesiones se hizo menor al incrementar la temperatura.

Tabla 2. Evaluación de las características sensoriales del fruto de uva caimarona durante su almacenamiento a 1,10, 15, 20, y 25 ºC, durante 6 días – Suma de rangos

Temperatura/ Día de Almacenamiento	Fruto entero			Pulpa		
	Apariencia	Color	Aroma	Color	Sabor	Calidad Total
25 °C						
0	200a	160bc	138bc	195a	115cd	168bc
1	190a	198ab	186ab	194a	161bc	198ab
2	214a	237a	234a	204a	224a	235a
3	103b	104cd	106c	118b	162bc	112cd
4	91bc	101cd	104c	100b	136cd	99d
5	75bc	76de	97cd	68bc	76de	68de
6	31c	28e	38d	24c	29e	24e
20 °C						
0	116b	76b	82c	158a	58c	103c
1	132ab	76b	86c	128ab	106bc	110bc
2	134ab	132ab	119bc	92bc	106bc	138ab
3	177a	167a	156ab	172a	152ab	170a
4	158ab	196a	174ab	155a	188a	176a
5	147ab	132ab	195a	152a	192a	163ab
6	39c	24c	91c	48c	101bc	42d
15 °C						
0	164a	186a	135ab	162ab	102c	180a
1	168a	162ab	150ab	189a	95c	178a
2	168a	158ab	122b	137ab	160ab	154a
3	147ab	172ab	185a	108bc	112bc	138ab
4	80c	116b	150ab	143ab	192a	131ab
5	92bc	76c	101bc	111b	145abc	82bc
6	82c	33c	60c	52c	94c	40c
10 °C						
0	236a	220a	148a	206a	124bcd	230a
1	168b	181ab	145a	158abc	66d	160bc
2	177ab	158ab	152a	167ab	175ab	196ab
3	98c	124bc	156a	108bcd	154abc	106cd
4	98c	62cd	62b	80d	208a	88d
5	76c	82cd	139a	104cd	100cd	68d
6	50c	46d	100ab	80d	77d	55d
1 °C						
0	237a	214a	154ab	212a	169a	228a
1	174b	194ab	198a	192ab	176a	192a
2	162b	161bc	192a	182ab	177a	180ab
3	122c	125cd	128bc	140bc	131ab	122bc
4	115c	86de	90cd	99cd	118ab	92c
5	53d	82ef	94bcd	58de	80bc	62cd
6	41d	42f	46d	21e	50c	26d

Letras diferentes dentro de una columna a una misma temperatura de almacenamiento indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Friedman. Los rangos fueron asignados para los días de almacenamiento dentro de cada una de las temperaturas, razón por la cual estos valores no permiten comparar el efecto de la temperatura dentro de un mismo día de almacenamiento

Cuando los frutos fueron almacenados a 20 °C se dio una maduración adecuada y en general, la calidad sensorial fue significativamente superior incluso en el quinto día de almacenamiento. La disminución de la temperatura de almacenamiento de 25 a 20 °C prolongó la vida útil de la uva caimarona.

Intensidad Respiratoria. En la figura 1 se observa que la intensidad respiratoria del fruto almacenado a 25 ºC tiene una tendencia típica de un fruto climatérico, con un incremento gradual en la intensidad respiratoria hasta llegar a un máximo a las 48 h después de cosechado para luego disminuir. A

partir del cuarto día se presentó un nuevo incremento en la intensidad respiratoria que puede ser indicativo del crecimiento de microorganismos. Al disminuir la temperatura en 5 ºC la respiración del fruto disminuyó y el máximo respiratorio se desplazó de dos a cinco días. A 1 ºC se presentó un máximo en la intensidad respiratoria, de menor intensidad al observado a 20 y a 25 ºC. El efecto de la temperatura y del tiempo de almacenamiento fue altamente significativo y, de acuerdo a la prueba de Tukey, la intensidad respiratoria se hizo mayor de forma altamente significativa al incrementar la temperatura.

Los máximos respiratorios observados a 25 y a 20 ºC corresponden a máximos climatéricos puesto que coincidieron con los máximos en las características sensoriales de los frutos. El máximo respiratorio observado en las frutas almacenadas a 1 ºC no corresponde a un máximo climatérico, sino que es una manifestación de las lesiones por frío, en el que el metabolismo fue acelerado durante las primeras 12 h de exposición al frío, sin que se llevaran a cabo de forma adecuada los procesos de maduración del fruto.

Actividad enzimática. En la figura 2 se aprecia que la actividad de PFO y POD durante el almacenamiento del fruto a 25 ºC presenta un máximo dos días después de la cosecha, que coincide con el máximo en la intensidad respiratoria y con el máximo desarrollo en las características sensoriales del fruto. En este climaterio las enzimas en estudio deben estar en forma latente o, si están en forma activa probablemente las proteínas deben encontrarse en compartimentos separadas de los sustratos sobre los que actúan ya que, de acuerdo al análisis sensorial, en este momento aún no hay pardeamiento.

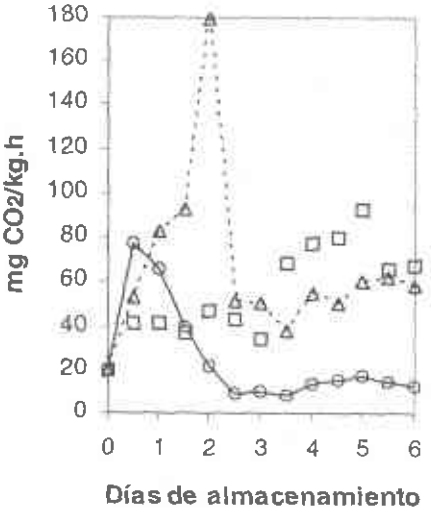

Figura 1. Intensidad respiratoria de los frutos de *Pourouma cecropiifolia* almacenados a 1(ñ), 20 (?) y 25 (?) ºC durante seis días

En los frutos que maduraron también de forma adecuada a 20 ºC se presenta un comportamiento similar. La actividad tendió a incrementarse durante los primeros cinco días y se hizo máxima en este día, evento que coincide con el máximo respiratorio y con los valores más altos en la evaluación de las características sensoriales de los frutos. A los cinco días de almacenamiento a 20 ºC la actividad de PFO fue inferior a la encontrada a los dos días de almacenamiento de los frutos a 25 ºC. La disminución de la tempera-

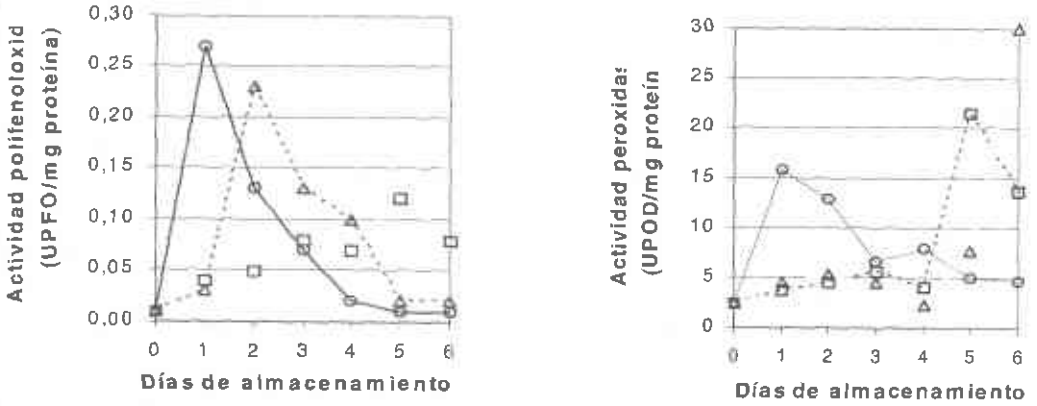

Figura 2. Actividad de polifenoloxidasa y peroxidasa en frutos de *Pourouma cecropiifolia* almacenados a 1(ñ), 20 (?) y 25 (?) ºC durante seis días

tura en 5 ºC disminuyó el metabolismo del fruto prolongando su climaterio en tres días y, como el fruto ha tenido más tiempo para su desarrollo, el metabolismo se da con menor intensidad.

Luego del climaterio, a 20 y a 25 ºC, la actividad de PFO y POD disminuyó, probablemente como consecuencia de la lisis de las membranas celulares y su acción sobre sustratos fenólicos causando pardeamiento, en donde los productos de la reacción la pueden estar inhibiendo. Resultados similares se han encontrado con PFO extraída de corteza de lulo, madurados a 18 ºC (8). Por el contrario, en PFO extraída de banano hay una tendencia siempre a la disminución durante la maduración del fruto (5).

A partir del quinto día de almacenamiento de los frutos de uva caimarona a 25 ºC la actividad de POD se incrementó, al sexto día su actividad fue del orden de cinco veces mayor respecto a la del máximo climatérico. Este incremento súbito en la actividad pudo estar relacionado con la contaminación microbiológica del fruto, en el que se debió estar midiendo actividad de POD de origen bacteriano o fúngico.

En los frutos refrigerados a 1 ºC la actividad de PFO y POD se hizo máxima en el primer día. En este momento las lesiones fueron detectadas por el panel, por lo que el frío pudo haber inducido la decompartamentalización de los sustratos y de las enzimas provocando su reacción. La disminución de la actividad enzimática durante los siguientes días pudo ser el resultado nuevamente de la inactivación de la enzima a causa de los productos de su reacción. La actividad de POD puede estar relacionada con una respuesta de la célula para contrarrestar la acumulación de sustancias que contienen oxígeno activo como el H_2O_2, O_2, RO y ROO generadas por el alto metabolismo oxidativo vinculado con las lesiones por frío (11, 12).

CONCLUSIONES

La refrigeración del fruto de uva caimarona desde 1 hasta 15 ºC generó lesiones por frío, caracterizadas por pardeamiento de su corteza y pulpa. El almacenamiento a 20 ºC prolongó la vida útil del fruto en por lo menos tres días, si se compara contra las almacenadas a temperatura ambiente (25 ºC).

El estudio de la actividad enzimática de PFO y POD durante el almacenamiento de los frutos de uva caimarona a diferentes temperaturas indica que la actividad no está necesariamente relacionada con el pardeamiento del fruto. En este fenómeno juegan un papel importante además de la capacidad potencial de actividad catalítica, la compartamentalización y la existencia de enzimas en estado latente dentro de la célula.

Debido a que el fruto no tolera temperaturas inferiores a 15 ºC y que a 20 ºC su tiempo de vida útil es inferior a una semana es recomendable estudiar el efecto de técnicas complementarias a la refrigeración como el choque térmico o el uso de atmósferas modificadas y evaluar la bioquímica del fruto durante el uso de estas técnicas para comprender de una mejor manera los mecanismos involucrados en la sensibilidad o tolerancia al frío. Otra alternativa útil consistirá en evaluar la efectividad de técnicas de conservación que involucren la transformación del fruto.

BIBLIOGRAFÍA

(1) Camargo, C. H. ; Acosta, M. M. R.; Velásquez, B. M. A. (1991). Caracterización de la Uva Caimarona (*Pourouma cecropiifolia*). *Colombia Amazónica*. **5**(2) 9-26

(2) PANTASTICO, ER. B.; MATTOO, A. K.; MURATA, T.; OGATA, K. 1979. Daños por Frío In Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas tropicales y subtropicales, Pantastico, Er. P. Ed. Compañía Editorial Continental S. A.: México, p. 4070-33

(3) HALPIN, B.; PRESSEY, R.; JEN, J.; MONDY, N. 1989. Purification and Characterization of Peroxidase isoenzymes from green peas (*Pisum sativum*). *J. Food. Sci.* **54**(3) 644-49

(4) RICHARD-FORGET, F. C.; GAUILLARD, F. A. 1997. Oxidation of Chlorogenic acid, Catechins, and 4-methylcatechol in Model Solutions by Combinatios of Cear (*Pyrus communis* Cv. Williams) polyphenol oxidase and peroxidase: a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *J. Agric. Food Chem.* **45** 2472-76

(5) CANO, P.; MARÍN, M. A.; FÚSTER, C. 1990. Effects of Some Thermal Treatments on Polyphenoloxidase and Peroxidase Activities of Banana (*Musa cavendishii*, var enana). *J. Sci. Food Agric.* **51** 223–31

(6) CANO, M. P.; LOBO, M. G.; DE ANCOS, B; GALEAZZI, M. A. M. 1996. Polyphenol Oxidase from Spanish Hermaphrodite and Female Papaya Fruits (*Carica papaya* Cv. Sunrise, Solo Group). *J. Sci. Food Agric.* **44** 3075-79

(7) HIROTA, S.; SHIMODA, T.; TAKAHAMA, U. 1998. Tissue and Spatial Distribution of Flavonol and Peroxidase in Onion Bulbs and Stability of Flavonol Glucosides During Boiling of the Scales. *J. Agric. Food Chem.* **46** 3497-3502

(8) RUBIO, M. E. 1999. Estudio del Cambio de Actividad de Polifenoloxidasa, PFO, Durante el Proceso de Maduración del Lulo (*Solanum quitoense* L.). Trabajo de Grado Magister en Ciencias-Química. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia: Bogotá

(9) NARVÁEZ, C. C. E.; RESTREPO, P. 2002. Efecto del Almacenamiento de la Uva Caimarona (*Pourouma cecropiifolia*) a Diferentes Temperaturas sobre la Actividad de la Polifenoloxidasa y la Peroxidasa. *Rev Col. Quim.* **31** 131-44

(10) NARVÁEZ, C. C. E.; RESTREPO, P. 2003. Efecto del Almacenamiento de Uva Caimarona (*pourouma cecropiifolia*) a Diferentes Temperaturas Sobre los Sólidos Solubles y la Actividad de Catalasa. *Rev Col. Quim.* En prensa

(11) PRASAD, T. K. 1996. Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedlings: change in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids, and protease activities. *Plant J.* **10** (6) 1017-26.

(12) SALA, J. M.; LAFUENTE, M. T. 1999. Catalase in the Heat-induced Chilling Tolerance of Cold-stored Hybrid Fortune Mandarin Fruits. *J. Agric. Food Chem.* **47** 2410-14